

Патогенетическая роль тканевого фактора в атеротромбозе и дисфункции эндотелия

Е.И. Красильникова^{1,2}, Е.Г. Сергеева¹, Д. Саха¹, С. Саха¹, А.В. Горбач¹,
Ж.И. ИONOва¹, А.А. Быстрова¹

¹ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербург, Россия

Красильникова Е.И. — доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздравсоцразвития РФ (СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова), ведущий научный сотрудник ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития РФ (ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова); Сергеева Е.Г. — доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; Саха Д. — очный аспирант кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; Саха С. — очный аспирант кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; Горбач А.В. — ассистент кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; ИONOва Ж.И. — интерн кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; Быстрова А.А. — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Контактная информация: ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздравсоцразвития РФ, ул. Л. Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Россия, 197022. Тел./факс: 8 (812) 234–34–24. E-mail: krasilnikova@bk.ru (Красильникова Елена Ивановна).

Резюме

Окклюзия просвета сосуда в результате разрыва или эрозии атеросклеротической бляшки, приведшей к тромбозу, лежит в основе таких тяжелых клинических проявлений атеросклероза, как внезапная смерть, инфаркт миокарда и инсульт. В настоящее время установлена ключевая роль тканевого фактора в инициации большинства звеньев коагуляционного каскада, участвующих в возникновении и формировании тромба. Исследования, проведенные в последние годы, позволили расшифровать структуру, пути синтеза тканевого фактора и механизмы его активации. Установлено, что тканевой фактор является основным элементом атеротромбоза и тесно взаимосвязан с иммуновоспалительным процессом, дисфункцией эндотелия, процессами ангиогенеза и клеточной миграции, играющих существенную роль не только в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, но и в возникновении воспалительных и онкологических процессов. Имеются данные, свидетельствующие о том, что базальная активность тканевого фактора крови является независимым показателем риска кардиоваскулярных событий, прогнозирует эффективность тромболизиса, а также влияет на результаты ангиопластических операций. Важным представляется проведение оценки возможного влияния на продукцию тканевого фактора таких широко применяемых в клинической практике лекарственных средств, как препараты, используемые для лекарственного покрытия стентов, а также различных групп статинов. Дальнейшее изучение физиологической и патофизиологической роли тканевого фактора позволит расширить имеющиеся представления о патогенезе не только сердечно-сосудистых, но и многих других заболеваний.

Ключевые слова: тканевой фактор, атеротромбоз, тромбообразование, тромбопластин.

Pathogenic role of tissue factor in atherothrombosis and endothelial dysfunction

E.I. Krasilnikova^{1,2}, E.G. Sergeeva¹, D. Sakha¹, S. Sakha¹, A.V. Gorbach¹,
Zh.I. Ionova¹, A.A. Bystrova¹

¹Pavlov St Petersburg State Medical University, St Petersburg, Russia

²Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St Petersburg, Russia

Corresponding author: Pavlov St Petersburg State Medical University, 6/8 L. Tolstoy st., St Petersburg, Russia, 197022. Phone/fax: 8 (812) 234–34–24. E-mail: krasilnikova@bk.ru (Elena I. Krasilnikova, MD, PhD, Professor at the Department of Faculty Therapy at Pavlov St Petersburg State Medical University).

Abstract

Vessel occlusion by rupture or atheroma erosion leading to thrombosis is the underlying cause of severe complications, including sudden cardiac death, myocardial infarction, and stroke. Tissue factor is known to play the key role in the initiation of the majority of stages of coagulation cascade. Recent studies explained the structure, synthesis and activation mechanisms of tissue factor. Tissue factor is the main component of atherothrombotic process and is associated with the immune inflammation, endothelial dysfunction, angiogenesis, and cell migration that play an important role in the development of cardiovascular, inflammatory and oncological pathology. Basal activity of tissue factor is the independent parameter of cardiovascular risk, the predictor of thrombolysis efficacy and affects the results of angioplasty interventions. The effects of medications (e.g. statins), including those in drug-eluting stents, on tissue factor are the objective of further investigation. Studies of physiological and pathogenic role of tissue factor will have a great impact on our understanding of cardiovascular pathology and other diseases.

Key words: tissue factor, atherothrombosis, coagulation, thromboplastin.

Статья поступила в редакцию: 24.06.12. и принята к печати: 06.07.12.

В настоящее время известно, что такие серьезные клинические формы атеросклероза, как внезапная смерть, инфаркт миокарда и инсульт имеют общий патогенез. Окклюзия просвета сосуда является результатом разрыва или эрозии атеросклеротической бляшки, приводящей к тромбозу. Установлено, что тромб имеет сложную структуру, и кроме тромбоцитов содержит достаточно большое количество фибрина, что свидетельствует о значимости факторов коагуляционного каскада в пристеночном тромбообразовании. Ключевым элементом инициации наружного пути коагуляции является тканевый фактор (ТФ), который во многом опосредует тромбогенность атеросклеротической бляшки. Он представляет собой трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой 47 килодальтон, который в форме альфа-спирали фиксирован на клеточной мембране. Этот белок состоит из 263/261 аминокислот и подразделяется на три домена [1]:

1. экстраклеточный домен представлен NH2-терминальной частью молекулы (аминокислотные остатки с 1 по 219) и состоит из двух молекул фибринонектина III типа. На экстраклеточном домене имеются три потенциальных N-концевых участка связи с углеводами;

2. трансмембранный гидрофобный домен, которым ТФ фиксируется к мембране (аминокислотные остатки с 220 по 242);

3. цитоплазматический COOH-терминальный домен.

