

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 15.12.2023
Принята к печати 22.10.2024



EDN: VEYINC

Контактная информация:

Блескин Дмитрий Алексеевич, младший научный сотрудник лаборатории биореологии и биомеханики Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН
Адрес: 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30
E-mail: dmitrybleskin@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

Клинические проявления нарушения функций тромбомодулина

Д.А. Блескин^{1, 2}, Е.М. Кольцова^{1, 3}, Д.Ю. Нечипуренко^{1, 3, 4}¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва²ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

Тромбомодулин (ТМ) обладает многообразием функций: участвует в регуляции гемостатического ответа, играет роль в разнообразных воспалительных реакциях, а также в пролиферации клеток и ангиогенезе. Изучение клинических проявлений нарушений в работе ТМ помогает лучше понять его роль в различных физиологических процессах и предложить новые терапевтические подходы, связанные с его использованием. В данном обзоре мы постарались подойти к этой проблеме со стороны генетических нарушений: здесь представлено описание некоторых патологических мутаций в гене *TM*, а также их клинические проявления. В обзоре также рассмотрен опыт применения ТМ в диагностике и терапии, обсуждаются перспективы его использования для коррекции различных жизнеугрожающих состояний.

Ключевые слова: тромбомодулин, путь протеина C, тромбин, система гемостаза, генетические заболевания, диагностика, терапия

Блескин Д.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 168–73. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

Clinical manifestations of thrombomodulin dysfunction

D.A. Bleskin^{1, 2}, E.M. Koltsova^{1, 3}, D.Yu. Nechipurenko^{1, 3, 4}¹Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow²The N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow³The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow⁴M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Thrombomodulin (TM) performs a wide variety of functions: it is involved in the regulation of hemostatic answer, inflammation, cell proliferation and angiogenesis. Studying clinical manifestations of thrombomodulin dysfunction helps to better understand its role in various physiological processes and develop new treatment strategies involving the use of thrombomodulin. Here, we focused on genetic causes of this problem, describing some pathological mutations in the TM gene as well as their clinical manifestations. We also reported on TM use in disease diagnosis and treatment and discussed the prospects for its application in the management of various life-threatening conditions.

Key words: thrombomodulin, protein C pathway, thrombin, hemostatic system, genetic disorders, diagnosis, therapy

Bleskin D.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 168–73.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 15.12.2023

Accepted 22.10.2024

Correspondence:

Dmitry A. Bleskin, a junior researcher at the Laboratory of Biorheology and Biomechanics at the Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences
Address: 30 Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow 109029, Russia
E-mail: dmitrybleskin@gmail.com

Тромбомодулин (ТМ) является важным эндотелиальным компонентом системы гемостаза и выполняет ряд дополнительных функций в организме человека. Традиционно данный трансмембранный белок рассматривается как важнейший регулятор гемостатического ответа, позволяющий переключать активность тромбина с прокоагулянтной, необходимой на ранних этапах гемостаза, на антикоагулянтную, что играет важную регуляторную роль в остановке наработки тромбина для предотвращения избыточной активации свертывания крови за счет системы протеина C [1, 2] и иммунного ответа. На сегодняшний день известно, что ТМ также является важным регулятором воспалительных реакций [3], и нарушения в его работе могут приводить не только к дисбалансу в системе гемостаза, но и к проблемам, связанным с дисфункцией иммунного ответа.

Данный обзор посвящен анализу современных данных о клинических проявлениях нарушений в работе ТМ, а также имеющейся в литературе информации о способах его применения для диагностики и терапии различных заболеваний.

Особенности структуры и функций тромбомодулина

ТМ кодируется безинтронным геном *THBD* и состоит из 5 структурных регионов [4]. Начиная с N-конца, расположен первый регион, состоящий из лектин-подобного лиганд-связывающего домена с короткой перемычкой. Далее следует регион, состоящий из 6 tandemных гомологичных эпидермальному фактору роста (EGF) доменов. Третий структурный регион – спейсер, богатый серином, треонином и пролином, имеющий высокую степень гликозилирования, отделяющий область с tandemными повто-

рами от трансмембранного и цитоплазматического доменов.

