DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 13.05.2022
Принята к печати 27.06.2022

Влияние эритроцитов на свертывание крови

И.А. Чабин[1, 2], Н.А. Подоплелова[1, 3], М.А. Пантелеев[1, 3]

[1]*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва*
[2]*ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва*
[3]*ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва*

Контактная информация:
Подоплелова Надежда Александровна, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного гемостаза и тромбоза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: podoplelovan@yandex.ru

Известно, что эритроциты могут оказывать прокоагулянтное действие на систему гемостаза. Этот эффект обычно объясняют либо общим повышением вязкости крови из-за увеличения гематокрита, либо влиянием эритроцитов на транспорт тромбоцитов к стенке сосуда и их дальнейшую адгезию. Однако исследования последних лет указывают на то, что роль эритроцитов в свертывании крови гораздо шире. В данном обзоре мы рассмотрим основные механизмы, известные на данный момент, посредством которых эритроциты могут влиять на процессы гемостаза и тромбоза в норме и патологии.

Ключевые слова: *эритроциты, свертывание крови, тромбоз*

Чабин И.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 136–141.
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 13.05.2022
Accepted 27.06.2022

Red blood cells contribution in blood coagulation

I.A. Chabin[1, 2], N.A. Podoplelova[1, 3], M.A. Panteleev[1, 3]

[1]*Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow*
[2]*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow*
[3]*Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow*

Correspondence:
Nadezhda A. Podoplelova, PhD, leading researcher of the Laboratory of Cell Hemostasis and Thrombosis, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: podoplelovan@yandex.ru

For a long time, red blood cells have been known to have a procoagulant effect on hemostatic system. This effect was usually ascribed to either general increase of blood viscosity due to increased hematocrit value, RBCs' transport-enhancing effect on platelets adhesion under flow conditions. It is known that red blood cells can have a procoagulant effect on the hemostasis system. This effect is usually explained either by a general increase in blood viscosity due to an increase in hematocrit, or by the effect of red blood cells on the transport of platelets to the vessel wall and their further adhesion. However, recent studies indicate that the role of red blood cells in blood coagulation is much wider. In this review, we will consider the main mechanisms currently known, through which red blood cells can influence the processes of hemostasis and thrombosis in normal and pathological conditions.

Key words: *red blood cells, blood coagulation, thrombosis*

Chabin I.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 136–141.
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

Долгое время эритроциты не рассматривали в качестве активных участников при тромбообразовании. Однако накопившиеся клинические данные уверенно указывают на связь количественных и качественных отклонений эритроцитов с тромбозами. Проведенные в последние годы клинические исследования среди факторов, увеличивающих риск как артериального, так и венозного тромбозов, называют повышенный гематокрит [1–4]. Кроме того, качественные дефекты эритроцитов, такие как измененные размер и форма клеток, а также нарушения деформируемости, ассоциированы с повышенным риском тромбоза [5–10]. Также одновременно с активным развитием трансфузиологии изучалось влияние на гемостаз переливания эритроцитарной массы, так как выяснилось, что тромботические осложнения после переливания напрямую связаны со сроками ее хранения [11]. Появились данные о значительной роли эритроцитов даже в случаях артериального тромбоза и в развитии других сердечно-сосудистых заболеваний, например атеросклероза [12]. Исследования последних 20 лет показывают, что эритроциты являются активными участниками процессов свертывания крови.

В данном обзоре мы рассмотрим основные механизмы, известные на данный момент, посредством которых эритроциты могут влиять на процессы гемостаза и тромбоза в норме и патологии.

Влияние эритроцитов на гемостаз, обусловленное реологическими эффектами

Наверное, самым известным фактом влияния эритроцитов на гемостаз является феномен их централизации в просвете сосуда. Он появляется за счет многих факторов, в числе которых пластичность формы эритроцитов и их способность к обратимой агрегации (в том числе через фибриноген и другие плазменные белки) [13, 14]. Таким образом, остальные клетки, в том числе тромбоциты, оказываются оттесненными на периферию, где их концентрация около стенки сосуда увеличивается в 3–8 раз [15], вследствие чего и начинается рост тромбов.