Исследования аминокислотных последовательностей, считанных с нуклеотидных последовательностей кода плацентарной дезоксирибонуклеиновой

кислоты (ДНК) человека показали, что ТФ происходит из более крупной молекулы-предшественника, которая имеет дополнительную последовательность из 32 аминокислот [2].

Экстраклеточный и трансмембранный домены ТФ играют существенную роль в гемокоагуляции. Цитоплазматический домен имеет значение в сигнальной трансдукции. Считается, что ТФ без цитоплазматического домена функционально полностью идентичен белку, инициирующему генерацию тромбина. Кроме того, рекомбинантный ТФ, лишенный как трансмембранного, так и цитоплазматического домена, не может присоединиться к клеточной мембране, а также не способен активировать фактор VII и имеет пониженную каталитическую эффективность по отношению к фактору IX и фактору X, хотя может формировать комплекс с фактором VIIa [3]. Установлено, что экспрессия ТФ регулируется на трансляционном уровне. Промоторный элемент ТФ человека содержит пять мест соединения со специфическим протеином -1 (Sp1), три места соединения с эпидермальным фактором роста-1 (Egr-1), два места соединения с белком-активатором 1 типа (AP-1) и одно место сцепления с ядерным фактором каппа-бета (NF-κB). Считается, что сайты Sp1 ответственны преимущественно за стабильную экспрессию базального уровня ТФ. Сайты Egr-1, AP-1 и NF-κB в первую очередь отвечают за индуцированную экспрессию ТФ [4]. Известно, что экспрессию ТФ в эндотелиальных клетках сосудов и в моноцитах/макрофагах может индуцировать фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа), интерлейкин-1β, лиганд CD40, бактериальный липополисахарид (LPS), фактор роста сосудистого эндотелия, окис-

ленные и ацетилированные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), гипоксия и гемодинамический стресс [5].

Синонимами ТФ являются тканевый фактор тромбоцитов, тромбокиназа и CD 142. Кластер дифференцировки CD используется для идентификации ТФ на поверхности лейкоцитов. ТФ иногда ошибочно называют тромбопластином. Термином тромбопластин обозначается лабораторный реагент, используемый для оценки протромбинового времени. Тромбопластин представляет собой комбинацию фосфолипидов и ТФ, которые необходимы для активации внешнего пути коагуляции. Фосфолипидная часть тромбопластина называется частичным тромбопластином, который активирует внутренний путь коагуляции. Тест по исследованию внутреннего пути коагуляции — это активированное частичное тромбопластиновое время.

ТФ отличается от других кофакторов коагуляционного каскада, которые циркулируют в неактивном состоянии. Экспрессированный на клеточной поверхности ТФ функционально активен [6]. Уникальность ТФ состоит в том, что ни в одном из проведенных исследований не выявлялось его врожденного дефицита. Установлено, что в мышечном эмбрионе дефицит ТФ приводит к фетальной смерти, что свидетельствует о его важности для жизнеобеспечения. В настоящее время известно, что ТФ присутствует в субэндотелиальной зоне, тромбоцитах и лейкоцитах, а также в адвентиции сосудов, в клетках астроглии, в капсулах внутренних органов и находится в относительно высокой концентрации в центральной нервной системе, в легких и плаценте [7]. Кроме того, при стимуляции различными агентами многие клетки могут продуцировать ТФ.

Субэндотелиальная фракция ТФ отвечает за формирование фибрина в участках повреждения сосудистой стенки, циркулирующая в крови фракция ТФ вносит существенный вклад в формирование тромба. Прокоагулянтная активность ТФ регулируется ингибитором ТФ [8].

В 2003 году V.Y. Bogdanov и соавторы идентифицировали форму ТФ, синтезированную по альтернативному пути (asHTF). Они обнаружили, что в этом случае он содержит преимущественно экстраклеточный домен, а трансмембранный домен отсутствует. asHTF в растворимом виде циркулирует в крови, а прикрепление ее к поверхности тромба способствует его дальнейшему росту [9]. Однако в исследованиях P. Censarek, A. Bobbe и соавторов, было обнаружено, что ТФ, синтезированный по альтернативному пути (asHTF), не имеет прокоагулянтной активности [10]. Было высказано

предположение, что экспрессия asHTF способствует опухолевому росту, ассоциируется с увеличением пролиферации опухолевых клеток и ангиогенезом, при этом имеется диссоциация между прокоагулянтной активностью полной молекулы ТФ и проканцерогенной активностью asHTF [11].

Следующей важной функцией ТФ является его участие в переходе протромбина в тромбин. Во внешнем пути коагуляции ТФ активирует VII фактор, который в свою очередь активирует IX и X факторы коагуляции. Активированный X фактор в присутствии V фактора, ионов кальция и фосфолипидов способствует превращению протромбина в тромбин. Во внутреннем пути коагуляции комплекс FVIIIa:FIXa инициирует коагуляцию крови посредством генерации фактора Ха. Активированный фактор Ха формирует комплекс протромбиназы, который в дальнейшем инициирует коагуляционный каскад и способствует трансформации протромбина в тромбин.

В настоящее время известно несколько функций, которые осуществляет тромбин:

- способствует превращению фибриногена в растворимые фибрин мономеры;
- трансформирует фактор FXIII в фактор FXIIIa, который соединяет между собой фибрин-мономеры;
- активирует рецепторы протеаз на тромбоцитах, а также другие кофакторы гемокоагуляции;
- активирует фактор XI, который способствует генерации активной формы фактора IXa по альтернативному пути [12].