Лектин-подобный домен обуславливает роль ТМ в регуляции воспалительных реакций: он связывает различные провоспалительные агенты, тем самым локально снижая их уровень, например NET [5, 6], HMBG1 [7], LeY [8], а также некоторые факторы из системы комплемента – С3а [9], С3б [10]. Также ТМ осуществляет воздействие непосредственно на клетки, участвующие в воспалении: лектин-подобный домен ТМ на поверхности эндотелия снижает количество экспрессируемых молекул адгезии VCAM и ICAM [11], что, в свою очередь, уменьшает способность лейкоцитов задерживаться в местах неповрежденного эндотелия. С другой стороны, при наличии области повреждения эндотелия клетки иммунитета (в первую очередь нейтрофилы и моноциты), начиная активно взаимодействовать с эндотелием, в конечном итоге инициируют воспалительный ответ.

EGF и O-гликозилированные домены ТМ задействованы в регуляции реакций системы гемостаза. Центральной протеазой системы свертывания крови является тромбин, который превращает растворимый фибриноген в нерастворимый фибрин, вследствие чего в месте повреждения сосуда образуется фибриновая сеть, которая стабилизирует гемостатическую пробку. Также тромбин является сильным активатором клеточного звена гемостаза: взаимодействуя с PAR-рецепторами на поверхности тромбоцитов, тромбин запускает их всевозможные функциональные ответы. В связи с этим основными механизмами остановки реакций плазменного свертывания являются ингибирование выработки тромбина или непосредственно прямое ингибирование самого тромбина. Одной из основных систем, регулирующих остановку свертывания, является система протеина С [1], которая отвечает за деактивацию факторов свертывания Va и VIIIa, в свою очередь, отвечающих за сборку комплексов протромбиназы и внутренней теназы соответственно [12, 13]. ТМ осуществляет основную регуляторную роль в работе системы протеина С. Сначала 4-5-6-EGF-подобные домены ТМ связываются с тромбином, образуя комплекс, после чего тромбин меняет субстратную специфичность с фибриногена на протеин С, и скорость активации протеина С в таком комплексе увеличивается на 3 порядка [14]. Кроме того, такой комплекс обладает возможностью активации тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза [15], участвующего в стабилизации фибринового тромба и предотвращении его лизиса.

В дополнение к этому ТМ участвует в процессах ангиогенеза: было показано, что при процессе реканализации сосуда необходим ТМ на поверхности

подосом эндотелиальных клеток для их инвазии через базальную мембрану [16, 17].

Клинические проявления мутаций в гене *THBD*

Как уже было отмечено, ТМ кодируется безинтронным геном *THBD*, располагающимся в локусе 20p11.21. Патологические мутации и генетические сбои при экспрессии гена *TM* приводят к различным нарушениям в работе системы гемостаза и не только (рисунки).

Одним из хорошо описанных клинических проявлений нарушений в гене *TM* является тромбомодулин-ассоциированная коагулопатия: повышенные уровни растворимого ТМ в плазме приводят к ослаблению выработки тромбина и ингибируют фибринолиз, что приводит к кровотечениям [18, 19].

Мутации с.1611C>A (p.Cys537Stop) [18–21] и с.1487delC, (p.Pro496Argfs*10) [22, 23] приводят к отсутствию или нарушению якорной части белка, что вызывает увеличение шединга ТМ с поверхности эндотелия. В тестах *in vitro* этот эффект приводил к снижению параметров теста генерации тромбина и усилению фибринолиза [20–22].

Мутация с.793T>A (p.Cys265Ser) соответствует замене аминокислоты в домене 1EGF, где Cys265 служит для образования дисульфидной связи. Такой ТМ плохо экспрессируется на поверхности клеток и деградирует внутри клетки. Эта мутация была обнаружена у одного пациента, и в его анамнезе были отмечены спонтанные кровоизлияния и ДВС с характерным повышением уровня Д-димера и других продуктов деградации фибрина, а также низкими показателями фибриногена в крови [24].

К нарушениям в системе свертывания также приводят мутации с.659T>G (p.Leu220*Stop) и с.636C>A (p.Ser212*Stop), которые ассоциированы с глубоким тромбозом вен, легочным эмболизмом и артериальным тромбозом [25], однако молекулярный механизм такой ассоциации в настоящее время не описан.

