

FIZIOLOGIA COAGULĂRII - DESPRE MODELUL CELULAR (I)

B. Țuțuianu

Clinica Anestezie Terapie Intensivă, Spitalul „Sf. Spiridon” Iași

PHYSIOLOGY OF BLOOD COAGULATION (Abstract): Until the XIXth century we knew very little about coagulation and haemostasis, most of our knowledge being based on observations. The discovery of thrombin, platelets, fibrinogen and calcium led to one of the most important theories (Paul Moravitz, 1890), which gave a scientific explanation of the haemostasis, describing the main steps of coagulation. Further on, the discovery of coagulation factors, of vitamin K, of heparin and of coagulation tests offered the ground for a new theory, namely the classical theory of the coagulation cascade (MacFarlane RG, 1964). At the end of the XXth century a new drug (Novoseven) proved to be efficient in obtaining haemostasis (not only in patients with hemophilia but also in other bleeding situations). This finding together with some unsolved questions (for example why patients with deficiency of FXII do not have a tendency to bleed,) drove to a new theory which emphasizes the role of specific cells in coagulation. According to this theory, there are two types of cells involved: the tissue factor bearing cells (extravascular) and platelets (intravascular). These cells need to make contact through a discontinuation of the vessel wall in order to initiate the coagulation process. The reactions take place in three phases: initiation, amplification and propagation. This is the cell-based theory of coagulation.

KEY WORDS: COAGULATION, COAGULATION CASCADE, CELL-BASED MODEL

Correspondență: Dr. Bogdan Țuțuianu, Clinica Anestezie Terapie Intensivă, Spitalul „Sf. Spiridon”, Bd. Independenței, nr. 1, 700111, Iași; e-mail: btutuianu@yahoo.com *

INTRODUCERE

Coagularea sângelui face parte dintr-un sistem complex de reacții hemostatice care cuprinde factori vasculari, celulari și plasmatici.

La mamifere, cinci proteaze (factorii coagulării VII, IX, X, protrombina și proteina C) acționează împreună cu alți cinci cofactori (factorul tisular, factorul V, VIII, trombomodulina și proteina S) pentru a controla generarea fibrinei în cadrul hemostazei fiziologice. Aceasta este compusă din patru domenii funcționale, interdependente: coagularea, anticoagularea, fibrinoliza și antifibrinoliza (Fig. 1). În momentul activării sistemului coagulării, în cadrul acestor patru domenii sunt inițiate o serie de procese: *domeniile coagulant și anticoagulant* sunt în competiție în ceea ce privește formarea cheagului, iar *domeniile fibrinolitice și antifibrinolitice* sunt în competiție în ceea ce privește îndepărtarea cheagului.

ISTORIC

În 1730 Jean-Louis Petit, chirurg, recunoaște că după amputația unui membru, un rol important în oprirea sângerării îl are coagularea [1]. În 1830 Andrew Buchanan, descoperă trombina, purificată apoi, de Alexander Schmidt [2].

În 1840 sunt descoperite plachetele, rolul lor în coagulare fiind afirmat de către Max Schultze [2]. Fibrinogenul a fost purificat în 1875 de Hammarsten [1]. Implicarea calciului în coagulare a fost identificată de Arthus, în 1890 [1].

Paul Morawitz, în 1904, a emis ipoteza că procesul coagulării se desfășoară în două etape: într-o primă fază protrombina este transformată în trombină prin intervenția trombokinazei (tromboplastinei) și în prezența calciului, în timp ce în a doua fază, trombina

* received date: 29.01.2007
accepted date: 12.03.2007

scindează fibrinogenul în fibrina (necesară formării cheagului), pentru această reacție nefiind necesară prezența calciului [3].

Ulterior Brinkhous et al [4] definește două tipuri de tromboplastine (denumire generică pentru substanțele care transformă protrombina în trombină): tromboplastina completă – care determină același timp de coagulare indiferent dacă plasma provine de la o persoană normală sau de la un hemofilic și tromboplastina incompletă (parțială) – care determină un timp de coagulare prelungit în plasma hemofilică.