Исследования последних лет показали, что ТФ играет существенную роль не только в гемостазе, но и имеет значение для формирования коагуляционных протеаз и активации их рецепторов на сосудистой стенке. ТФ модулирует сигнальные пути целого ряда биологических процессов, таких как воспаление, ангиогенез, метастазирование и клеточная миграция [13–16]. Экспрессия ТФ на клетках вне сосудистой стенки играет существенную роль в гемостазе, при этом экспрессия ТФ на эндотелии индуцирует внутрисосудистый тромбоз [17].

Известно, что стимуляция тромбоцитов через рецепторы протеаз ускоряет коагуляционный каскад посредством присоединения XI фактора к рецептору гликопротеина Ib–IX–V. Это создает протромбогенную поверхность для комплекса протромбиназы. Большая часть этих рецепторов находится в липидных якорях стимулированных тромбоцитов [18, 19]. Липидные якоря представляют собой микродомены, богатые холестерином и сфинголипидами, на которых локализуются мембранные лиганды и происходит стимуляция клеточных сигнальных

путей. Например, оптимальное присоединение XI фактора к мембранному якорю требует присутствия протромбина и Ca^{2+} или кининогена и Zn^{2+} [19]. Тромбоциты ускоряют коагуляционный каскад как посредством присоединения к фактору XI своим гликопротеиновым рецептором Ib-IX-V, так и за счет создания тромбогенной поверхности для комплекса протромбиназы.

В настоящее время известно о существовании четырех групп рецепторов, активируемых тромбоцитами (PAR), носящих название PAR1, PAR2, PAR3, и PAR4. Каждая группа этих рецепторов активируется различными протеазами. Комплекс TF:FVIIa активирует PAR2 [20]; фактор Ха активирует PAR1 и PAR2; тромбин активирует PAR-1, PAR-3, и PAR-4, при этом PAR2 не активируется тромбином. Обнаружено, что PAR2 и в меньшей степени PAR1 активируются FVIIa, который в свою очередь зависит от TF. Комплекс TF/FVIIa переводит неактивный предшественник X в активную форму (FXa).

В исследованиях последних лет активно изучаются функциональные связи FXa. Установлено, что в присутствии X фактора низкие пикомолярные концентрации фактора FVIIa вызвали в клетках относительно большую сигнальную экспрессию TF и PAR2. Исследования на эндотелиальных клетках, активированных цитокинами, показали, что на PAR2 прямое влияние оказывает комплекс TF/FVIIa, а косвенное — X фактор, активная форма которого также генерируется вышеописанным комплексом. На основе этих данных высказано предположение, что PAR2, которые не активируются тромбином, могут играть роль сенсоров для коагуляционных протеаз. Эта функция способствует активации эндотелия в случаях повреждения или воспаления. Рецепторы PAR представляют собой совершенный механизм, обеспечивающий передачу информации клеткам о механическом повреждении сосудистой стенки. Таким образом, рецепторы PAR играют роль в гемостазе, тромбозе, воспалении и даже в процессе формирования сосудистой стенки. PAR-1, -2, и -4 экспрессированы в различных клетках сосудистой стенки, включая эндотелиоциты. Медиаторами тромбин-опосредованной активации тромбоцитов у человека являются PAR-1 и -4 [21].

Необходимо отметить, что данные об интегрировании в клеточную мембрану и высвобождении TF весьма противоречивы. Установлено, что интегрирование сопровождается посттрансляционной супрессией прокоагулянтной активности TF на поверхности клеточной мембраны. Обычно в кровяном русле TF интегрирован в клеточную мембрану тромбоцитов и моноцитов. В неповрежденной клет-

ке прокоагулянтная активность TF ничем себя не проявляет, но состояние липидного биослоя может влиять на свойства интегрированной фракции TF. Повышение содержания ионизированного кальция в цитозоле может приводить к разворачиванию прокоагулянтной активности TF. Финальная ступень разворачивания прокоагулянтной активности TF состоит в активации VII фактора [22].

Проведенные исследования показали, что ионизированный кальций увеличивает внутриклеточную активность TF, но не антигена TF на поверхности клеточной мембраны. Такое несоответствие между активностью самого TF и его антигена коррелирует с увеличением числа клеток, содержащих фосфатидилсерин, причем большинство их находилось в некротизированном состоянии и экспрессировало TF. В связи с этим было высказано предположение, что погибающие клетки, содержащие TF, вносят вклад в это несоответствие между активностью TF и его экспрессией. Ионизированный кальций также повышал активность TF, ассоциированную с высвобождением матриксных металлопротеиназ, что может служить началом процесса диссеминированного внутрисосудистого свертывания [23].

Апоптоз моноцитов является важнейшим фактором, детерминирующим атеротромбоз. Имеются два главных механизма этой апоптоз-индуцированной тромбогенности: наличие отрицательно заряженных фосфолипидов на клеточной мембране и дисрегуляция TF. В клетках, находящихся в состоянии апоптоза, существенно повышена матричная РНК TF, при этом мембранные и цитоплазматические фракции TF в этих клетках обладают высокой прокоагулянтной активностью, в то время как нормально функционирующие клетки минимально влияют на генерацию тромбина. Было показано, что увеличение отрицательного заряда мембраны нормально функционирующих клеток повышало их способность генерировать тромбин до уровня, характерного для клеток, находящихся в состоянии апоптоза. Было сделано заключение, что апоптоз моноцитов приводит к значительному увеличению их прокоагулянтных функций. Кроме того, установлено, что клеточное микроокружение оказывает существенное влияние на формирование тромбина [24–26].