Другим известным фактом влияния эритроцитов на гемостаз является клиническое наблюдение связи

увеличенного времени кровотечения с низким гематокритом при нормальном числе тромбоцитов [16]. И наоборот, при повышенном числе эритроцитов и относительно нормальном количестве тромбоцитов (например, использование эритропоэтина как допинга) наблюдается склонность к тромботическим состояниям [17, 18]. Эпидемиологические исследования также показали, что более высокий гематокрит связан с тромбозом глубоких вен и сердечно-сосудистыми заболеваниями [19]. При патологических состояниях с повышенным гематокритом, таких как цианотический врожденный порок сердца и истинная полицитемия, повышается риск тромбообразования [20, 21]. Фактически одним из методов лечения истинной полицитемии является снижение гематокрита посредством флеботомии [21]. В дополнение к этим косвенным доказательствам вклада эритроцитов в тромбоз сообщалось, что переливание эритроцитов способствует образованию сгустка посредством активации тромбоцитов, особенно в условиях тромбоцитопении [22].

Эти эффекты связывают с изменением вязкости крови. Действительно, эритроциты считаются основным компонентом, определяющим этот параметр [19, 23, 24]. Зависимость вязкости крови от гематокрита экспоненциальная в крупных сосудах [25] и линейная в капиллярах [26]. Получается логичная закономерность: больше эритроцитов – выше вязкость крови, а повышенная вязкость крови напрямую связана с увеличенным риском тромбоза как компонент триады Вирхова, а также через изменения характера тока крови и повреждение эндотелия [27].

Все эти свойства эритроцитов определяются их объемом и формой. И если в норме пластичность эритроцитов объясняет различную вязкость крови при высоких (в артериях) и низких (в венах) скоростях сдвига, то значительно возрастает значимость этого факта при различных эритроцитопатиях, связанных с нарушением формы и/или пластичности клетки [28]. Поэтому некоторые исследователи рассматривают этот фактор как отдельный механизм влияния эритроцитов на гемостаз [29].

Влияние эритроцитов на плазменное звено свертывания

Все ключевые реакции свертывания крови максимально эффективно протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах, в первую очередь фосфатидилсерин-содержащих. В норме фосфатидилсерин находится на внутреннем слое мембраны, но при различных биохимических процессах может выходить на внешний слой. Одним из основных источников отрицательно заряженной мембраны являются тромбоциты, которые при своей активации могут терять ее асимметричность, выставляя фосфатидилсерин на внешний слой, где и происходят мембранозависимые реакции. Однако эритроциты, долгое время не считавшиеся участниками этого процесса, имеют аналогичный процент фосфатидилсерина в мембране по сравнению с мембраной тромбоцитов [30, 31]. Кроме того, установленным фактом является возможность эритроцитов выставлять фосфатидилсерин на внешний слой [32]. Они теряют асимметричность мембраны при повреждениях, которые могут возникать и в условиях физиологической нормы: высокие скорости сдвига, воспаление и оксидативный стресс [33]. Этот процесс является кальций-зависимым, он связан с эритроптозом – процессом, схожим с апоптозом, но протекающим у безъядерных эритроцитов [34]. Имея такие данные, логично предположить, что в крови может появляться некоторый процент эритроцитов, экспрессирующих фосфатидилсерин, которые могут поддерживать мембранозависимые реакции свертывания крови. Действительно, эти данные нашли подтверждение: было показано, что в крови здоровых людей циркулирует 0,4–0,5% таких эритроцитов. И даже такого небольшого числа хватает для обеспечения до 40% от общего потенциала генерации тромбина цельной кровью за счет большого общего количества эритроцитов [35].

Показано, что эритроциты имеют на своей мембране эластазоподобный фермент, способный самостоятельно расщеплять фактор IX, который входит в состав комплекса внутренней теназы, тем самым поддерживая активацию свертывания крови [36].