Помимо нарушений в системе гемостаза, некоторые мутации гена *THBD* также приводят к атипичному ГУС, который характеризуется гемолитической анемией, тромбоцитопенией и острой почечной недостаточностью. По большей части типичный синдром проявляется из-за Shiga-подобного токсина *E. coli* [26, 27]. Атипичный синдром, в свою очередь, встречается гораздо реже и является следствием генетических нарушений, так как имеет семейный или спорадический характер. Его связывают с нарушениями в работе компонентов системы комплемента. Как уже было описано выше, ТМ также играет свою роль в ингибировании компонентов комплемента напрямую и опосредованно через тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза, который активируется

комплексом ТМ и тромбина и участвует в ингибировании компонентов комплемента. Было показано, что мутации ТМ с.241G>A (Val81Ile), с.158A>G (Asp53Gly), которые располагаются в лейцин-подобном домене, в экспериментах на клетках показывали значительно меньшую ингибирующую активность в отношении C3b, что, по всей видимости, влияет на развитие синдрома [10]. Мутацию с.127G>A (Ala43Thr) помимо ассоциации с атипичным ГУС также связывают с развитием атеросклероза, инфаркта миокарда [28], а также венозного тромбоза. При генетическом профилировании пациентов с ГУС были обнаружены мутации с.707C>G (Ala236Gly) [29, 30], когда замена происходит в цепи, связывающей лейцин- и EGF-подобные домены, и с.102C>A (Asp34Glu) [29], соответствующая замене в лейцин-подобном домене. Мутация с.1208G>A (Arg403Lys) также описана как предрасполагающая к ГУС [31] и была обнаружена у пациента с мембранопротрофиеративным гломеруло-нефритом, вызванным иммунокомплексами [32].

Было также обнаружено, что инсерция inst1689 у пациента, в клинической картине которого был инфаркт миокарда, привела к нарушениям в

экспрессии ТМ на поверхности моноцитов и уменьшению количества растворимого ТМ в крови [33].

Так как существенный вклад в процесс активации протеина С вносит эндотелиальный рецептор протеина С, который способствует ускорению этого процесса комплексом тромбина с ТМ, в последнее время нарушения его работы также относят к функциональным сбоям в системе протеина С. На сегодняшний день описаны мутации в гене *PROCR*, кодирующем эндотелиальный рецептор протеина С: так, например, известно, что с.337C>T (Arg113Cys) ассоциирована с венозным тромбозом [34].

Использование тромбомодулина в качестве инструмента для диагностики и оценки состояния пациентов

ТМ выполняет различные функции в организме человека и животных и поэтому изменение его активности может влиять на большое количество процессов. С точки зрения диагностики измерить функциональную активность мембранного белка на поверхности эндотелиальных клеток крайне сложно, поэтому определяют активность растворимого ТМ,