Существующие в настоящее время сложности при оценке уровня TF в крови связаны с отсутствием надежных стандартных тестов его определения. Физиологически активный TF циркулирует в крови в концентрациях выше 30 пмоль, как в качестве компонента форменных элементов крови, так и в виде микрочастиц, а также в качестве протеина плазмы. Однако ни разу не были описаны сгустки

крови, в которых бы отсутствовал экзогенный ТФ. Добавление ТФ к цельной крови в количестве от 16 до 20 пмолей сопровождалось ускорением формирования сгустка. По данным S. Butenas с соавторами (2005) концентрация физиологически активного ТФ, не стимулированного цитокинами, у здоровых людей не превышает 20 пмолей [12]. Авторы не выявили активности ТФ или его антигенов на нативных и ионофор-стимулированных тромбоцитах, а также на мононуклеарах крови при отсутствии их стимуляции, в то время как цельная кровь, стимулированная липополисахаридом, содержала существенную фракцию моноцитов, экспрессировавших ТФ. P.L. Giesen и соавторы (1999) пришли к выводу, что лейкоциты являются основным источником плазменного фактора, циркулирующего в крови, который является тромбогенным и вовлекается в формирование тромба в участках повреждения сосудистой стенки [27, 28].

В настоящее время известно, что патологическая экспрессия ТФ может привести к фатальным последствиям, как это наблюдается при сепсисе, онкологической патологии и атеросклеротическом процессе. Установлено, что ТФ играет ведущую роль в патогенезе заболеваний сосудов, процессах системного воспаления и гемокоагуляции. Установлено, что ТФ может присоединяться к клеточным рецепторам, где он в свою очередь способствует продукции и выделению медиаторов воспаления. Показано, что моноциты и макрофаги экспрессируют ТФ преимущественно после стимуляции воспалительными цитокинами [29, 30]. Кроме того, опухолевые клетки также экспрессируют ТФ. В настоящее время стало очевидным, что опухолевый ангиогенез, метастазирование и инвазивность в значительной мере зависят от коагуляционного каскада крови [31, 32].

В последние годы получены доказательства существенной роли ТФ в атерогенезе. Как уже отмечалось выше, ТФ находится в адвентиции кровеносных сосудов и в липидном ядре атеросклеротической бляшки («нестабильная бляшка»). Повреждение атеросклеротической бляшки инициирует коагуляцию из-за попадания ТФ из ее ядра в циркулирующую кровь, что приводит к активации коагуляционного каскада, формированию тромба и окклюзии сосуда. Биологически активная форма ТФ определяется как в сосудистой стенке, так и в циркулирующей крови. Имеются сообщения, что внутрисосудистая фракция ТФ повышена при таких протромботических синдромах, как инфаркт миокарда, сепсис, антифосфолипидный синдром.

В недавно проведенных исследованиях оценивалась патогенетическая роль лиганда рецептора

активации ядерного фактора (RANKL) в поздних стадиях атеросклероза (в частности, при разрыве и дестабилизации атеросклеротической бляшки). Известно, что промотор ТФ человека имеет 5 мест соединения со специфическим белком-1 (Sp1), 3 места соединения с эпидермальным фактором роста 1-го типа (Egr-1), 2 места соединения с белком-активатором 1-го типа (AP-1) и одно место соединения с ядерным фактором каппа-бета (NF-κB). Установлено, что сайты Sp1 связаны с постоянной экспрессией базального уровня ТФ, в то время как сайты Egr-1, AP-1 и, особенно, NF-κB связаны с индуцированной активностью ТФ [25, 33, 34]. Установлено, что полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией и хромогенетический анализ показали, что RANKL повышал уровень микроРНК ТФ и прокоагулянтную активность макрофагов. RANKL индуцировал ТФ макрофагов преимущественно через сайты Egr-1 и AP-1. Эти данные подтверждают роль RANKL в тромбогенности атеросклеротической бляшки [26].

В литературе последних лет появился новый термин «ранимая кровь», который характеризует кровь, предрасположенную к гиперкоагуляции. В такой крови содержатся две различные фракции циркулирующего ТФ: одна ассоциирована с микрочастицами, выделяемыми клетками в состоянии апоптоза, такими как макрофаги, гладкомышечные клетки и эндотелий, другая фракция ТФ циркулирует в неактивной форме и при активации дополнительно усиливает тромбогенный потенциал. Установлено, что ТФ инициирует тромбогенный стимул, приводя к формированию более стабильного тромба. Определение циркулирующего в крови ТФ может быть полезно для выделения групп пациентов высокого риска в отношении развития сердечно-сосудистых событий [35–38]. Было установлено, что базальная активность ТФ плазмы крови является независимым фактором риска кардиоваскулярной смерти у больных острым инфарктом миокарда [39, 40]. Однако в более ранних исследованиях были получены противоречивые результаты. В частности, в 2001 году W. Roldana и соавторы (2001) не нашли никаких различий между уровнем ТФ у больных инфарктом миокарда и контрольной группой и не выявили его прогностическую значимость [41].