Другим важным звеном влияния на плазменное свертывание является факт связи наличия у эритроцитов антигенов A или B с более высокой плазменной концентрацией фактора свертывания крови VIII и фактора Виллебранда, чем у людей с I (0) группой крови. Точный механизм этого феномена неизвестен, но предполагается, что эти факторы могут претерпевать посттрансляционные изменения, которые замедляют их выведение из крови. А это, в свою очередь, может влиять на риск тромбоза/кровотечения у людей с определенными группами крови [37].

Основным антикоагулянтным механизмом влияния эритроцитов на гемостаз является то, что на мембране эритроцитарного происхождения тромбин синтезируется через промежуточный фермент – мейзотромбин [35]. В отличие от тромбина, который расщепляет фибриноген и может активировать тромбоциты через PAR1-рецептор с каталитическими константами на несколько порядков выше, чем для расщепления протеина C, мейзотромбин расщепляет все эти белки примерно с одинаковыми константами. Но при этом расщепление протеина C уско-

ряется в присутствии тромбомодулина, а еще более значительно в присутствии фосфолипидов, причем плато начинает достигаться лишь при приближении к концентрации фосфолипидов в 1 мМ [38]. Протеин С в свою очередь является естественным антикоагулянтом, который вместе со своим кофактором протеином S способен расщеплять факторы Va и VIIIa, тем самым разрушая комплексы внутренней теназы и протромбиназы и останавливая плазменное свертывание.

Эритроцитарные микровезикулы

Образование микровезикул – процесс, описанный для совершенно разных типов клеток, который зачастую является признаком старения клетки и сопровождает ее апоптоз [39]. Эритроциты не являются исключением, образование микровезикул зависит от времени их циркуляции в крови. Подавляющее большинство этих везикул содержат в своей внешней мембране фосфатидилсерин [40]. Поэтому такие везикулы являются мощным протромботическим фактором, так как могут запускать каскад плазменного свертывания посредством активации фактора Хагемана [41] и поддерживать мембранозависимые реакции свертывания крови. Влияние эритроцитарных везикул на свертывание крови в норме считается незначительным, но описано их огромное значение при различных эритроцитарных [42] и неэритроцитарных [43] патологиях.

Другой важной особенностью микровезикул является их возможность провоцировать системное воспаление. Для объяснения этого феномена было предложено несколько механизмов. Первый – это накопление микровезикулами свободного гема, а затем его транспорт в эндотелий, что вызывает его активацию. Второй – это тромбин-зависимая активация комплемента на поверхности этих везикул [44].

Кроме того, данный фактор активно изучается в связи с вопросами трансфузиологии. Эритроцитарная масса – один из самых потребляемых компонентов крови, а количество микровезикул – один из факторов, определяющих ее тромбогенное влияние, которое увеличивается со временем хранения [45].

Таким образом, микровезикулы, с одной стороны, могут рассматриваться в качестве одной из потенциальных мишеней антитромботической терапии [44], а, с другой стороны, их рутинный анализ в долгохранящейся эритроцитарной массе может позволить выявить то количество везикул, которое связано с возрастающим риском тромбоза, и очертить четкую границу качества эритроцитарной массы [45].

Взаимодействие с тромбоцитами

Хорошо изученным взаимодействием эритроцитов и тромбоцитов является описанный ранее реологический эффект оттеснения тромбоцитов к стенке крупных сосудов, описанный выше. Другим важным фактором является возможность их прямого взаимодействия. Так, показана возможность прямого взаимодействия для эритроцитов и тромбоцитов в условиях венозного тромбоза через гликопротеин VI-опосредованную адгезию. Более того, показано влияние тромбоцитов на эритроциты в условиях тромба, когда близкорасположенный тромбоцит, выставляя на своей поверхности Fas-лиганд, активирует Fas-рецептор эритроцита, что приводит к выставлению последним фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны и увеличивает количество прокоагулянтной поверхности [46]. Также тромбоциты могут увеличивать количество фосфатидилсерин-положительных эритроцитов, выделяя при активации метаболиты арахидоновой кислоты и тромбоксан А2 [47]. Они влияют на уровень цитозольного кальция в эритроцитах, что может запускать процесс эритроптоза. Интересно, что тромбоциты могут образовывать агрегаты с эритроцитами через взаимодействие тромбоцитарного интегрина $\alpha 2b\beta 3$ и эритроцитарной молекулы ICAM-4 [48].

