

УДК 612.13

ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ПРИ НОРМАЛЬНОЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2022 г. Е. М. Кольцова^{a, b, *}, А. А. Мартьянов^{a, b, c}, Н. А. Подоппелова^{a, b}

^aНациональный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, 117997 Россия

^bЦентр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, 109029 Россия

^cИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, 119334 Россия

*e-mail: ekaterina_koltsova@bk.ru

Поступила в редакцию 25.11.2021 г.

После доработки 16.04.2022 г.

Принята к публикации 17.04.2022 г.

Внеклеточные везикулы — это двухслойные мембранные липидные структуры без ядер, которые высвобождаются из различных клеток в результате физиологических и метаболических изменений. Они играют важную роль в межклеточной коммуникации посредством передачи широкого спектра биоактивных молекул, способствуя регуляции различных физиологических и патологических процессов. Внеклеточные везикулы могут обладать прокоагулянтными свойствами вследствие наличия фосфатидилсерина, ускоряющего реакции свертывания, на внешнем слое мембраны, а также экспрессии тканевого фактора, активирующего свертывание по внешнему пути, на поверхности некоторых везикул. В большом количестве клинических и экспериментальных исследований показано, что при различных патологиях и специфических физиологических состояниях, включая состояние беременности, концентрации внеклеточных везикул существенно превышают концентрации у здоровых добровольцев, что теоретически может являться одним из факторов развития гиперкоагуляционных состояний. Данный обзор будет сосредоточен на описании прокоагулянтных свойств внеклеточных везикул различного происхождения при нормальной и патологической беременности.

Ключевые слова: гемостаз, везикулы, беременность, плацента, тромбин, гиперкоагуляция

DOI: 10.31857/S023347552206007X

ВВЕДЕНИЕ

Внеклеточные везикулы представляют собой двухслойные мембранные липидные структуры без ядер, которые высвобождаются из различных клеток в результате физиологических и метаболических изменений [1]. Их можно разделить на три основных класса: экзосомы, эктосомы или микровезикулы и апоптотические тельца [2]. Разделение на классы происходит исходя из размера частиц, их происхождения, внутреннего содержания и выполняемых функций [3, 4]. Экзосомы имеют сравнительно небольшие размеры от ~40 до 160 нм и высвобождаются из мультивезикулярных телец при экзоцитозе (т.е. при слиянии мембраны телец с плазматической мембраной) [5, 6]. Эктосомы или микровезикулы довольно крупные частицы размером от ~50 нм до 1 мкм образуются из выпячиваний плазматической мембраны [7]. Отличительной чертой эктосом является наличие фосфатидилсерина (ФС) на внешнем слое мембраны. Апоптотические тельца высвобождаются

клетками, подвергающимися апоптозу, и имеют размер от 1 мкм и больше [8].

Изменение качественного и количественного состава внеклеточных везикул сопровождает широкий круг физиологических и патологических состояний. Особенную роль внеклеточные везикулы играют при беременности, поскольку они опосредуют взаимодействие плода и матери и участвуют во многих важных физиологических процессах, включая имплантацию эмбриона и развитие эмбриональных кровеносных сосудов, а также вследствие появления нового органа — плаценты, который также является источником внеклеточных везикул в кровотоке матери [9–12]. В последних публикациях указывается на изменение качественного и количественного состава внеклеточных везикул при развитии патологических состояний у беременных женщин (преэклампсия [13], сахарный диабет [14], преждевременные роды и выкидыш [15]). Физиологическая гиперкоагуляция, характерная для нормальной беременности, имеет неясное происхождение, а повышенные риски тромботических осложнений

как в группе здоровых беременных, так и в группе с различными акушерскими патологиями, привлекает внимание к исследованию возможных причин возникновения гиперкоагуляции при беременности.

Данный обзор будет сосредоточен на описании прокоагулянтных свойств внеклеточных везикул различного происхождения при нормальной и патологической беременности.

ВЕЗИКУЛЫ ИЗ КЛЕТОК КРОВИ И ЭНДОТЕЛИЯ И ИХ ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА

Несмотря на то, что беременность является физиологическим состоянием женщины, она сама по себе характеризуется сдвигом гемостаза в сторону гиперкоагуляции и склонности к тромботическим осложнениям. Развитие патологических состояний у беременных женщин (преэклампсия, сахарный диабет, преждевременные роды и выкидыш) существенно влияет на состав и свойства внеклеточных везикул в кровотоке, в том числе внеклеточных везикул из клеток крови, что, в свою очередь, может влиять на баланс системы гемостаза.

В целом, все типы клеток способны формировать и высвобождать во внеклеточное пространство различные типы везикул. Согласно ряду исследований, наиболее представленными в кровотоке являются внеклеточные везикулы тромбоцитарного происхождения [16]. По данным криоэлектронной микроскопии примерно 30% всех внеклеточных везикул в свободной от тромбоцитов плазме положительно по CD41 [17]. Для идентификации тромбоцитарных внеклеточных везикул могут применяться как маркеры характерные для всех тромбоцитов (CD41, CD42b), так и маркеры специфичные исключительно для активированных тромбоцитов (CD62P или антигена к активной форме интегрина $\alpha\text{IIb}\beta 3$) [18]. Так же могут быть использованы и менее специфичные маркеры CD31 и CD61, оба из которых также экспрессируются на эндотелиальных внеклеточных везикулах. Полный список маркеров, используемых для идентификации происхождения внеклеточных везикул представлен на рис. 1.