Acest principiu influențează și astăzi practica medicală, tromboplastina completă fiind reprezentată de elementele care alcătuiesc testul timpului de protrombină (calea extrinsecă a coagulării). Tromboplastina incompletă este reprezentată de elementele care alcătuiesc testul timpului de tromboplastină parțială activată (calea intrinsecă a coagulării).

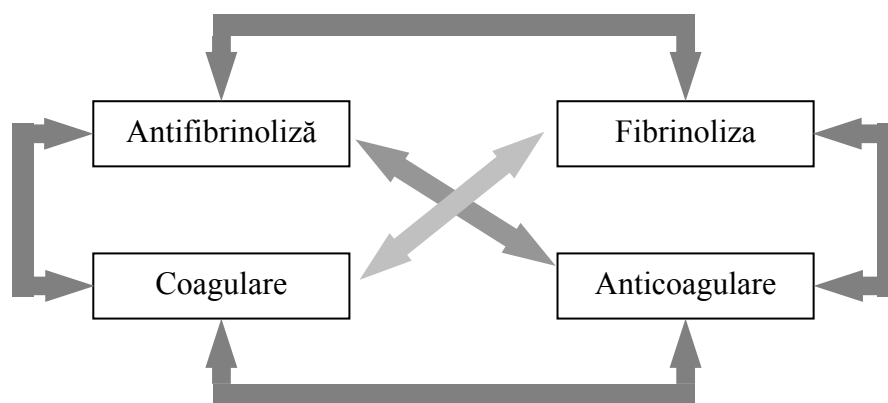


Fig. 1 Mecanismele hemostatice normale Taylor, 1999

În secolul XX, o serie de alte evenimente marchează cunoașterea proceselor implicate în coagulare: încep să fie puse la punct teste care explorează coagularea, este descoperită heparina (William Howell), este descoperită vitamina K (Henrik Dam), sunt identificați ceilalți factori ai coagulării, iar în 1958 factorii coagulării sunt denumiți folosind numere romane.

În 1964, MacFarlane RG introduce ipoteza clasică a coagulării – cascada enzimatică a coagulării, cu cele două căi (extrinsecă și respectiv, intrinsecă) [5].

Acesta a fost punctul culminant al unei perioade de mai bine de 100 de ani de studiu al factorilor și proceselor implicate în coagulare.

HEMOSTAZA FIZIOLOGICĂ

Hemostaza fiziologică se desfășoară în patru etape:

- *timpul parietal* (ansamblul fenomenelor prin care lumenul vasului lezat se micșorează, reducând sau chiar oprind momentan hemoragia [6]);
- *timpul trombocitar* (formarea trombusului alb trombocitar, ce închide mai ferm lumenul vascular deja contractat [6]);
- *timpul plasmatic* (ansamblul fenomenelor ce implică activarea unei succesiuni de reacții care au ca rezultat transformarea fibrinogenului solubil în fibrină insolubilă în ochiurile căreia se vor fixa elementele celulare, asigurându-se în acest fel închiderea de durată a vasului);
- *hemostaza definitivă* (în care fibroblaștii invadează trombusul și prin secreția de colagen determină închiderea definitivă a defectului vascular).

FACTORII IMPLICAȚI ÎN COAGULARE

A) Elementele celulare care intervin în coagulare

Plachetele sunt structuri subcelulare care provin din megacariocitele din măduva osoasă. Într-un mililitru de sânge se găsesc între 150000 și 300000 de plachete având o durată medie de viață de 7 zile. Acestea au, alături de monocite, un rol esențial în coagulare.

Plachetele intervin în hemostază la trei niveluri diferite:

În primul rând, ele aderă la colagenul endovascular și între ele și formează în acest fel o barieră care oprește pierderea de sânge.