Другой механизм взаимодействия известен достаточно давно – способность эритроцитов выделять аденозиндифосфат в условиях стресса, который активирует тромбоциты и вызывает их агрегацию [49]. Кроме того, эритроциты в условиях гемолиза могут терять гемоглобин, который как напрямую активирует [50], так и опосредованно влияет на тромбоциты. Свободный гемоглобин легко реагирует с NO, превращаясь в метгемоглобин и нитрат-анион, эта реакция необратимая и протекает крайне быстро [51]. Поэтому уровень NO в крови резко падает, что приводит к снижению его вазодилатирующего эффекта и ингибирующего действия на тромбоциты. Также из поврежденных эритроцитов выходит аргиназа, метаболизирующая L-аргинин, который используется в синтезе NO, до орнитина, тем самым снижается доступность субстрата [52, 53].

Взаимодействие эритроцитов с эндотелием

В норме прямое взаимодействие эритроцитов и эндотелия минимально, однако ситуация меняется при патологических состояниях, приводящих к повреждению эритроцитов и/или эндотелия. При разных заболеваниях эритроциты могут адгезировать к сосудистой стенке через различные рецепторы, такие как VCAM-1, ламинин $\alpha 5$, ICAM-1, CD36, CD31, PECAM-1 или рецептор для конечных продуктов гликозилирования (RAGE) через эритроцитарные молекулы базальной клеточной адгезии (BCAM), интегрина $\alpha 4\beta 1$ и гликозилированный сегмент 3, а также молекулы, связанные с заражением клетки малярийным плазмодием [54]. Такие взаимодей-

ствия могут приводить к тромбозу сосудов малого диаметра, так как связаны с повышением вязкости крови и замедлением скорости тока крови в сосуде. Показано, что повышение количества фосфатидилсерин-положительных эритроцитов также связано с увеличением адгезии таких клеток к стенке сосуда через эндотелиальные рецепторы к фосфатидилсерину. Такие взаимодействия крайне важны в патогенезе тромбоза центральной вены сетчатки [55].

Кроме клеток самого эндотелия эритроциты могут взаимодействовать и с субэндотелиальным матриксом через ламинин и тромбоспондин, которые связываются с сульфатированным гликолипидом эритроцитарной мембраны. Данное взаимодействие описано как для нормальных эритроцитов, так и для патологических (серповидноклеточная анемия), при которых оно выражено больше [56, 57], т. е. этот процесс может иметь место как в случае нормального гемостаза, так и в случае патологического тромбообразования.

Отдельно стоит упомянуть про активацию эндотелия в случае гипоксии. Анемия и, как следствие, нарушение транспорта кислорода эритроцитами может влиять через этот механизм на эндотелий и стимулировать его тромботическое действие [58].

Влияние на свойства тромба, его лизис и контракцию

Общеизвестно, что эритроциты являются одной из ключевых составляющих венозного тромба, однако их количество достаточно и в артериальных тромбах [59]. Интересно, что концентрация эритроцитов влияет на структуру фибрина в тромбе: при средних концентрациях плотность упаковки фибриновых волокон неоднородна, есть места с плотно расположенными нитями, а есть места, где они играют роль балок, проложенных между клетками. При высоких концентрациях волокна имеют больший диаметр и более однородны, но при этом они больше не окружают клетки, как паутина [60]. Эритроциты включаются и удерживаются в составе тромба через 2 независимых, но действующих вместе механизма: плотность фибриновой сети и сшивание α-регионов фибриногена фактором XIIIa [61]. Эритроциты увеличивают плотность сгустка и снижают его проницаемость. Напротив, при вымывании эритроцитов из тромба остаются поры, которые повышают его проницаемость.