Также важным источником внеклеточных везикул являются эндотелиальные клетки. Было показано, что до 10% внеклеточных везикул, циркулирующих в кровотоке здоровых добровольцев, имеют эндотелиальное происхождение [19]. При этом активация или повреждение эндотелия в результате травмы или патологии приводит к существенному росту количества данных везикул в кровотоке. Фактически эндотелиальные внеклеточные везикулы могут использоваться в качестве маркера дисфункции эндотелия [20]. В качестве

основных маркеров для идентификации эндотелиальных внеклеточных везикул могут использоваться CD31, CD105 и CD144, или CD62E и CD106 (васкулярная молекула клеточной адгезии 1, VCAM-1) в случае активации эндотелия [21]. Поскольку некоторые из маркеров, такие как CD31, также экспрессируются на других типах клеток (например, тромбоцитах и лейкоцитах), рекомендуется использование нескольких маркеров из данного списка.

Важным источником внеклеточных везикул являются иммунные клетки, в частности лейкоциты. Данный тип внеклеточных везикул является минорным в кровотоке здоровых доноров, однако при патологиях их количество может возрастать. Это делает данные внеклеточные везикулы перспективными для исследования в качестве возможного маркера различных заболеваний [22].

Помимо эндотелиальных клеток, тромбоцитов и лейкоцитов, эритроциты также могут быть источником внеклеточных везикул [23]. Эритроцитарные внеклеточные везикулы в больших количествах были обнаружены в эритроконcentратах при длительном хранении или использовании жестких методов обработки [24]. Считается, что данные внеклеточные везикулы ответственны как за положительные, так и за отрицательные эффекты, наблюдаемые после переливания крови [25].

Прокоагулянтные свойства внеклеточных везикул в первую очередь связывают с наличием на их мембране белка тканевого фактора (ТФ) [26] и/или отрицательно заряженных фосфолипидов, в частности ФС [27]. Присутствие этих прокоагулянтных молекул напрямую связано с источником и механизмом образования везикул.

ТФ является одним из цитокиновых рецепторов и экспрессируется большинством несосудистых и периваскулярных клеток. Он активирует свертывание после сосудистого повреждения [28]. Помимо своей непосредственной роли в свертывании, ТФ необходим для развития эмбриональных кровеносных сосудов, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток сосудистой стенки и регуляции воспаления [29, 30]. Считается, что в нормальных условиях клетки, контактирующие с кровью, не экспрессируют физиологически активный ТФ, поскольку даже его субпикомолярных концентраций достаточно для запуска свертывания [31]. Микровезикулы плазмы в норме также не несут на себе ТФ, однако присутствие внеклеточных везикул (в основном микровезикул), несущих на себе ТФ, подтверждено при различных патологических состояниях, связанных с тромботическими осложнениями, таких как сепсис, рак и сердечно-сосудистые заболевания [32].