În al doilea rând, facilitează formarea rețelei de fibrină la locul leziunii vasculare. Pentru a-și exercita activitatea procoagulantă, ele trebuie să fie activate. Pe măsură ce se realizează acest lucru, plachetele expun fosfatidilserină, fenomen necesar pentru declanșarea coagulării și modulată prin mecanisme de transport activ [7-9]. Fosfatidilserina are rolul de a lega factorul Xa, care va activa coagularea prin stimularea scindării protrombinei la trombină [10-11]. Expunerea fosfatidilserinei la suprafața plachetelor este suficientă pentru a conferi acestora un status procoagulant [7]. Totuși, există dovezi din ce în ce mai numeroase că locusurile specifice de legare de pe plachete modulează formarea complexelor coagulării [12-14]; în sprijinul acestei afirmații vin și studiile care au evidențiat diferența dintre activitatea complexelor IXa/VIIIa și Xa/Va la suprafața plachetelor provenind de la subiecți diferiți [15,16-24]. Există, deci, și alți factori, pe lângă fosfatidilserina, necesari pentru generarea trombocit-dependentă de trombină [25].

Unele din situsurile situate pe plachete care au o afinitate înaltă pentru factorii coagulării nu se încadrează în definiția clasică a receptorilor, fiind din această cauză numiți proteine de legare [25]. Plachetele neactivate par să conțină cel puțin trei proteine de legare a trombinei [26-27]. Legarea trombinei și a complexului FVIII/vWf de aceeași proteină duce, prin apropierea spațială a acestora, la activarea FVIII de către trombină [25,28,29]. Activarea FXI se realizează în același mod [25,30].

FVa se leagă strâns de lipide, aceasta fiind responsabilă de cea mai mare parte, dacă nu de toată activitatea procoagulantă a FVa pe plachete [31]. FVa acționează ca o proteină de legare a FXa pe plachete [32].

FIXa în absența FVIIIa se leagă de plachete cu o constanță de disociere de 200 de ori mai mare decât de lipide [33], reacția fiind amplificată de FVIIIa.

FVIIIa se leagă rapid de plachetele activate sau de microparticulele derivate din plachete [34,35]. Această legare pare să fie mediată de proteine [14] dar ar putea exista și un mecanism de legare a FVIIIa de către fosfatidilserină [36, 37].

Legarea fibrinogenului de plachete este, de asemeni, mediată de proteine și este mai importantă în cazul plachetelor activate decât în cazul celor neactivate [38]. Această proteină care leagă fibrinogenul la suprafața plachetelor este o integrină, receptorul glicoproteină IIb/IIIa [40]. Legarea fibrinogenului la acest receptor promovează agregarea plachetară [38,39,40].

În al treilea rând, anumiți constituenți ai granulelor plachetare au un efect vasoconstrictor care promovează în continuare hemostaza.

Celulele purtătoare de factor tisular. Factorul tisular (FT) este o glicoproteină membranară care joacă un rol central în declanșarea evenimentelor coagulării. În condiții normale, celulele care conțin factor tisular sunt separate fizic de elementele constitutive ale sângelui, dar „străjuiesc” sistemul circulator [41-43]. Celulele endoteliale integre nu exprimă, așadar, pe suprafața lor, factorul tisular, dar când acestea sunt stimulate de endotoxină, TNF, IL-1 își pot modifica fenotipul într-unul procoagulant. Concentrația factorului tisular crește

progresiv dinspre celulele musculare netede din medie către fibroblaștii din adventice [41-43]. Concentrațiile cele mai mari de factor tisular sunt întâlnite în celulele miocardice, fibroblaștii de la nivel pulmonar, astrocitele de la nivel cerebral și în placentă (adică locurile unde hemostaza este esențială).

Sistemul monocit-macrofag – monocitele circulante au capacitatea de a iniția și accelera cascada coagulării, fiind singura celulă circulantă capabilă de a genera o activitate procoagulantă semnificativă [44].