Пул ТФ плазмы включает ТФ, ассоциированный с микрочастицами, продукты деградации тканевого фактора и ТФ, синтезированный по альтернативному пути. Микрочастицы — это липидные везикулы, выделяемые тромбоцитами, лейкоцитами и эндотелиальными клетками. Установлено, что микрочастицы являются важным элементом венозного тромбогенеза [42] и представляют собой везикулярные

структуры диаметром от 100 до 1000 нм. Они присутствуют в крови здоровых людей и у пациентов с различными заболеваниями. Мембраны микрочастиц сохраняют рецепторы их «родительских» клеток и могут содержать РНК и другие компоненты цитозоля. По характеру экспрессии поверхностных белков выделяют микрочастицы из тромбоцитов, гранулоцитов, моноцитов, эндотелиальных клеток, гладкомышечных клеток и опухолевых клеток. Субпопуляция этих микрочастиц содержит ТФ [43]. Атеросклеротическая бляшка человека содержит микрочастицы, которые выделяются во время активации клеток или их апоптоза. Большое количество микрочастиц выявлялось в атеросклеротических бляшках, но они отсутствовали в здоровых сосудах. Исследования A.S. Leroyer и соавторов (2007) показали, что микрочастицы из атеросклеротической бляшки значительно более тромбогенны, чем микрочастицы плазмы. В атеросклеротической бляшке микрочастицы выделяются преимущественно из лейкоцитов. В одном из исследований было показано, что микрочастицы выделяются в 29 ± 5 % случаев из макрофагов, 15 ± 3 % случаев из лимфоцитов, в 13 ± 4 % случаев из гладкомышечных клеток, в 8 ± 2 % из эндотелиальных клеток, но во всех случаях они не были тромбоцитарного происхождения. Напротив, микрочастицы плазмы выделяются преимущественно тромбоцитами, а не гладкомышечными клетками. В этом исследовании было показано, что микрочастицы как атеросклеротической бляшки, так и плазмы содержали ТФ и генерировали тромбин, однако эта активность была вдвое выше у микрочастиц, изолированных из атеросклеротических бляшек. Таким образом, различные классы микрочастиц отличаются по тромбогенному потенциалу [44].

В одном из исследований изучалась экспрессия ТФ в гладкомышечных клетках аорты и коронарных артерий человека. Экспрессия ТФ на поверхности гладкомышечных клеток была короткоживущей, что лимитировало тромбогенный потенциал интактных гладкомышечных клеток. В то же время внутриклеточный пул является дополнительным источником ТФ, что может иметь значение в случаях повреждения гладкомышечных клеток, например, при эрозии атеросклеротической бляшки или при проведении баллонной ангиопластики [36, 38, 45].

Установлено, что в случае развития инфаркта миокарда активация тромбоцитов и апоптоз эндотелия возникают в ответ на высвобождение из клеточных мембран в кровоток прокоагулянтных микрочастиц. У больных инфарктом миокарда с элевацией сегмента ST уровни микрочастиц, выделяемых лейкоцитами и эндотелиоцитами, и

микрочастиц, содержащих ТФ, были существенно выше в зоне окклюзии коронарной артерии, чем в образцах периферической крови. После коронарной ангиопластики и восстановления коронарного кровотока происходило существенное снижение прокоагулянтных микрочастиц лейкоцитарного и эндотелиального происхождения (на 30 и 42 % соответственно). Таким образом, увеличение прокоагулянтных микрочастиц в окклюзированной коронарной артерии у больных инфарктом миокарда с повышением сегмента ST, по-видимому, играет патфизиологическую роль в коронарном атеротромбозе [46, 47]. Кроме того, у пациентов, у которых проводился фибринолиз по поводу инфаркта миокарда с повышением сегмента ST, реканализация артерии в зоне инфаркта происходила примерно в 60 % случаев. Проводилось исследование связи неудачной реканализации с различиями в биомаркерах гемостаза у группы больных с успешным фибринолизом. Неуспешный фибринолиз при инфаркте миокарда характеризовался высоким прокоагулянтным статусом, обусловленным микрочастицами с ТФ и низкой генерацией плазмина [48]. В другом исследовании, касающемся пациентов с перемежающейся хромотой, установлено, что у них концентрация ТФ плазмы была существенно выше, чем у лиц контрольной группы. При этом его максимальная концентрация выявлялась у пациентов с рестенозом после илеофemorальной ангиопластики [49].

В настоящее время не вызывает сомнений, что провоспалительные механизмы, вовлеченные в развитие атеросклероза могут ускоряться под влиянием различных факторов, таких как липопротеины низкой плотности, продукты перекисного окисления, активированные клетки крови, интерлейкины и интерферон- γ и, особенно, таких маркеров системного воспаления, как С-реактивный белок — предиктор кардиоваскулярных событий [50].

В последние годы установлено, что ожирение предрасполагает к провоспалительному статусу. Исследования *in vitro* с резистином — недавно описанным цитокином, продуцируемым жировой тканью, продемонстрировали, что этот адипоцитокин дозозависимо индуцирует пролиферацию гладкомышечных клеток коронарных артерий человека посредством активации внеклеточной сигнальной киназы и фосфатидилинозитолкиназы-3. Было обнаружено, что инкубация с резистином индуцировала транскрипцию микроРНК ТФ и синтез де novo функционально активного ТФ. Молекулы ТФ были функционально активны, что подтверждалось повышением прокоагулянтного потенциала. Этот феномен был преимущественно обусловлен синте-

зом новых молекул ТФ. Было продемонстрировано, что резистин-индуцированная активность ТФ в эндотелиоцитах человека усиливается продуктами перекисного окисления и что транскрипция ядерного фактора каппа-бета потенциально модулирует этот феномен [33, 51–54].