Как ранее уже упоминалось, включение эритроцитов в состав тромба снижает его проницаемость, вероятно, это одна из причин более высокой стойкости тромбов к фибринолизу, в том числе терапевтическому. С другой стороны, показано, что эритроцитарные микровезикулы могут нести на своей поверхности плазминоген и обладают значительной фибринолитической активностью, которая падает со временем хранения эритроцитарной массы.

В последнее время появилось много новых данных о влиянии эритроцитов в составе тромба на его контракцию (ретракцию). Сначала было установлено, что в ходе этого процесса эритроциты меняют свою форму с нормального двояковогнутого диска на многогранную, это позволяет им образовывать более плотные контакты друг с другом и другими клетками в тромбе. Кроме того, они уплотняются в центре тромба, дополнительно снижая его проницаемость [62], что закономерно приводит к лучшей остановке кровотечений. Также при контракции уменьшается размер тромба, который в случае венозного тромбоза напрямую связан с количеством эритроцитов: меньший размер тромба нужен для восстановления просвета сосуда, при этом не теряется гемостатическая функция [61]. Но эритроциты являются крайне жесткими клетками и этим могут увеличивать время контракции тромба [63], требуя больше времени и развиваемой тромбоцитами силы на свое сжатие. При эритроцитарных изменениях, сопровождающихся появлением избыточно жестких клеток (серповидноклеточная анемия), зафиксировано нарушение контракции тромба [64], которая напрямую связана с риском тромбоэмболических событий [65].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре рассмотрены различные механизмы влияния эритроцитов на свертывание крови, однако просуммировать все эти эффекты на данный момент представляется затруднительным, так как, с одной стороны, они зачастую направлены на разные звенья этого сложного процесса, а, с другой стороны, иногда они имеют разнонаправленное действие. Кроме того, крайне интересным представляется изучение изменения этих механизмов в случае различных патологий. Хочется отметить, что все представленные данные больше не позволяют считать эритроциты неважными или пассивными участниками гемостаза. Напротив, в этой области нас могут ждать новые интересные открытия, возможно, новые предикторы тромбообразования и перспективные мишени для лекарственной терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект №20-74-00133

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

ORCID

Chabin I.A. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0625-1743
Podoplelova N.A. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8013-1112
Panteleev M.A. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8128-7757