B) Factorii coagulării și alte substanțe implicate

- I – fibrinogen – formează cheagul de fibrină;
- II – protrombina – forma activă (IIa) activează I, V, VII, XIII, proteina C, plachetele
- Factorul tisular – cofactor al VIIa;
- Calciu – necesar legării factorilor de coagulare de fosfolipid;
- V – proaccelerina, factorul labil – cofactor pentru X, cu care formează protrombinaza;
- VI – forma activată a V;
- VII – proconvertina, factorul stabil – activează IX, X;
- VIII – factorul antihemofilic A – cofactor pentru IX, cu care formează tenaza;
- IX – factor Christmas, antihemofilic B – formează tenaza împreună cu VIII, activează X;
- X – factor Stuart-Prower – formează protrombinaza cu V, activează II;
- XI – antecedent al tromboplastinei plasmatică, antihemofilic C – activează XII, IX și prekalikreina;
- XII – factor Hageman – activează prekalikreina și fibrinoliza;
- XIII – factor stabilizator al fibrinei – formarea legăturilor între monomerii de fibrină;
- Factor von Willebrand – se leagă de VIII, mediază adeziunea plachetară;
- Prekallikreina – activează XII și Kininogenul cu greutate moleculară mare (HMWK);
- HMWK – activare reciprocă cu XII, XI și prekalikreina;
- Fibronectina – mediază adeziunea celulară;
- Antitrombina III – inhibă IIa, Xa și alte proteaze;
- Heparin cofactor II – inhibă IIa, cofactor pentru heparină și dermatan sulfat (antitrombina minoră);
- Proteina C – inactivează Va și VIIIa;
- Proteina S – cofactor pentru proteina C activată;
- Proteina Z – mediază adeziunea trombinei la fosfolipide și stimulează degradarea X de Protein Z-related protease inhibitor (ZPI);
- ZPI – degradează X (în prezența proteinei Z) și XI;
- Plasminogen – este convertit la plasmină, lizează fibrina și alte proteine;
- Alfa 2-antiplasmina – inhibă plasmina;
- Activatorul tisular al plasminogenului (tPA) – activează plasminogenul;
- Urokinaza – activează plasminogenul;
- Inhibitorul activatorului plasminogenului -1 (PAI1) – inactivează tPA și urokinaza (PAI endotelial);
- Inhibitorul activatorului plasminogenului -2 (PAI2) – inactivează tPA și urokinaza (PAI placentar);
- Factorul procoagulant din cancer – activator patologic al X, legat de statusul procoagulant din cancer

C) Cascada coagulării

Conform teoriei clasice, coagularea se desfășoară în cascadă. Procesele fiziologice pot parcurge fie *calea intrinsecă*, fie *calea extrinsecă*, ambele căi terminându-se cu activarea factorului X (Fig. 2).