Моноциты являются основным источником внеклеточных везикул, несущих на себе ТФ

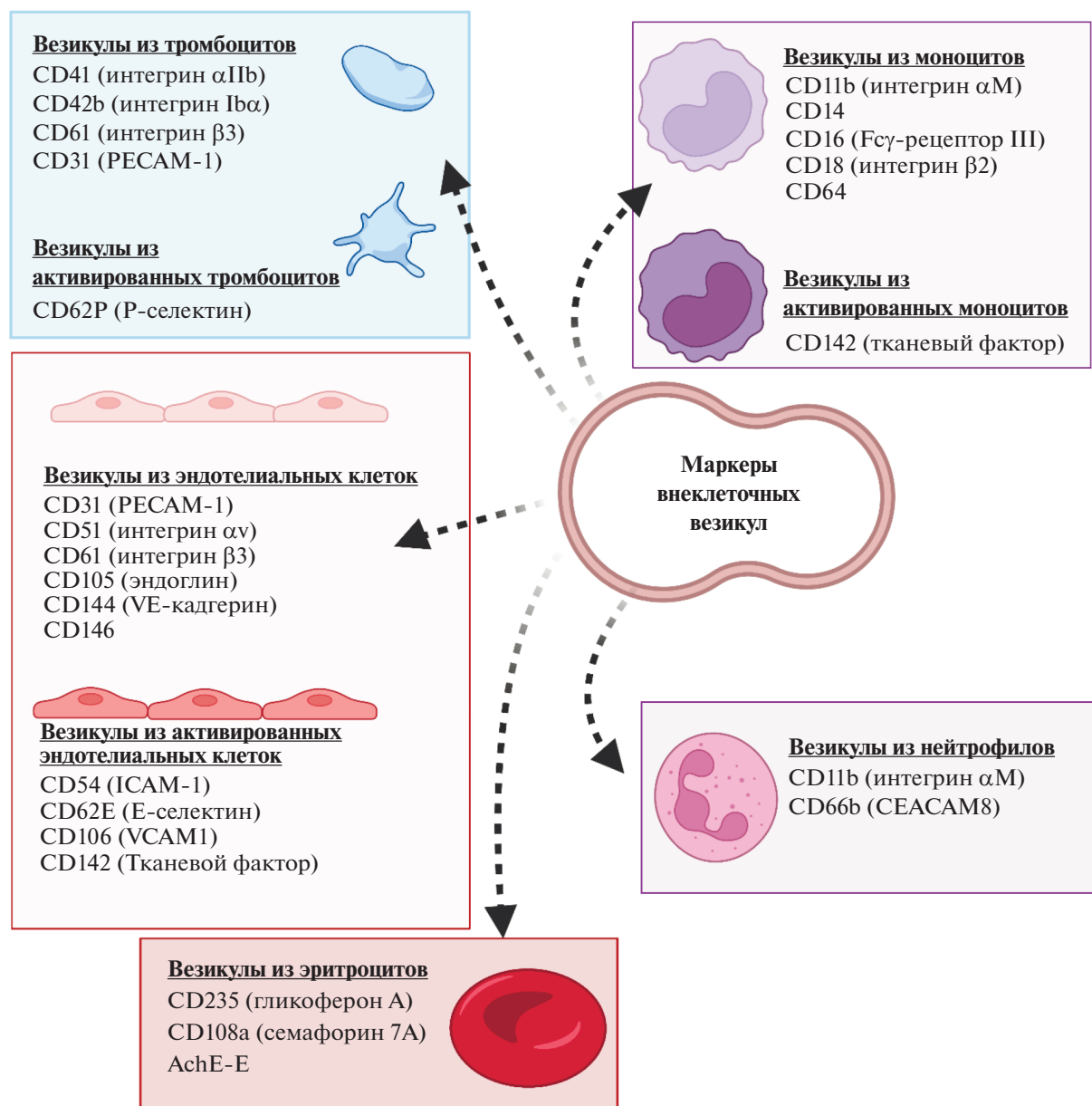


Рис. 1. Схематический рисунок, обобщающий наиболее распространенные маркеры, используемые для характеристики происхождения внеклеточных везикул, с акцентом на клетки, участвующие в свертывании крови.

[33, 34]. Внеклеточные везикулы тромбоцитарного происхождения не несут ТФ и не участвуют в запуске каскада свертывания по внешнему пути [18].

Вторым важным источником прокоагулянтной активности внеклеточных везикул является наличие ФС на внешнем слое мембраны, так как все основные реакции свертывания крови протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах [27]. Кроме того, ФС-положительные везикулы могут напрямую активировать свертывание крови через фактор свертывания XII и контактный путь [35].

Было показано, что при нормальной неосложненной беременности уже начиная с первого триместра наблюдается повышение количества циркулирующих в кровотоке матери внеклеточных везикул, в основном в исследованиях упоминаются микровезикулы размером до 1 мкм [36, 37]. При этом их количество увеличивается по мере развития беременности и достигает своего максимума в третьем триместре [38]. Наблюдается значительное увеличение концентраций микровезикул тромбоцитарного, лейкоцитарного, эндотелиального происхождения при нормальной беременности и при преэклампсии [38, 39]. Одна-

ко только данными тремя источниками невозможно объяснить высокие уровни ФС-положительных прокоагулянтных микровезикул в кровотоке беременных. Это указывает на возможную роль плацентарных внеклеточных везикул как источника прокоагулянтной поверхности [40, 41].

ВЕЗИКУЛЫ ПЛАЦЕНТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И ИХ ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА

В крови беременных женщин циркулирует большое количество везикул плацентарного происхождения. В плаценте человека присутствует три подтипа трофобластов: ворсинчатый цитотрофобласт, вневорсинчатый трофобласт (ВВТ) и синцитиотрофобласт (СТФ). STF представляет собой многоядерную одиночную клетку-симпласт [42], которая покрывает обращенную к матери часть плаценты. Он формируется на ранних стадиях развития эмбриона путем начального слияния моноклеарных цитотрофобластов, а затем обновляется на протяжении всей беременности за счет рекрутирования нижележащих клеток цитотрофобласта [43]. STF непосредственно контактирует с материнским кровотоком и, по сути, представляет собой границу между кровотоком матери и плода, обеспечивая транспорт питательных веществ и кислорода к развивающемуся эмбриону и вырабатывая гормоны, поддерживающие беременность [44]. STF также функционирует как защитный иммунологический барьер, поскольку никогда не экспрессирует молекулы человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), а это означает, что, несмотря на присутствие аллогенного плода, циркулирующие иммунные клетки не распознают STF как мишень [45]. Именно STF является источником микровезикул (200–1000 нм) и нановезикул (<200 нм). Кроме того, благодаря своей многоядерной природе STF также способен продуцировать третий тип везикул, уникальных для плаценты человека — макровезикулы [46, 47]. Макровезикулы содержат в себе в среднем 60 ядер и имеют размер от 20 до 500 мкм [47]. Макровезикулы плаценты перемещаются по крупным венам матери в легкие, где они сталкиваются с системой мелких капилляров и застревают из-за своего физического размера. В мелких сосудах периферии макровезикулы обнаруживаются крайне редко [48] в отличие от микро- и нановезикул.

Наличие активного TF на самом STF и его везикулах, на данный момент является спорным вопросом. Хотя неоднократно сообщалось, что TF присутствует на мембранах, полученных обработкой ультразвуком ворсин плаценты [49], клеточных линий хориокарциномы [50] и STF, дифференцированных *in vitro* из первичных трофобластов ворсинок [51], гистологические иссле-

дования показывают, что TF присутствует в высокой концентрации в децидуальной оболочке, но отсутствует в самих STF [52, 53]. Тем не менее, группа Teng и др. [54] сообщила о повышенных уровнях антигена TF в STF у женщин с преэклампсией. Активность TF STF была функционально оценена группой Gardiner и др. [55], которая показала, что добавление микровезикул, полученных из STF в плазму достоверно сдвигает свертывание в область гиперкоагуляции в тесте генерации тромбина у женщин с преэклампсией по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью, и данный сдвиг связан с повышенной экспрессией TF на мембранах микровезикул STF при преэклампсии. Принимая во внимание тот факт, что помимо качественной разницы в уровне экспрессии TF, существует еще и количественное превышение в 2–10 раз продукции микровезикул при преэклампсии [56–60] по сравнению со здоровой беременностью, можно предположить, что в совокупности это является одним из факторов тромботического риска. К сожалению, на данный момент трудно сказать, какую роль микровезикулы STF играют в гиперкоагуляции, характерной для нормально протекающей беременности.