Литература

1. Toss F., Nordström A., Nordström P. Association between hematocrit in late adolescence and subsequent myocardial infarction in Swedish men. Int J Cardiol 2013; 168: 3588–93.
2. Sabatine M.S., Morrow D.A., Giugliano R.P., Burton P.B.J., Murphy S.A., McCabe C.H., et al. Association of hemoglobin levels with clinical outcomes in acute coronary syndromes. Circulation 2005; 111: 2042–9.
3. Gagnon D.R., Zhang T.J., Brand F.N., Kannel W.B. Hematocrit and the risk of cardiovascular disease – the Framingham study: a 34-year follow-up. Am Heart J 1994; 127: 674–82.
4. Danesh J., Collins R., Peto R., Lowe G.D.O. Haematocrit, viscosity, erythrocyte sedimentation rate: meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. Eur Heart J 2000; 21: 515–20.
5. Verduzco L.A., Nathan D.G. Sickle cell disease and stroke. Blood 2009; 114: 5117–25.
6. Stein P.D., Beemath A., Meyers F.A., Skaf E., Olson R.E. Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism in Hospitalized Patients with Sickle Cell Disease. Am J Med 2006; 119: 897.e7–e11.
7. Novelli E.M., Huynh C., Gladwin M.T., Moore C.G., Ragni M.V. Pulmonary embolism in sickle cell disease: a case–control study. J Thromb Haemost 2012; 10: 760–6.
8. Folsom A.R., Tang W., Roetker N.S., Kshirsagar A.V., Derebail V.K., Lutsey P.L., et al. Prospective study of sickle cell trait and venous thromboembolism incidence. J Thromb Haemost 2015; 13: 2–9.
9. Schilling R.F., Gangnon R.E., Traver M.I. Delayed adverse vascular events after splenectomy in hereditary spherocytosis. J Thromb Haemost 2008; 6: 1289–95.
10. Hill A., Kelly R.J., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2013; 121: 4985–96.
11. Wannez A., Devalet B., Chatelain B., Chatelain C., Dogné J.M., Mullier F. Extracellular Vesicles in Red Blood Cell Concentrates: An Overview. Transfus Med Rev 2019; 33: 125–30.
12. Turpin C., Catan A., Meilhac O., Bourdon E., Canonne-Hergaux F., Rondeau P. Erythrocytes: Central Actors in Multiple Scenes of Atherosclerosis. Int J Mol Sci 2021; 22 (11): 5843. DOI: 10.3390/ijms22115843
13. Dintenfass L. Inversion of the Fahraeus-Lindqvist phenomenon in blood flow through capillaries of diminishing radius. Nature 1967; 215: 1099–100.
14. Baskurt O.K., Yalcin O., Ozdem S., Armstrong J.K., Meiselman H.J. Modulation of endothelial nitric oxide synthase expression by red blood cell aggregation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 286 (1): H222–9. DOI: 10.1152/ajpheart.00532.2003
15. Flamm M.H., Diamond S.L. Multiscale systems biology and physics of thrombosis under flow. Ann Biomed Eng 2012; 40: 2355–64.
16. Duke W.W. The Relation of Blood Platelets to Hemorrhagic Disease: Description of a Method for Determining the Bleeding Time and Coagulation Time and Report of Three Cases of Hemorrhagic Disease Relieved by Transfusion. JAMA 1983; 250: 1201–9.
17. Clyne N., Berglund B., Egberg N. Treatment with recombinant human erythropoietin induces a moderate rise in hematocrit and thrombin antithrombin in healthy subjects. Thromb Res 1995; 79: 125–9.
18. Tokish J.M., Kocher M.S., Hawkins R.J. Ergogenic aids: a review of basic science, performance, side effects, and status in sports. Am J Sports Med 2004; 32: 1543–53.
19. Byrnes J.R., Wolberg A.S. Red blood cells in thrombosis. Blood 2017; 130: 1795–9.
20. Jensen A.S., Idorn L., Thomsen C., Von Der Recke P., Mortensen J., Sørensen K.E., et al. Prevalence of cerebral and pulmonary thrombosis in patients with cyanotic congenital heart disease. Heart 2015; 101: 1540–6.
21. De Stefano V., Za T., Rossi E., Vannucchi A.M., Ruggeri M., Elli E., et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. Haematologica 2008; 93: 372–80.
22. Leone G., Sica S., Chiusolo P., Teofili L., De Stefano V. Blood cells diseases and thrombosis. Haematologica 2001; 86: 1236–44.
23. Lowe G.D.O., Lee A.J., Rumley A., Price J.F., Fowkes F.G.R. Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. Br J Haematol 1997; 96: 168–73.
24. Rampling M.W. The binding of fibrinogen and fibrinogen degradation products to the erythrocyte membrane and its relationship to haemorheology. Acta Biol Med Ger 1981; 40: 373–8.
25. Pries A.R., Neuhaus D., Gaehtgens P. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. Am J Physiol 1992; 263 (6 Pt 2): H1770–8. DOI: 10.1152/ajpheart.1992.263.6.H1770
26. Lanotte L., Mauer J., Mendez S., Fedosov D.A., Fromental J.M., Claveria V., et al. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions. Proc Natl Acad Sci U S A 2016; 113: 13289–94.
27. Weisel J.W., Litvinov R.I. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. J Thromb Haemost 2019; 17: 271–82.
28. Piety N.Z., Reinhart W.H., Pourreau P.H., Abidi R., Shevkoplyas S.S. Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network. Transfusion 2016; 56: 844–51.
29. Alamin A.A. The Role of Red Blood Cells in Hemostasis. Semin Thromb Hemost 2021; 47: 26–31.
30. Owen J.S., Bruckdorfer K.R., Day R.C., McIntyre N. Decreased erythrocyte membrane fluidity and altered lipid composition in human liver disease. J Lipid Res 1982; 23: 124–32.
31. Crawford N. Structural and Molecular Properties of Platelet Membrane Systems. Platelet Membr Glycoproteins 1985: 13–49.
32. Whelihan M.F., Mann K.G. The role of the red cell membrane in thrombin generation. Thromb Res 2013; 131: 377–82.
33. Shi J., Shi Y., Waehrens L.N., Rasmussen J.T., Heegaard C.W., Gilbert G.E. Lactadherin detects early phosphatidylserine exposure on immortalized leukemia cells undergoing programmed cell death. Cytometry A 2006; 69: 1193–201. DOI: 10.1002/cyto.a.20345
34. Freikman I., Fibach E. Distribution and shedding of the membrane phosphatidylserine during maturation and aging of erythroid cells. Biochim Biophys Acta 2011; 1808: 2773–80.
35. Whelihan M.F., Zachary V., Orfeo T., Mann K.G. Prothrombin activation in blood coagulation: the erythrocyte