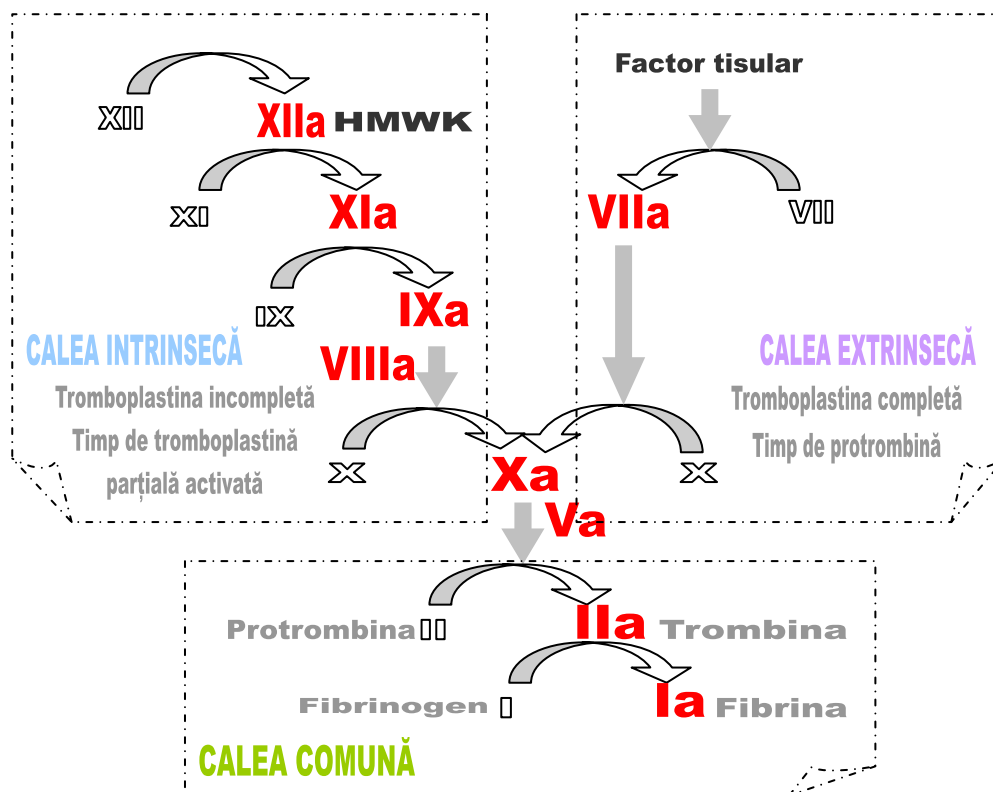


Fig. 2 Modelul clasic al coagulării (schemă)

Calea extrinsecă este inițiată de leziuni ale peretelui vascular și ale țesutului perivascular. În acest fel, plasma este expusă celulelor extravasculare (care conțin factor tisular). Factorul VII plasmatic se va lega de factorul tisular, activându-se la FVIIa. Acest complex, în prezența calciului și a fosfolipidelor, activează factorii IX și X la IXa și Xa [45,46]. Factorii IXa și Xa pot rămâne legați de celulele purtătoare de factor tisular sau pot difuza și se pot lega la suprafața trombocitelor, care au format deja trombusul alb, plachetar [47].

Factorul Xa și factorul Va formează un complex legat de fosfolipide numit protrombinază, care este intens activat pe suprafața plachetară și care, în prezența calciului, scindează protrombina (factorul II), la trombină (factor IIa). Trombina scindează fibrinogenul (factor I) la fibrină (factor Ia). Ulterior, factorul XIIIa determină formarea legăturilor covalente între filamentele de fibrină.

Factorul VIII determină creșterea importantă a vitezei de activare a factorului X. Factorul VIII circulează legat de factorul von Willebrand (vWF), care este o proteină cu rol important în adeziunea trombocitară și formarea trombusului inițial, plachetar [48]. După activare, factorul VIIIa disociază de factorul von Willebrand și formează un complex pe suprafața plachetară, complex care are și el un rol în activarea factorului X la Xa.

Generarea și feedback-ul trombinei au un rol important în tot acest mecanism descris mai sus. Există un paradox în această situație: activarea factorilor V și VIII necesită trombină, în timp ce conversia protrombinei la trombină necesită factor Va și factor VIIIa. Aceasta este expresia echilibrului fin și precis al hemostazei fiziologice, în care cantități infime de factori

activați circulă permanent în plasmă, activarea factorilor coagulării fiind mai degrabă un proces continuu decât un proces care se desfășoară în salturi, prin activări și inactivări succesive. Trombina, odată generată, este un puternic factor procoagulant. Ea catalizează în continuare activarea factorilor V și VIII printr-un mecanism de feedback pozitiv, ducând la conversia unei cantități mai mari de protrombină la trombină. În acest mod, trombina este capabilă să accelereze întreaga cascadă, rezultatul fiind generarea unor cantități mari de fibrină.