Помимо непосредственной активации от TF, STF является потенциально прокоагулянтным за счет экстернализации ФС на поверхности материнской мембраны во время формирования многоядерного STF путем слияния клеток цитотрофобласта [61], поскольку экстернализация ФС необходима для формирования миотрубки [62]. Несмотря на эти наблюдения, в норме свертывания в области ворсин не происходит, поскольку трофобласты продуцируют антикоагулянтные белки тромбомодулин и аннексин V, причем тромбомодулин ассоциирован с микроворсинками STF [63], а аннексин V связывается с ФС. На данный момент не существует убедительных данных о том, что микровезикулы STF несут на себе ФС, однако их наличие является потенциально возможным в патологических условиях, например, при антифосфолипидном синдроме, поскольку синтез аннексина V при данной патологии сильно снижен [64]. Ингибитор активатора плазминогена (PAI-2), который является ингибитором фибринолиза, специфичным для беременности, был также обнаружен на микровезикулах STF [65].

Что касается опосредованного влияния микровезикул плацентарного происхождения на гемостаз матери, то здесь следует отдельно отметить влияние на функцию эндотелия. Нарушение функции эндотелия значительно увеличивает риск сосудистых осложнений во время беременности, особенно при преэклампсии [66]. Fms-подобная тирозинкиназа-1 (Flt-1), которая является антиангиогенным фактором, присутствует на по-

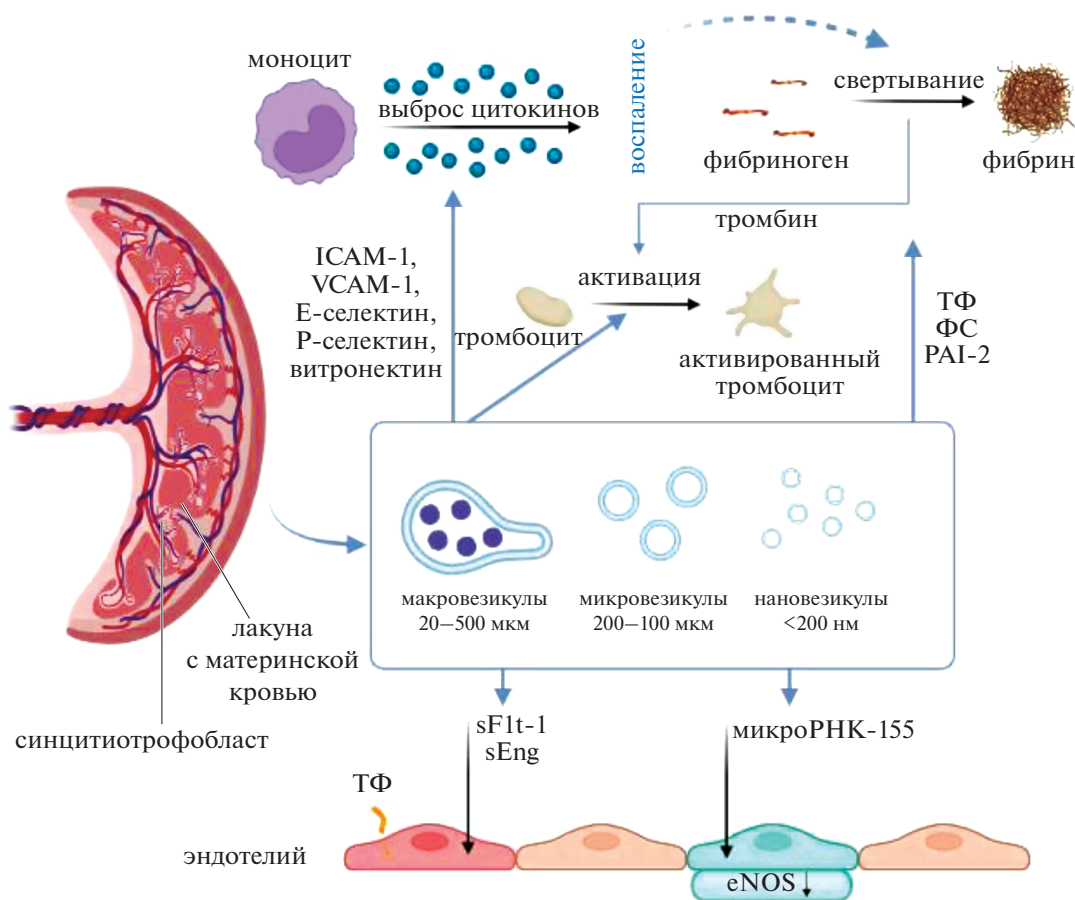


Рис. 2. Механизмы возникновения эндотелиальной дисфункции и гиперкоагуляции при беременности. Плацентарные везикулы синцитиотрофобласта несут на своей поверхности различные молекулы адгезии, потенциально увеличивая способность к взаимодействию с клетками-мишенями и их последующей активации (например, моноцитами и тромбоцитами). Кроме того, на своей поверхности везикулы несут ТФ, ФС и PAI-2, которые активируют, либо усиливают свертывание и снижают фибринолиз. Плацентарные везикулы напрямую взаимодействуют с эндотелиальными клетками, вызывая эндотелиальную дисфункцию, частично за счет переноса *fms*-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1) и эндоглина (sEng). Путем переноса своих микроРНК плацентарные везикулы влияют на уровни экспрессии eNOS (микроРНК-155). Сокращения: eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ICAM-1 – молекула межклеточной адгезии 1; ФС – фосфатидилсерин; PAI-2 – ингибитор активатора плазминогена-2; sFlt – растворимая *fms*-подобная тирозинкиназа-1; sEng – растворимый эндоглин; ТФ – тканевый фактор; VCAM-1 – васкулярная молекула клеточной адгезии 1.