contribution to thrombin generation. Blood 2012; 120: 3837–45.
36. Iwata H., Kaibara M., Dohmae N., Takio K., Himeno R., Kawakami S. Purification, identification, and characterization of elastase on erythrocyte membrane as factor IX-activating enzyme. Biochem Biophys Res Commun 2004; 316: 65–70.
37. Ward S.E., O'Sullivan J.M., O'Donnell J.S. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis. Blood 2020; 136: 2864.
38. Stojanovski B.M., Pelc L.A., Zuo X., Pozzi N., Di Cera E. Enhancing the anticoagulant profile of meizothrombin. Biomol Concepts 2018; 9: 169–75.
39. Morel O., Jesel L., Freyssinet J.-M., Toti F. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011; 31: 15–26.
40. Leal J.K.F., Adjobo-Hermans M.J.W., Bosman G.J.C.G.M. Red blood cell homeostasis: Mechanisms and effects of microvesicle generation in health and disease. Front Physiol 2018; 9: 703. DOI: 10.3389/fphys.2018.00703
41. Van der Meijden P.E.J, van Schilfgaarde M., van Oerle R., Renné T., ten Cate H., Spronk H.M.H. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. J Thromb Haemost 2012; 10: 1355–62. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04758.x
42. Allan D., Limbrick A.R., Thomas P., Westerman M.P. Release of spectrin-free spicules on reoxygenation of sickled erythrocytes. Nature 1982; 295: 612–3.
43. Forest A., Pautas E., Ray P., Bonnet D., Verny M., Amabile N., et al. Circulating microparticles and procoagulant activity in elderly patients. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2010; 65: 414–20. DOI: 10.1093/gerona/glp187
44. Zecher D., Cumpelik A., Schifferli J.A. Erythrocyte-derived microvesicles amplify systemic inflammation by thrombin-dependent activation of complement. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2014; 34: 313–20.
45. Kim Y., Goodman M.D., Jung A.D., Abplanalp W.A., Schuster R.M., Caldwell C.C., et al. Microparticles from aged packed red blood cell units stimulate pulmonary microthrombus formation via P-selectin. Thromb Res 2020; 185: 160–6.
46. Klatt C., Krüger I., Zey S., Krott K.J., Spelleken M., Gowert N.S., et al. Platelet-RBC interaction mediated by FasL/FasR induces procoagulant activity important for thrombosis. J Clin Invest 2018; 128: 3906–25.
47. Vallés J., Teresa Santos M., Aznar J., Martínez M., Moscardó A., Piñón M., et al. Platelet-erythrocyte interactions enhance αIIbβ3 integrin receptor activation and P-selectin expression during platelet recruitment: Down-regulation by aspirin *ex vivo*. Blood 2002; 99: 3978–84.
48. Hermand P., Gane P., Huet M., Jallu V., Kaplan C., Sonneborn H.H., et al. Red cell ICAM-4 is a novel ligand for platelet-activated αIIbβ3 integrin. J Biol Chem 2003; 278: 4892–8.
49. Reimers R., Sutera S., Joist J. Potentiation by Red Blood Cells of Shear-Induced Platelet Aggregation: Relative Importance of Chemical and Physical Mechanisms. Blood 1984; 64: 1200–6.
50. Villagra J., Shiva S., Hunter L.A., Machado R.F., Gladwin M.T., Kato G.J. Platelet activation in patients with sickle disease, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and nitric oxide scavenging by cell-free hemoglobin. Blood 2007; 110: 2166–72.