Calea intrinsecă. Rolul fiziologic și mecanismul precis al activării căii intrinseci sunt mai puțin bine elucidate. Probabil factorul inițiator al acestei cascade este expunerea sângelui la colagenul denudat din peretele vascular. Rezultatul este, pe de o parte, conversia factorului XII (factorul Hageman) în forma sa activă (factor XIIa) și, pe de alta parte, activarea plachetară. Factorul XIIa, printr-o reacție enzimatică, activează factorul XI la factor XIa, reacția necesitând prezența kininogenului cu greutate moleculară mare (HMWK) și prekalkreinei. Factorul XIa are rolul de a converti factorul IX la factor IXa, care, la rândul lui, activează factorul X la factor Xa. Odată generat factorul Xa, fenomenele urmează calea comună, la fel ca și în cazul căii extrinseci.

Mecanismele de modulare ale cascadei coagulării

Menținerea unei balanțe între coagulare și anticoagulare, între fibrinoliză și antifibrinoliză înseamnă, de fapt, activarea coagulării dar numai local, fără extinderea fenomenelor trombotice, și are ca rezultat formarea unui trombus care să oprească hemoragia, dar să nu producă ischemie tisulară. Factorii principali implicați în menținerea acestui echilibru includ *inhibitorul căii factorului tisular (TFPI), antitrombina III (ATIII), proteina C activată și proteina S, trombomodulina și sistemul fibrinolitic.*

Inhibitorul căii factorului tisular (TFPI)

După cum s-a menționat anterior, fenomenele coagulării sunt inițiate atunci când, prin intermediul unei leziuni vasculare și/sau tisulare, factorul circulant VIIa intră în contact cu factorul tisular. Complexul rezultat în urma acestei interacțiuni, TF-FVIIa, activează cantități mici de factori IX și X, acestea ducând ulterior la formarea unor cantități limitate de trombină. Inhibitorul căii factorului tisular (TFPI) este o proteină care mediază mecanismul de feedback negativ, prin care se inhibă complexul TF-FVIIa. Rezultatul acestei acțiuni este eliberarea unei cantități mai mici de factor IX și factor X activate. Astfel, cantități limitate de factor Xa realizează inhibiția propriei sinteze *via* TFPI [49].

CONCLUZII

Elaborarea cascadei coagulării a fost primul pas consistent prin care observațiile clinice privind hemostaza au dobândit și un suport științific. În același timp, folosirea cascadei coagulării pentru explicarea fenomenelor fiziologice și patologice legate de apariția cheagului a contribuit esențial la dezvoltarea unor soluții terapeutice care s-au dovedit în numeroase cazuri salvatoare de vieți omenești.

Pornind de la una din aceste opțiuni terapeutice (factorul VII activat recombinat), ca și de la formularea unor întrebări legate de diferența între coagularea *in vitro* și *in vivo*, la sfârșitul secolului trecut și începutul secolului XXI a fost elaborată o nouă teorie, care pune accentul pe rolul celulelor specifice în coagulare. Aceasta este teoria celulară a coagulării.

BIBLIOGRAFIE

1. Owen CA. Historical Accounts of Tests of Haemostasis. *Am J Clin Pathol.* 1990; 93(suppl 1): S3-S8.
2. Ratnoff OD. The Evolution of Knowledge about Hemostasis. In: Ratnoff OD, Forbes CD, editors. *Disorders of Hemostasis.* Third edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996.