Рисунок

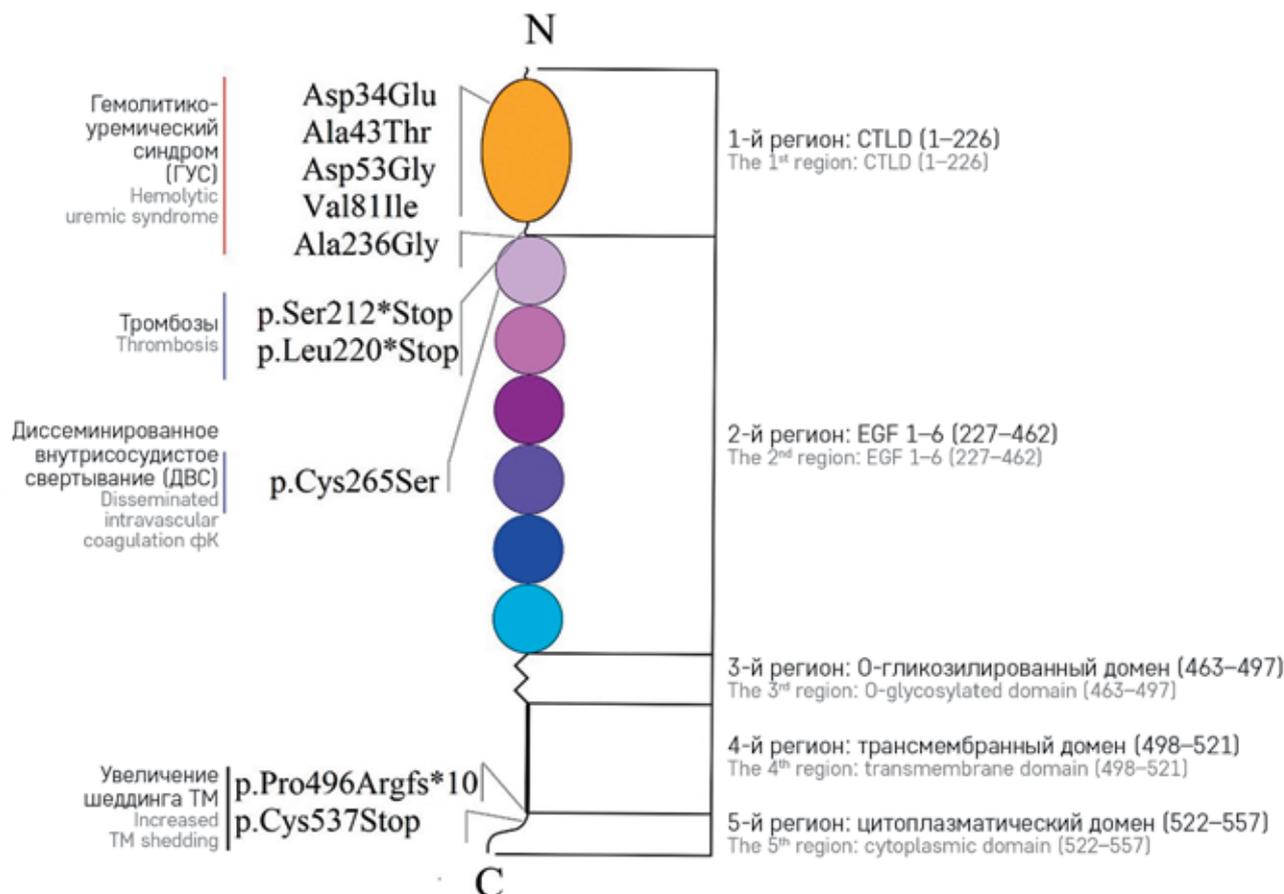
Схема структуры ТМ

ТМ состоит из 5 структурных регионов, отмеченных справа. Слева показаны ключевые мутации и соответствующие клинические проявления

Figure

A schematic representation of thrombomodulin (TM) structure

TM consists of five structural domains indicated on the right. On the left, key mutations and their respective clinical manifestations are shown



образующегося вследствие шеддинга. Шеддинг ТМ происходит под влиянием протеаз, образующихся в результате воспалительных процессов, протекающих на или вблизи эндотелия сосуда. Вследствие этих процессов эндотелий повреждается и уже не может в полной мере выполнять свои протекторные свойства: считается, что ТМ на поверхности здорового эндотелия в первую очередь отвечает за тромборезистентность сосуда. Таким образом, высокий уровень растворимого ТМ является одним из маркеров дисфункции эндотелия [35, 36], так как его повышение связывают с шеддингом, а значит, потерей нормального уровня тромборезистентности. Также уровень растворимого ТМ используют для выявления и определения тяжести таких заболеваний, как атеросклероз [37, 38], ДВС [39, 40], ГУС [41, 42], хроническая венозная недостаточность [43], сепсис [44, 45], абдоминальная аневризма аорты [46, 47], острый респираторный синдром [48], коронарная болезнь сердца [49] и диабет [50].