верхности микровезикул СТФ и, как предполагается, участвует в повреждении эндотелия у пациенток с преэклампсией [67]. Содержание растворимого Flt-1 и растворимого эндоглина (sEng) были увеличены в микровезикулах, выделенных из плазмы пациентов с преэклампсией, по сравнению с нормальным контролем. Кроме того, Chang и др. показали, что микровезикулы обеспечивают эффективный перенос sFlt-1 и sEng в эндотелиальные клетки, что ослабляет пролиферацию, миграцию и образование микротрубочек в эндотелиальных клетках *in vitro* [68]. Экспрессия на микровезикулах СТФ молекул адгезии, таких как молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), VCAM-1, Е-селектин, Р-селектин и витронектин, может влиять на адгезию этих микровезикул к

различным клеткам-мишеням и способствовать их взаимодействию [13]. Исследования *in vitro* показали, что микроРНК-155 может переноситься из микровезикул СТФ в клетки эндотелия и может подавлять экспрессию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [69].

Помимо влияния на эндотелий, микровезикулы СТФ также *in vitro* вызывают агрегацию тромбоцитов и ускоряют скорость образования тромбов при исследовании в потоке [70], а также влияют на функцию моноцитов и макрофагов, вызывая продукцию провоспалительных цитокинов [71].

Схема воздействия везикул плацентарного происхождения на гемостаз представлена на рис. 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышение концентрации прокоагулянтных внеклеточных везикул при беременности, происходящих как из клеток крови, так и из плаценты, подтверждаются клиническими и экспериментальными исследованиями. Это может являться одним из компонентов физиологической гиперкоагуляции, возникающей при данном состоянии. Таким образом, повышение концентраций прокоагулянтных везикул может являться одним из факторов, обуславливающих повышенный риск тромбоза во время беременности, однако данный факт все еще не доказан напрямую. Для выявления роли внеклеточных везикул в тромбообразовании у беременных необходимо проведение проспективных исследований в данной группе.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Источники финансирования. Автор Е.М. Кольцова поддержана грантом Президента МК-432.2020.7 (соглашение № 075-15-2020-181), автор А.А. Мартыанов поддержан стипендией Президента СП-2675.2019.4, автор Н.А. Подоплелова поддержана грантом Президента МК-6271.2021.1.4 (соглашение № 075-15-2021-413).

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T., Archer F., Atkin-Smith G.K., Ayre D.C., Bach J.M., Bachurski D., Baharvand H., Balaj L., et al. 2018. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): A position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J. Extracell. vesicles*. **7** (1), 1535750. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
- Yáñez-Mó M., Siljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borràs F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., Colás E., Cordeiro-da Silva A., Fais S., Falcon-Perez J.M., Ghobrial I.M., et al. 2015. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J. Extracell. vesicles*. **4** (2015), 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
- Colombo M., Raposo G., Théry C. 2014. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **30**, 255–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
- Rojalin T., Phong B., Koster H.J., Carney R.P. 2019. Nanoplasmonic approaches for sensitive detection and molecular characterization of extracellular vesicles. *Front. Chem.* **7**, 279. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00279>
- Raposo G., Stoorvogel W. 2013. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J. Cell Biol.* **200** (4), 373–383. <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
- Bebelman M.P., Smit M.J., Pegtel D.M., Baglio S.R. 2018. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacol. Ther.* **188**, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.02.013>
- Cretoiu D., Xu J., Xiao J., Cretoiu S.M. 2016. Telocytes and their extracellular vesicles—evidence and hypotheses. *Int. J. Mol. Sci.* **17** (8), 1322. <https://doi.org/10.3390/ijms17081322>
- Wickman G., Julian L., Olson M.F. 2012. How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies. *Cell Death Differ.* **19** (5), 735–742. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.25>
- Tannetta D., Dragovic R., Alyahyaie Z., Southcombe J. 2014. Extracellular vesicles and reproduction—promotion of successful pregnancy. *Cell. Mol. Immunol.* **11** (6), 548–563. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.42>
- Burnett L.A., Nowak R.A. 2016. Exosomes mediate embryo and maternal interactions at implantation and during pregnancy. *Front. Biosci.* **8** (1), 79–96. <https://doi.org/10.2741/s448>
- Chiarello D.I., Salsoso R., Toledo F., Mate A., Vázquez C.M., Sobrevia L. 2018. Foetoplacental communication via extracellular vesicles in normal pregnancy and preeclampsia. *Mol. Aspects Med.* **60**, 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.12.002>
- Sheller-Miller S., Choi K., Choi C., Menon R. 2019. Cyclic-recombinase-reporter mouse model to determine exosome communication and function during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **221** (5), 502.e1–502.e12. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.06.010>
- Han C., Han L., Huang P., Chen Y., Wang Y., Xue F. 2019. Syncytiotrophoblast-derived extracellular vesicles in pathophysiology of preeclampsia. *Front. Physiol.* **10**, 1236. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01236>
- James-Allan L.B., Devaskar S.U. 2021. Extracellular vesicles and their role in gestational diabetes mellitus. *Placenta*. **113**, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.02.012>
- Menon R., Shahin H. 2021. Extracellular vesicles in spontaneous preterm birth. *Am. J. Reprod. Immunol.* **85**(2), 139–148. <https://doi.org/10.1111/aji.13353>
- Weiss R., Gröger M., Rauscher S., Fendl B., Eichhorn T., Fischer M.B., Spittler A., Weber V. 2018. Differential interaction of platelet-derived extracellular vesicles with leukocyte subsets in human whole blood. *Sci. Rep.* **8** (1), 6598. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25047-x>
- Arraud N., Linares R., Tan S., Gounou C., Pasquet J.M., Mornet S., Brisson A.R. 2014. Extracellular vesicles from blood plasma: Determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J. Thromb. Haemost.* **12** (5), 614–627. <https://doi.org/10.1111/jth.12554>