3. Boulton F. A hundred years of cascading - started by Paul Morawitz (1879-1936), a pioneer of haemostasis and transfusion. *Transfus Med.* 2006; 16(1): 1-10.
4. Brinkhous KM. Plasma antihemophilic factor biological and clinical aspects. *Sang.* 1954; 25(7): 738-741.
5. MacFarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier. *Nature.* 1964; 202: 498-499.
6. Haulică I. *Hemostaza fiziologică.* București: Editura Medicală; 1989.
7. Heemskerk JWH, Bevers EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. *Thromb Haemost.* 2002; 88: 186-194.
8. Sune A, Bette-Bobillo P, Bienvenue A, Fellmann P, Devaux PF. Selective outside-inside translocation of aminophospholipids in human platelets. *Biochemistry.* 1987; 26(11): 2972-2978.
9. Bevers EM, Tilly RH, Senden JM, Comfurius P, Zwaal RF. Exposure of endogenous phosphatidylserine at the outer surface of stimulated platelets is reversed by restoration of aminophospholipid translocase activity. *Biochemistry.* 1989; 28(6): 2382-2387.
10. Srivastava A, Wang J, Majumder R, Rezaie AR, Stenflo J, Esmon CT, Lentz BR. Localization of phosphatidylserine binding sites to structural domains of factor Xa. *J Biol Chem.* 2002; 277(3): 1855-1863.
11. Banerjee M, Majumder R, Weinreb G, Wang J, Lentz BR. Role of procoagulant lipids in human prothrombin activation, 2: soluble phosphatidylserine upregulates and directs factor X(a) to appropriate peptide bonds in prothrombin. *Biochemistry.* 2002; 41(3): 950-957.
12. Walsh PN, Lipscomb MS. Comparison of the coagulant activities of platelets and phospholipids. *Br J Haematol.* 1976; 33(1): 9-18.
13. Miletich JP, Jackson CM, Majerus PW. Properties of the factor Xa binding site on human platelets. *J Biol Chem.* 1978; 253(19): 6908-6916.
14. Nesheim ME, Furmaniak-Kazmierczak E, Henin C, Cote G. On the existence of platelet receptors for factor V(a) and factor VIII(a). *Thromb Haemost.* 1993; 70(1): 80-86.
15. Bolton-Maggs PH. The management of factor XI deficiency. *Haemophilia.* 1998; 4(4): 683-688.
16. Sumner WT, Monroe DM, Hoffman M. Variability in platelet procoagulant activity in healthy volunteers. *Thromb Res.* 1996; 81(5): 533-543.
17. Bauchard BA, Catcher CS, Thrash BR, Adida C, Tracy PB. Effector cell protease receptor-1, a platelet activation-dependent membrane protein, regulates prothrombinase-catalyzed thrombin generation. *J Biol Chem.* 1997; 272: 9244-9251.
18. Kumar R, Beguin S, Hemker HC. The effect of fibrin clots and clot-bound thrombin on the development of platelet procoagulant activity. *Thromb Haemost.* 1995; 74(3): 962-968.
19. Brummel KE, Paradis SG, Branda RF, Mann KG. Oral anticoagulation thresholds. *Circulation.* 2001; 104(19): 2311-2317.
20. Lasne D, Krenn M, Pingault V, Arnaud E, Fiessinger JN, Aiach M, Rendu F. Interdonor variability of platelet response to thrombin receptor activation: influence of PIA2 polymorphism. *Br J Haematol.* 1997; 99(4): 819-823.
21. Andrew M, Schmidt B, Mitchell L, Paes B, Ofosu F. Thrombin generation in newborn plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin. *Thromb Haemost.* 1990; 63(1): 27-30.
22. Butenas S, van't Veer C, Mann KG. "Normal" thrombin generation. *Blood.* 1999; 94(7): 2169-2178.
23. Alberio L, Safa O, Clemetson KJ, Esmon CT, Dale GT. Surface expression and functional characterization of alpha-granule factor V in human platelets: effects of ionophore A23187, thrombin, collagen, and convulxin. *Blood.* 2000; 95: 1694-1702.
24. Bolton-Maggs PH. Factor XI deficiency and its management. *Haemophilia.* 2000; 6(suppl 1): 100-109.
25. Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22(9): 1381-1389.
26. De Cristofaro R, De Candia E, Landolfi R, Rutella S, Hall SW. Structural and functional mapping of the thrombin domain involved in the binding to the platelet glycoprotein Ib. *Biochemistry.* 2001; 40(44): 13268-13273.
27. Andersen H, Greenberg DL, Fujikawa K, Xu W, Chung DW, Davie EW. Protease-activated receptor-1 is the primary mediator of thrombin-stimulated platelet procoagulant activity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96(20): 11189-11193.
28. Suzuki H, Shima M, Kamisue S, Nakai H, Nogami K, Shibata M, Morichika S, Tonak I, Giddings JC, Yoshioka A. The role of platelet von Willebrand factor in the binding of factor VIII to activated platelets. *Thromb Res.* 1998; 90(5): 207-214.
29. Beguin S, Kumar R, Keularts I, Seligsohn U, Coller BS, Hemker HC. Fibrin-dependent platelet procoagulant activity requires GPIb receptors and von Willebrand factor. *Blood.* 1999; 93(2): 564-570.