Самым часто применяемым способом измерения растворимого ТМ на данный момент является иммуноферментный анализ (ELISA) в связи с доступностью и относительно высокой скоростью исполнения таких тестов. Чувствительность определения ТМ в этом случае определяется десятками пг/мл, и из-за специфичности антител анализироваться могут такие сложные биологические жидкости, как плазма, сыворотка, моча и др. Однако ни в каких коммерческих системах не указывается, с каким участком ТМ связываются применяемые антитела. Учитывая, что растворимый ТМ в результате шеддинга может протеолитически расщепляться в разных местах, в исследуемых биологических жидкостях могут присутствовать и части ТМ, которые не могут связаться с антителами, что потенциально увеличивает истинную концентрацию растворимого ТМ. Таким образом, на сегодняшний день достаточно сложно однозначным образом интерпретировать результаты проведенного теста в клинике.

Другим методом анализа содержания ТМ является вестерн-блот, который основан на электрофорезе белков. Данным методом можно выделить все фракции растворенного ТМ по молекулярной массе. Однако этот метод не может дать надежную оценку концентрации растворимого ТМ, что также затрудняет его клиническое использование.

Применение тромбомодулина в клинических исследованиях

Сегодня помимо диагностики ТМ применяют в терапевтической клинической практике как антикоагулянт. В клинике используется рекомбинантный ТМ (рТМ), имеющий только 1–3-й регионы, исключая трансмембранный и цитоплазматический домены.

Как терапевтическое средство рТМ выгодно отличается от других антикоагулянтов – гепарина или рекомбинантного активированного протеина С тем, что работает локально в месте, где есть тромбин [51], и подавляет спонтанное тромбообразование. При этом он не влияет на время свертывания, снижая высоту пика тромбина [52], и, как следствие, не вызывает кровотечений.

Потенциально рТМ является хорошим антикоагулянтом. Однако исследования и метаанализ данных по пациентам, проходящим лечение рТМ при ДВС-синдроме, вызванном сепсисом, не дает однозначных результатов. Выживаемость может увеличиваться при использовании рТМ, однако данный эффект не обладает достаточной статистической достоверностью [53]. Испытание рТМ SCARLET (Sepsis Coagulopathy Asahi Recombinant LE Thrombomodulin), которое проводилось в 27 странах, также не выявило достоверно отличающихся различий в выживаемости пациентов на 28-й день [54], однако существуют некоторые замечания к проводимым исследованиям, и, возможно, такого рода испытания продолжатся [55]. Интересно отметить, что Японское сообщество тромбоза и гемостаза рекомендовало использование рТМ для терапии ДВС [56] еще в 2014 г., однако в международных руководствах по лечению сепсиса и септического шока его не рекомендуют к использованию [54].

Существует еще ряд патологий, при которых рТМ может быть использован в качестве терапевтического агента. В соответствующих исследованиях он выступает и как антикоагулянт, и как противовоспалительный агент для терапии [5, 53], однако большинство таких исследований проведено на *in vivo* моделях мышей или крыс: артрит [57], острый респираторный дистресс-синдром [58], атеросклероз [59, 60]. Отдельного упоминания заслуживает работа ученых из Японии, в которой описано применение рТМ для терапии 3 детей с ГУС на протяжении 7 дней. В результате такого лечения тромбоцитопения, гемолиз и почечная недостаточность были снижены у всех 3 пациентов, а также наблюдалось снижение активности системы комплемента у 1 ребенка [61]. Также на животных моделях было продемонстрировано, что введение рТМ мышам с ГУС увеличивает их выживаемость [62], а также выполняет протекторную роль у мышинных моделей с пиелонефритом [63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ТМ обладает множеством функций, связанных с регуляцией как гемостатического ответа, так и реакций воспаления, и на сегодняшний день представляется достаточно перспективным диагности-

ческим маркером и возможным терапевтическим агентом. Однако в настоящее время продолжается активный поиск конкретных направлений его клинического использования как для диагностики, так и в качестве потенциального метода коррекции соответствующих нарушений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №23-44-00082.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Koltsova E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0167-6726>