Учитывая представленные данные о существенной физиологической и патофизиологической роли ТФ, представлялось важным оценить возможное влияние на его продукцию и активность широко применяемых в клинической практике лекарственных препаратов. В экспериментальных работах было показано, что рапамицин повышает активность ТФ и провоцирует артериальный тромбоз *in vivo* в концентрациях, адекватных его содержанию в стентах с лекарственным покрытием. На модели фотохимического повреждения каротидной артерии мыши изучали эффект препаратов второго поколения, использующихся для лекарственного покрытия стентов, — эверолимуса и зотаролимуса. Оказалось, что рапамицин, эверолимус и зотаролимус повышали экспрессию ТФ, индуцированную ФНО-альфа в 2,2, 1,7 и 2,4 раза соответственно, при одновременном увеличении поверхностной активности ТФ. Эти данные следует учитывать при создании стентов второго поколения с лекарственным покрытием [55, 56].

В исследованиях, проведенных J. Steffel и соавторами (2005), было показано, что цеlexоксиб, но не рофекоксиб уменьшал эндотелиальную активность и экспрессию ТФ, при этом его эффект не зависел от ингибиции циклооксигеназы-2. Был сделан вывод, что цеlexоксиб, но не рофекоксиб существенно уменьшает эндотелиальную дисфункцию [57].

Было проведено исследование влияния симва-статина и эзетимиба на различные параметры, в том числе на уровень С-реактивного белка (СРБ) и ТФ. Оба препарата улучшали показатели липидного профиля и снижали концентрацию С-реактивного белка, однако не оказывали влияния на уровень ТФ и фактора Виллебранда [58]. В другом исследовании изучали эффект аторвастатина на активность ТФ в эндотелиоцитах, стимулированных тромбином, а также регуляцию этой активности через мевалонат и его дериваты. Активность ТФ оценивалась по его способности индуцировать продукцию фактора Ха клетками после присоединения к ним комплекса ТФ-фактор VIIa. В исследовании было показано, что аторвастатин в дозозависимой концентрации предупреждал тромбин-индуцированную дисрегуляцию ТФ. Мевалонат и геранилированный пироген фосфат уменьшали ингибирующий эффект аторвастатина на активность ТФ, в то время как фарнезилпироген фосфат такого действия не оказывал [59].

Заключение

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют, что ТФ не только является ключевым элементом атеротромбоза, но и тесно взаимосвязан с иммунновоспалительным процессом, дисфункцией эндотелия, имеет прогностическое значение у больных ишемической болезнью сердца, а также при других клинических манифестациях атеросклероза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Butenas S., Orfeo T., Mann K.G. Tissue factor in coagulation, which? Where? When? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2009. — Vol. 29, № 12. — P. 1989–1996.
2. Spicer E.K., Horton R., Bloem L. et al. Isolation of cDNA clones coding for human tissue factor: primary structure of the protein and cDNA // *PNAS.* — 1987. — Vol. 84, № 15. — P. 5148–5152.
3. Fiore M.M., Neuenschwander P.F., Morrissey J.H. The biochemical basis for the apparent defect of soluble mutant tissue factor in enhancing the proteolytic activities of factor VIIa // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269, № 1. — P. 143–149.
4. Mackman N. Regulation of the tissue factor gene // *Thromb. Haemost.* — 1997. — Vol. 78, №1. — P. 747–754.
5. Baker A.K., Wang R., Mackman N., Luyendyk J.P. mTOR-dependent IL-10 expression inhibits LPS induction of tissue factor and cytokines in macrophages // *FASEB J.* — 2009. — Vol. 570, Suppl. 5. — [Электронный ресурс]. — URL: http://www.fasebj.org/cgi/content/meeting_abstract/23/1_MeetingAbstracts/570.5.
6. Butenas S., Mann K.G. Active tissue factor in blood? // *Nat. Med.* — 2004. — Vol. 10, № 11. — P. 1155–1156.
7. Butenas S., Dee J.D., Mann K.G. The function of factor XI in tissue factor-initiated thrombin generation // *J. Thromb. Hemostat.* — 2003. — Vol. 1, № 10. — P. 2103–2111.
8. Dietzen D.J., Page K.L., Tetzloff T.A. Lipid rafts are necessary for tonic inhibition of cellular tissue factor procoagulant activity // *Blood.* — 2004. — Vol. 103, №8. — P.3038–3044.
9. Bogdanov V.Y., Balasubramanian V., Hathcock J., Vele O., Lieb M., Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein // *Nat. Med.* — 2003. — Vol. 9, №4. — P. 458–462.
10. Censarek P., Bobbe A., Grandoch M., Schrör K., Weber A.A. Alternatively spliced human tissue factor (asHTF) is not pro-coagulant // *Thromb. Haemost.* — 2007. — Vol. 97, № 1. — P. 11–14.
11. Hobbs J.E., Zakarija A., Cundiff D.L. et al. Alternatively spliced human tissue factor promotes tumor growth and angiogenesis in a pancreatic cancer tumor model // *Thromb. Res.* — 2007. — Vol. 120, Suppl. 2. — P. 13–21.
12. Butenas S., Bouchard B.A., Brummel-Ziedins K.E., Parhami-Seren B., Mann K.G. Tissue factor activity in whole blood // *Blood.* — 2005. — Vol. 105, № 7. — P. 2764–2770.
13. Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2004. — Vol. 24, № 6. — P. 1015–1022.
14. Levi M., van der Poll T., ten Cate H. Tissue factor in infection and severe inflammation // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2006. — Vol. 32, № 1. — P. 33–39.
15. Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis // *Thromb. Vasc. Biol.* — 2004. — Vol. 24, № 6. — P. 1015.