30. Baglia FA, Badellino KO, Li CQ, Lopez JA, Walsh PN. Factor XI binding to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex promotes factor XI activation by thrombin. *J Biol Chem.* 2002; 277(3): 1662-1668.
31. Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, Weiss HJ, Shattil SJ. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane: studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem.* 1989; 264(29): 17049-17057.
32. Briede JJ, Heemskerk HW, van't Veer C, Hemker HC, Lindhout T. Contribution of platelet-derived factor Va to thrombin generation on immobilized collagen- and fibrinogen-adherent platelets. *Thromb Haemost.* 2001; 85: 509-513.
33. Hoffman M, Monroe DM, Roberts HR. Coagulation factor IXa binding to activated platelets and platelet-derived microparticles : a flow cytometric study. *Thromb Haemost.* 1992; 68(1): 74-78.
34. Monroe DM, Roberts HR, Hoffman M. Platelet procoagulant complex assembly in a tissue factor-initiated system. *Br J Haematol.* 1994; 88(2): 364-371.
35. Gilbert GE, Sims PJ, Wiedmer T, Furie B, Furie BC, Shattil SJ. Platelet-derived microparticles express high affinity receptors for factor VIII. *J Biol Chem.* 1991; 266(26): 17261-17268.
36. Gilbert GE, Drinkwater D, Barter S, Clouse SB. Specificity of phosphatidylserine-containing membrane binding sites for factor VIII: Studies with model membranes supported by glass microspheres (lipospheres). *J Biol Chem.* 1992; 267(22): 15861-15868.
37. Gilbert GE, Drinkwater D. Specific membrane binding of factor VIII is mediated by O-phospho-L-serine, a moiety of phosphatidylserine. *Biochemistry.* 1993; 32(37): 9577-9585.
38. Marguerie GA, Plow EF, Edgington TS. Human platelets possess an inducible and saturable receptor specific for fibrinogen. *J Biol Chem.* 1979; 254(12): 5357-5363.
39. Bennett JS, Vilaire G. Exposure of platelet fibrinogen receptors by ADP and epinephrine. *J Clin Invest.* 1979; 64(5):1393-1401.
40. Lefkovits J, Plow EF, Topol EJ. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptors in Cardiovascular Medicine. *N Engl J Med.* 1995; 1995; 332(23):1553-1559.
41. Drake TA, Morrissey JH, Edgington TS. Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis. *Am J Pathol.* 1989; 134(5):1087-1097.
42. Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM, Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989; 86(8): 2839-2843.
43. Flossel C, Luther T, Muller M, Albrecht S, Kasper M. Immunohistochemical detection of tissue factor (TF) on paraffin sections of routinely fixed human tissue. *Histochemistry.* 1994; 101(6): 449-453
44. Spillert CR, Lazaro EJ. Contribution of the monocyte to thrombotic potential. *Agents and Actions.* 1991; 34: 28-29.
45. Kirchhofer D, Nemerson Y. Initiation of blood coagulation: the tissue factor/factor VIIa complex. *Curr Opin Biotechnol.* 1996; 7(4): 386-391.
46. Mann KG, van't Veer C, Cawthern K, Butenas S. The role of the tissue factor pathway in initiation of coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998; 9(Suppl 1): S3-S7.
47. Hoffman M, Monroe DM, Roberts HR. Cellular interactions in hemostasis. *Haemostasis.* 1996; 26(Suppl 1): 12-16.
48. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem.* 1998; 78(1): 392-395.
49. Broze GJ Jr. Tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost.* 1995; 74(1): 90-93