18. Koltsova E.M., Sorokina M.A., Pisaryuk A.S., Povalyayev N.M., Ignatova A.A., Polokhov D.M., Kotova E.O., Balatskiy A.V., Ataullakhanov F.I., Pantelev M.A., Kobalava Z.D., Balandina A.N. 2021. Hypercoagulation detected by routine and global laboratory hemostasis assays in patients with infective endocarditis. *PLoS One*. **16** (12), e0261429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261429>
19. Combes V., Simon A.C., Grau G.E., Arnoux D., Camoin L., Sabatier F., Mutin M., Sanmarco M., Sampol J., Dignat-George F. 1999. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. *J. Clin. Invest.* **104** (1), 93–102. <https://doi.org/10.1172/JCI4985>
20. Dickhout A., Koenen R.R. 2018. Extracellular vesicles as biomarkers in cardiovascular disease: Chances and risks. *Front. Cardiovasc. Med.* **5**, 113. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00113>
21. Dignat-George F., Boulanger C.M. 2011. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **31**(1), 27–33. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.218123>
22. Sedgwick A.E., D'Souza-Schorey C. 2018. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic*. **19** (5), 319–327. <https://doi.org/10.1111/tra.12558>
23. Thangaraju K., Neerukonda S.N., Katneni U., Buehler P.W. 2020. Extracellular vesicles from red blood cells and their evolving roles in health, coagulopathy and therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **22** (1), 153. <https://doi.org/10.3390/ijms22010153>
24. Gamonet C., Desmarests M., Mourey G., Biichle S., Aupet S., Laheurte C., François A., Resch E., Bigey F., Binda D., Bardiaux L., Naegelen C., Marpaux N., Delettre F.A., Saas P., Morel P., Tiberghien P., Lacroix J., Capellier G., Vidal C., Garnache-Ottou F. 2020. Processing methods and storage duration impact extracellular vesicle counts in red blood cell units. *Blood Adv.* **4** (21), 5527–5539. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001658>
25. Jy W., Ricci M., Shariatmadar S., Gomez-Marin O., Horstman L.H., Ahn Y.S. 2011. Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. *Transfusion*. **51** (4), 886–893. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03099.x>
26. Giesen P.L.A., Rauch U., Bohrmann B., Kling D., Roqué M., Fallon J.T., Badimon J.J., Himber J., Riederer M.A., Nemerson Y. 1999. Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **96** (5), 2311–2315. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.5.2311>
27. Reddy E.C., Rand M.L. 2020. Procoagulant phosphatidylserine-exposing platelets in vitro and in vivo. *Front Cardiovasc. Med.* **7** (15), 15. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00015>
28. Mackman N. 2009. The many faces of tissue factor. *J. Thromb. Haemost.* **7**, 136–139. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03368.x>
29. Ruf W., Dorfleutner A., Riewald M. 2003. Specificity of coagulation factor signaling. *J. Thromb. Haemost.* **1** (7), 1495–1503. <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.00300.x>
30. Monroe D.M., Key N.S. 2007. The tissue factor-factor VIIa complex: Procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J. Thromb. Haemost.* **5**(6), 1097–1105. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02435.x>
31. Butenas S., Orfeo T., Mann K.G. 2009. Tissue factor in coagulation: Which? Where? When? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **29** (12), 1989–1996. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.177402>
32. Mackman N., Tilley R.E., Key N.S. 2007. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **27** (8), 1687–1693. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.141911>
33. Andrews A.M., Rizzo V. 2016. Microparticle-induced activation of the vascular endothelium requires caveolin-1/caveolae. *PLoS One*. **11** (2), e0149272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149272>
34. Shustova O.N., Antonova O.A., Golubeva N.V., Khaspekova S.G., Yakushkin V.V., Aksuk S.A., Alchinova I.B., Karganov M.Y., Mazurov A.V. 2017. Differential procoagulant activity of microparticles derived from monocytes, granulocytes, platelets and endothelial cells: Impact of active tissue factor. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. **28** (5), 373–382. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000609>
35. Yang A., Chen F., He C., Zhou J., Lu Y., Dai J., Birge R.B., Wu Y. 2017. The procoagulant activity of apoptotic cells is mediated by interaction with factor XII. *Front. Immunol.* **8**, 1188. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01188>
36. Bretelle F., Sabatier F., Desprez D., Camoin L., Grunebaum L., Combes V., D'Ercole C., Dignat-George F. 2003. Circulating microparticles: A marker of procoagulant state in normal pregnancy and pregnancy complicated by preeclampsia or intrauterine growth restriction. *Thromb. Haemost.* **89** (3), 486–492. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1613378>
37. Alijotas-Reig J., Palacio-Garcia C., Farran-Codina I., Zarzoso C., Cabero-Roura L., Vilardell-Tarres M. 2011. Circulating cell-derived microparticles in women with pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.* **66** (3), 199–208. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00972.x>
38. Radu C.M., Campello E., Spiezia L., Dhima S., Visentin S., Gavasso S., Woodhams B., Cosmi E., Simioni P. 2015. Origin and levels of circulating microparticles in normal pregnancy: A longitudinal observation in healthy women. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **75** (6), 487–495. <https://doi.org/10.3109/00365513.2015.1052551>
39. Zhang Y., Zhao C., Wei Y., Yang S., Cui C., Yang J., Zhang J., Qiao R. 2018. Increased circulating microparticles in women with preeclampsia. *Int. J. Lab. Hematol.* **40** (3), 352–358. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12796>
40. Alijotas-Reig J., Palacio-Garcia C., Llurba E., Vilardell-Tarres M. 2013. Cell-derived microparticles and vascular pregnancy complications: A systematic and comprehensive review. *Fertil. Steril.* **99** (2), 441–449. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.10.009>
41. Aharon A., Brenner B. 2011. Microparticles and pregnancy complications. *Thromb. Res.* **127**, S67–S71. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(11\)70019-6](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(11)70019-6)