16. Breitenstein A., Stein S., Holy E.W. et al. Sirt1 inhibition promotes in vivo arterial thrombosis and tissue factor expression in stimulated cells // *Cardiovasc. Res.* — 2011. — Vol. 89, №2. — P. 464–472.
17. Stähli B.E., Breitenstein A., Akhmedov A. et al. Cardiac glycosides regulate endothelial tissue factor expression in culture // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2007. — Vol. 27, № 12. — P. 2769–2776.
18. Shrimpton C.N., Borthakur G., Larrucea S., Cruz M.A., Dong J.F., López J.A. Localization of the adhesion receptor glycoprotein Ib-IX-V complex to lipid rafts is required for platelet adhesion and activation // *J. Exp. Med.* — 2002. — Vol. 196, № 8. — P. 1057–1066.
19. Baglia F.A., Shrimpton C.N., López J.A., Walsh P.N. The glycoprotein Ib-IX-V complex mediates localization of factor XI to lipid rafts on the platelet membrane // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278, № 24. — P. 21744–21750.
20. Camerer E., Huang W., Coughlin Sh.R. Tissue factor- and factor X-dependent activation of protease-activated receptor 2 by factor VIIa // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2000. — Vol. 97, № 10. — P. 5255–5260.
21. Coughlin S.R. Thrombin signalling and protease activated receptors // *Nature.* — 2000. — Vol. 407, № 6801. — P. 258–264.
22. Bach R.R. Tissue factor encryption // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2006. — Vol. 26, № 3. — P. 456–461.
23. Henriksson C.E., Klingenberg O., Hellum M. et al. Calcium ionophore-induced de-encryption of tissue factor in monocytes is associated with extensive cell death // *Thromb. Res.* — 2007. — Vol. 119, № 5. — P. 621–630.
24. Stampfuss J.J., Censarek P., Bein D. et al. Membrane environment rather than tissue factor expression determines thrombin formation triggered by monocytic cells undergoing apoptosis // *J. Leuk. Biol.* — 2008. — Vol. 83, № 6. — P. 1379–1381.
25. Abe R., Yamashita N., Rochier A. et al. Pulsatile to-fro flow induces greater and sustained expression of tissue factor RNA in HUVEC than unidirectional laminar flow // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2011. — Vol. 300, № 4. — P. H1345–H1351.
26. Kim J., Min J.K., Park J.A. et al. Receptor activator of nuclear factor {kappa}B ligand is a novel inducer of tissue factor in macrophages // *Circ. Res.* — 2010. — Vol. 107, № 7. — P. 871–876.
27. Giesen P.L., Rauch U., Bohrmann B. et al. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 1999. — Vol. 96, № 5. — P. 2311–2315.
28. Holy E.W., Stämpfli S.F., Akhmedov A. et al. Laminin receptor activation inhibits endothelial tissue factor expression // *J. Mol. Cell. Cardiol.* — 2010. — Vol. 48, № 6. — P. 1138–1145.
29. Bouchard B.A., Tracy P.B. The participation of leukocytes in coagulant reactions // *J. Thromb. Haemost.* — 2003. — Vol. 1, № 3. — P. 464–469.
30. Muñoz-García B., Madrigal-Matute J., Moreno J.A. et al. TWEAK-Fn14 interaction enhances plasminogen activator inhibitor 1 and tissue factor expression in atherosclerotic plaques and in cultured vascular smooth muscle cells // *Cardiovasc. Res.* — 2011. — Vol. 89, № 1. — P. 225–233.
31. López-Pedraza C., Barbarroja N., Dorado G., Siendones E., Velasco F. Tissue factor as an effector of angiogenesis and tumor progression in hematological malignancies // *Leukemia.* — 2006. — Vol. 20, № 8. — P. 1331–1340.
32. Breyne J., Juthier F., Corseaux D. et al. Atherosclerotic-like process in aortic stenosis: Activation of the tissue factor-thrombin pathway and potential role through osteopontin alteration // *Atherosclerosis.* — 2010. — Vol. 213, № 2. — P. 369–376.
33. Calabrò P., Cirillo P., Limongelli G. et al. Tissue factor is induced by resistin in human coronary artery endothelial cells by the NF-κB-dependent pathway // *J. Vasc. Res.* — 2011. — Vol. 48, № 1. — P. 59–66.
34. Jude B., Zawadzki C., Susen S., Corseaux D. Relevance of tissue factor in cardiovascular disease // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* — 2005. — Vol. 98, № 6. — P. 667–671.
35. Cimmino G., Golino P., Badimon J. J. Pathophysiological role of blood-borne tissue factor: should the old paradigm be revisited? // *Intern. Emerg. Med.* — 2011. — Vol. 6, № 1. — P. 29–34.
36. Tedgui A., Mallat Z. Smooth muscle cells: another source of tissue factor-containing microparticles in atherothrombosis? // *Circ. Res.* — 2000. — Vol. 87, № 2. — P. 81–82.
37. Steffel J., Akhmedov A., Greutert H., Lüscher T.F., Tanner F.C. Histamine induces tissue factor expression, implications for acute coronary syndromes // *Circulation.* — 2005. — Vol. 112, № 3. — P. 341–349.
38. Wu J., Stevenson M.J., Brown J.M., Grunz E.A., Strawn T.L., Fay W.P. C-reactive protein enhances tissue factor expression by vascular smooth muscle cells, mechanisms and in vivo significance // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2008. — Vol. 28, № 4. — P. 698–704.
39. Morange P.E., Blankenberg S., Alessi M.C. et al. Atherogene investigators. Prognostic value of plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for cardiovascular death in patients with coronary artery disease: the AtheroGene study // *Thromb. Haemost.* — 2007. — Vol. 5, № 3. — P. 475–482.
40. Steppich B.A., Braun S.L., Stein A. et al. Plasma TF activity predicts cardiovascular mortality in patients with acute myocardial infarction // *Thrombosis J.* — 2010. — Vol. 7, № 1. — P. 11. — 10.1186/1477–9560–7–11.
41. Roldán V., Marín F., Fernández P. et al. Tissue factor/tissue factor pathway inhibitor system and long-term prognosis after acute myocardial infarction // *Int. J. Cardiol.* — 2001. — Vol. 78, № 2. — P. 115–119.
42. Ramacciotti E., Hawley A.E., Farris D.M. et al. Leukocyte- and platelet-derived microparticles correlate with thrombus weight and tissue factor activity in an experimental mouse model of venous thrombosis // *Thromb. Hemostat.* — 2009. — Vol. 101, № 4. — P. 748–754.
43. Zwicker J.I., Trenor C.C. 3rd, Furie B.C., Furie B. Tissue factor-bearing microparticles and thrombus formation // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2011. — Vol. 31, № 4. — P. 728–733.
44. Leroyer A.S., Isobe H., Lesèche G. et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2007. — Vol. 49, № 7. — P. 772–777.
45. Schecter A.D., Giesen P.L., Taby O. et al. Tissue factor expression in human arterial smooth muscle cells. TF is present in three cellular pools after growth factor stimulation // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 100, № 9. — P. 2276–2285.
46. Morel O., Pereira B., Averous G. et al. Increased levels of procoagulant tissue factor-bearing microparticles within the occluded coronary artery of patients with ST-segment elevation myocardial infarction: role of endothelial damage and leukocyte activation // *Atherosclerosis.* — 2009. — Vol. 204, № 2. — P. 636–641.
47. Sambola A., Figueras J., García Del Blanco B., Martí G. Role of tissue factor activity, tissue factor antigen and tissue factor pathway inhibitor in ST-elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty // *Circulation.* — 2010. — Vol. 122. — P. A20153.
48. Huisse M.G., Ajzenberg N., Feldman L., Guillin M.C., Steg P.G. Microparticle-linked tissue factor activity and increased thrombin activity play a potential role in fibrinolysis failure in ST-segment elevation myocardial infarction // *Thromb. Haemost.* — 2009. — Vol. 101, № 4. — P. 734–740.