51. Nakai K., Ohta T., Sakuma I., Akama K., Kobayashi Y., Tokuyama S., et al. Inhibition of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin in rabbit aortic strips: comparison between acellular hemoglobin derivatives and cellular hemoglobins. J Cardiovasc Pharmacol 1996; 28: 115–23.
52. Schnog J.J.B., Jager E.H., van der Dijs F.P.L., Duits A.J., Moshage H., Muskiet F.D., et al. Evidence for a metabolic shift of arginine metabolism in sickle cell disease. Ann Hematol 2004; 83: 371–5.
53. Rother R.P., Bell L., Hillmen P., Gladwin M.T. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. JAMA 2005; 293: 1653–62.
54. Wautier J.L., Wautier M.P. Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. Clin Hemorheol Microcirc 2013; 53: 11–21.
55. Wautier M.P., Héron E., Picot J., Colin Y., Hermine O., Wautier J.L. Red blood cell phosphatidylserine exposure is responsible for increased erythrocyte adhesion to endothelium in central retinal vein occlusion. J Thromb Haemost 2011; 9: 1049–55.
56. Watkins N.A., Du L.M., Scott J.P., Ouwehand W.H., Hillery C.A. Single-chain antibody fragments derived from a human synthetic phage-display library bind thrombospondin and inhibit sickle cell adhesion. Blood 2003; 102: 718–24.
57. Hillery C.A., Du M.C., Montgomery R.R., Scott J.P. Increased adhesion of erythrocytes to components of the extracellular matrix: Isolation and characterization of a red blood cell lipid that binds thrombospondin and laminin. Blood 1996; 87: 4879–86.
58. Sergueeva A., Miasnikova G., Shah B.N., Song J., Lisina E., Okhotin D.J., et al. Prospective study of thrombosis and thrombospondin-1 expression in Chuvash polycythemia. Haematologica 2017; 102: e166–9.
59. Silvain J., Collet J.P., Nagaswami C., Beygui F., Edmondson K.E., Bellemain-Appaix A., et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2011; 57: 1359–67.
60. Gersh K.C., Nagaswami C., Weisel J.W. Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes. Thromb Haemost 2009; 102: 1169–75.
61. Kattula S., Byrnes J.R., Martin S.M., Holle L.A., Cooley B.C., Flick M.J., et al. Factor XIII in plasma, but not in platelets, mediates red blood cell retention in clots and venous thrombus size in mice. Blood Adv 2018; 2: 25–35.
62. Cines D.B., Lebedeva T., Nagaswami C., Hayes V., Massefski W., Litvinov R.I., et al. Clot contraction: compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. Blood 2014; 123: 1596–603.
63. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P., Peshkova A.D., Lebedeva T., Ataullakhanov F.I., et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. Blood 2016; 127: 149–59.
64. Tutwiler V., Litvinov R.I., Protopopova A., Nagaswami C., Villa C., Woods E., et al. Pathologically stiff erythrocytes impede contraction of blood clots. J Thromb Haemost 2021; 19: 1990–2001.
65. Peshkova A., Malyasyov D., Bredikhin R., Le Minh G., Andrianova I., Tutwiler V., et al. Reduced Contraction of Blood Clots in Venous Thromboembolism Is a Potential Thrombogenic and Embologenic Mechanism. TH Open 2018; 2 (1): e104–15. DOI: 10.1055/s-0038-1635572