42. Burton G.J., Fowden A.L. 2015. The placenta: A multifaceted, transient organ. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **370** (1663), 20140066. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0066>
43. Huppertz B., Kadyrov M., Kingdom J.C.P. 2006. Apoptosis and its role in the trophoblast. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **195** (1), 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.07.039>
44. Haider S., Meinhardt G., Saleh L., Kunihs V., Gamperl M., Kaindl U., Ellinger A., Burkard T.R., Fiala C., Pollheimer J., Mendjan S., Latos P.A., Knöfler M. 2018. Self-renewing trophoblast organoids recapitulate the developmental program of the early human placenta. *Stem Cell Reports.* **11** (2), 537–551. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.07.004>
45. Moffett A., Loke C. 2006. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat. Rev. Immunol.* **6** (8), 584–594. <https://doi.org/10.1038/nri1897>
46. Askelund K.J., Chamley L.W. 2011. Trophoblast deportation part I: Review of the evidence demonstrating trophoblast shedding and deportation during human pregnancy. *Placenta.* **32** (10), 716–723. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.07.081>
47. Holland O., Kroneis T., El-Heliebi A., McDowell-Hook M., Stone P., Sedlmayr P., Chamley L. 2017. Detection of fetal sex, aneuploidy and a microdeletion from single placental syncytial nuclear aggregates. *Fetal Diagn. Ther.* **41** (1), 32–40. <https://doi.org/10.1159/000445112>
48. Johansen M., Redman C.W., Wilkins T., Sargent I.L. 1999. Trophoblast deportation in human pregnancy – its relevance for pre-eclampsia. *Placenta.* **20** (7), 531–539. <https://doi.org/10.1053/plac.1999.0422>
49. Reverdiau P., Jarousseau A.C., Thibault G., Khalfoun B., Watier H., Lebranchu Y., Bardos P., Gruel Y. 1995. Tissue factor activity of syncytiotrophoblast plasma membranes and tumoral trophoblast cells in culture. *Thromb. Haemost.* **73** (1), 49–54. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1653724>
50. Teng Y.C., Lin Q.De., Lin J.H., Ding C.W., Zuo Y. 2009. Coagulation and fibrinolysis related cytokine imbalance in preeclampsia: The role of placental trophoblasts. *J. Perinat. Med.* **37** (4), 343–348. <https://doi.org/10.1515/JPM.2009.060>
51. Aharon A., Brenner B., Katz T., Miyagi Y., Lanir N. 2004. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor levels in trophoblast cells: Implications for placental hemostasis. *Thromb. Haemost.* **92** (4), 776–786. <https://doi.org/10.1160/TH04-01-0033>
52. Lakasing L., Campa J.S., Poston R., Khamashta M.A., Poston L. 1999. Normal expression of tissue factor, thrombomodulin, and annexin V in placentas from women with antiphospholipid syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **181** (1), 180–189. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70457-6](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70457-6)
53. Faulk W.P., Labarrere C.A., Carson S.D. 1990. Tissue factor: Identification and characterization of cell types in human placentae. *Blood.* **76**(1), 86–96.
54. Teng Y., Jiang R., Lin Q., Ding C., Ye Z. 2010. The relationship between plasma and placental tissue factor, and tissue factor pathway inhibitors in severe pre-eclampsia patients. *Thromb. Res.* **126** (1), e41–e45. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2010.02.012>
55. Gardiner C., Tannetta D.S., Simms C.A., Harrison P., Redman C.W.G., Sargent I.L. 2011. Syncytiotrophoblast microvesicles released from pre-eclampsia placentae exhibit increased tissue factor activity. *PLoS One.* **6** (10), e26313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026313>
56. Ng E.K.O., Leung T.N., Tsui N.B.Y., Lau T.K., Panesar N.S., Chiu R.W.K., Lo Y.M.D. 2003. The concentration of circulating corticotropin-releasing hormone mRNA in maternal plasma is increased in preeclampsia. *Clin. Chem.* **49** (5), 727–731. <https://doi.org/10.1373/49.5.727>
57. Freeman D.J., Tham K., Brown E.A., Rumley A., Lowe G.D., Greer I.A. 2008. Fetal corticotrophin-releasing hormone mRNA, but not phosphatidylserine-exposing microparticles, in maternal plasma are associated with factor VII activity in pre-eclampsia. *J. Thromb. Haemost.* **6** (3), 421–427. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02882.x>
58. Goswami D., Tannetta D.S., Magee L.A., Fuchisawa A., Redman C.W.G., Sargent I.L., von Dadelszen P. 2006. Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset pre-eclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta.* **27** (1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.11.007>
59. Knight M., Redman C.W.G., Linton E.A., Sargent I.L. 1998. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **105** (6), 632–640. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1998.tb10178.x>
60. Lok C.A.R., Van Der Post J.A.M., Sargent I.L., Hau C.M., Sturk A., Boer K., Nieuwland R. 2008. Changes in microparticle numbers and cellular origin during pregnancy and preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy.* **27** (4), 344–360. <https://doi.org/10.1080/10641950801955733>
61. Huppertz B., Frank H.G., Kingdom J.C., Reister F., Kaufmann P. 1998. Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta. *Histochem. Cell Biol.* **110** (5), 495–508. <https://doi.org/10.1007/s004180050311>
62. Owens A.P. 3rd, Mackman N. 2012. Microparticles in hemostasis and thrombosis. **108** (10), 1284–1297. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.233056>
63. Fazel A., Vincenot A., Malassiné A., Soncin F., Gaussem P., Alsat E., Evain-Brion D. 1998. Increase in expression and activity of thrombomodulin in term human syncytiotrophoblast microvilli. *Placenta.* **19** (4), 261–268. [https://doi.org/10.1016/s0143-4004\(98\)90057-1](https://doi.org/10.1016/s0143-4004(98)90057-1)
64. Lanir N., Aharon A., Brenner B. 2003. Haemostatic mechanisms in human placenta. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **16** (2), 183–195. [https://doi.org/10.1016/s1521-6926\(02\)00098-1](https://doi.org/10.1016/s1521-6926(02)00098-1)
65. Štok U., Čučnik S., Sodin-Šemrl S., Žigon P. 2021. Extracellular vesicles and antiphospholipid syndrome: State-of-the-art and future challenges. *Int. J. Mol. Sci.* **22** (9), 4689. <https://doi.org/10.3390/ijms22094689>