49. Ray B., Chetter I.C., Lee H.L., Ettelaie C., McCollum P.T. Plasma tissue factor is a predictor for restenosis after femoropopliteal angioplasty // *Br. J. Surg.* — 2007. — Vol. 94, № 9. — P. 1092–1095.
50. Devaraj S., Dasu M.R., Singh U., Rao L.V., Jialal I. C-reactive protein stimulates superoxide anion release and tissue factor activity in vivo // *Atherosclerosis.* — 2009. — Vol. 203, № 1. — P. 67–74.
51. Stähli B.E., Camici G.G., Steffel J. et al. Paclitaxel enhances thrombin-induced endothelial tissue factor expression via c-Jun terminal NH2 kinase activation // *Circulation Res.* — 2006. — Vol. 99, № 2. — P. 149–155.
52. Maroney S.A., Cooley B.C., Ferrel J.P., Bonesho C.E., Mast A.E. Murine hematopoietic cell tissue factor pathway inhibitor limits thrombus growth // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2011. — Vol. 31, № 4. — P. 821–826.
53. Zhang W., Wang J., Wang H. et al. Acadesine inhibits tissue factor induction and thrombus formation by activating the phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2010. — Vol. 30, № 5. — P. 1000–1006.
54. Gebhard C., Akhmedov A., Mocharla P. et al. PDGF-CC induces tissue factor expression: role of PDGF receptor α/β // *Basic Res. Cardiol.* — 2009. — Vol. 105, № 3. — P. 349–356.
55. Camici G.G., Steffel J., Amanovic I. et al. Rapamycin promotes arterial thrombosis in vivo: implications for everolimus and zotarolimus eluting stents // *Eur. Heart J.* — 2010. — Vol. 31, № 2. — P. 236–242.
56. Steffel J., Latini R.A., Akhmedov A. et al. Rapamycin, but not FK-506, increases endothelial tissue factor expression, implications for drug-eluting stent design // *Circulation.* — 2005. — Vol. 112, № 13. — P. 2002–2011.
57. Steffel J., Hermann M., Greutert H. et al. Celecoxib decreases endothelial tissue factor expression through inhibition of c-Jun terminal NH2 kinase phosphorylation // *Circulation.* — 2005. — Vol. 111, № 13. — P. 1685–1689.
58. Kostakou P., Kolovou G., Anagnostopoulou K. et al. Efficacy of simvastatin or ezetimibe on tissue factor, von Willebrand's factor and C-reactive protein in patients with hypercholesterolaemia // *Arch. Cardiovasc. Dis.* — 2010. — Vol. 103, № 1. — P. 26–32.
59. Martínez-Sales V., Vila V., Ferrando M., Reganon E. Atorvastatin neutralises the thrombin-induced tissue factor expression in endothelial cells via geranylgeranyl pyrophosphate // *Cytotechnology.* — 2010. — Vol. 63, № 1. — P. 1–5.