66. Gouloupoulou S., Davidge S.T. 2015. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. *Trends Mol. Med.* **21** (2), 88–97.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.009>
67. Tannetta D.S., Dragovic R.A., Gardiner C., Redman C.W., Sargent I.L. 2013. Characterisation of syncytiotrophoblast vesicles in normal pregnancy and pre-eclampsia: Expression of Flt-1 and endoglin. *PLoS One.* **8** (2), e56754.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056754>
68. Lok C.A.R., Böing A.N., Sargent I.L., Sooranna S.R., van der Post J.A.M., Nieuwland R., Sturk A. 2008. Circulating platelet-derived and placenta-derived microparticles expose Flt-1 in preeclampsia. *Reprod. Sci.* **15** (10), 1002–1010.
<https://doi.org/10.1177/1933719108324133>
69. Cronqvist T., Tannetta D., Mörgelin M., Belting M., Sargent I., Familiar M., Hansson S.R. 2017. Syncytiotrophoblast derived extracellular vesicles transfer functional placental miRNAs to primary human endothelial cells. *Sci. Rep.* **7** (1), 4558.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-04468-0>
70. Tannetta D.S., Hunt K., Jones C.I., Davidson N., Coxon C.H., Ferguson D., Redman C.W., Gibbins J.M., Sargent I.L., Tucker K.L. 2015. Syncytiotrophoblast extracellular vesicles from pre-eclampsia placentas differentially affect platelet function. *PLoS One.* **10** (11), e0142538.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142538>
71. Tannetta D., Masliukaite I., Vatish M., Redman C., Sargent I. 2017. Update of syncytiotrophoblast derived extracellular vesicles in normal pregnancy and pre-eclampsia. *J. Reprod. Immunol.* **119**, 98–106.
<https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.08.008>

Procoagulant Properties of Extracellular Vesicles in Normal and Pathological Pregnancy

E. M. Koltsova^{1, 2, *}, A. A. Martyanov^{1, 2, 3}, N. A. Podoplelova^{1, 2}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Moscow, 117997 Russia

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 109029 Russia

³Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

*e-mail: ekaterina_koltsova@bk.ru

Extracellular vesicles are lipid bilayer membrane structures without nuclei that are released from various cells as a result of physiological and metabolic changes. They play an important role in intercellular communication through the transfer of a wide range of bioactive molecules, contributing to the regulation of various physiological and pathological processes. Extracellular vesicles may have procoagulant properties due to the presence of phosphatidylserine, which accelerates coagulation reactions, on the outer layer of the membrane, as well as the expression of tissue factor, which activates coagulation along the external pathway, on the surface of some vesicles. A large number of clinical and experimental studies have shown that in various pathologies and specific physiological conditions, including pregnancy, the concentration of extracellular vesicles significantly exceeds that in healthy volunteers, which could theoretically be a factor in the development of hypercoagulable states. This review focuses on describing the procoagulant properties of extracellular vesicles of various origins in normal and pathological pregnancy.

Keywords: hemostasis, vesicles, pregnancy, placenta, thrombin, hypercoagulation