Литература / References

- Amiral J., Seghatchian J. Revisiting the activated protein C-protein S-thrombomodulin ternary pathway: Impact of new understanding on its laboratory investigation. *Transfus Apher Sci* 2019; 58 (4): 538–44.
- Marar T.T., Matzko C.N., Wu J., Esmon C.T., Sinno T., Brass L.F., et al. Thrombin spatial distribution determines protein C activation during hemostasis and thrombosis. *Blood* 2022; 139 (12): 1892–902.
- Conway E.M. Thrombomodulin and its role in inflammation. *Semin Immunopathol* 2012; 34 (1): 107–25.
- Suzuki K. Gene structure of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Nihon Ketsueki Gakkai Zasshi* 1988; 51 (8): 1655–64.
- Watanabe-Kusunoki K., Nakazawa D., Ishizu A., Atsumi T. Thrombomodulin as a Physiological Modulator of Intravascular Injury. *Front Immunol* 2020; 11: 1–12.
- Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: Tangled up in NETs. *Blood* 2014; 123 (18): 2768–76.
- Abeyama K., Stern D.M., Ito Y., Kawahara K.I., Yoshimoto Y., Tanaka M., et al. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel anti-inflammatory mechanism. *J Clin Invest* 2005; 115 (5): 1267–74.
- Shi C.S., Shi G.Y., Hsiao S.M., Kao Y.C., Kuo K.L., Chih-Yuan M., et al. Lectin-like domain of thrombomodulin binds to its specific ligand Lewis y antigen and neutralizes lipopolysaccharide-induced inflammatory response. *Blood* 2008; 112 (9): 3661–70.
- Wang H., Vinnikov I., Shahzad K., Bock F., Ranjan S., Wolter J., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin ameliorates diabetic glomerulopathy via complement inhibition. *Thromb Haemost* 2012; 108(6): 1141–53.
- Delvaeye M., Noris M., De Vriese A., Esmon C.T., Esmon N.L., Ferrell G., et al. Thrombomodulin Mutations in Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome. *N Engl J Med* 2009; 361 (4): 345–57.
- Geudens N., Van De Wouwer M., Vanaudenaerde B.M., Vos R., Van De Wouwer C., Verleden G.M., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin protects against ischaemia-reperfusion lung injury. *Eur Respir J* 2008; 32 (4): 862–70.
- Hemker H.C., Kessels H. Feedback mechanisms in coagulation. *Pathophysiol. Haemost Thromb* 1991; 21(4): 189–96.
- Пантелеев М.А., Котова Я.Н., Токарев А.А., Атауллаханов Ф.И. Механизмы регуляции свертывания крови. *Терапевтический архив* 2008; 80 (7): 88–91. [Panteleev M.A., Kotova I.N., Tokarev A.A., Ataulakhov F.I. Blood coagulation: mechanisms of regulation. *Therapeutic Archive* 2008; 80 (7): 88–91. (In Russ.)].
- Pozzi N., Barranco-Medina S., Chen Z., Di Cera E. Exposure of R169 controls protein C activation and autoactivation. *Blood* 2012; 120 (3): 664–70.
- Kokame K., Zheng X., Sadler J.E. Activation of thrombin-activable fibrinolysis inhibitor requires epidermal growth factor-like domain 3 of thrombomodulin and is inhibited competitively by protein C. *J Biol Chem* 1998; 273 (20): 12135–9.
- Kuo C.H., Huang Y.H., Chen P.K., Lee G.H., Tang M.J., Conway E.M., et al. VEGF-Induced Endothelial Podosomes via ROCK2-Dependent Thrombomodulin Expression Initiate Sprouting Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021; 41 (5): 1657–71.
- Alonso F., Dong Y., Génot E. Thrombomodulin, an Unexpected New Player in Endothelial Cell Invasion During Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021; 41 (5): 1672–4.
- Langdown J., Luddington R.J., Huntington J.A., Baglin T.P. A hereditary bleeding disorder resulting from a premature stop codon in thrombomodulin (p.Cys537Stop). *Blood* 2014; 124 (12): 1951–6.
- Rehill A.M., Preston R.J.S. A new thrombomodulin-related coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020; 18 (9): 2123–5.
- Dargaud Y., Scoazec J.Y., Wielders S.J.H., Trzeciak C., Hackeng T.M., Négrier C., et al. Characterization of an autosomal dominant bleeding disorder caused by a thrombomodulin mutation. *Blood* 2015; 125 (9): 1497–501.
- Burley K., Whyte C.S., Westbury S.K., Walker M., Stirrups K.E., Turro E., et al. Altered fibrinolysis in autosomal dominant thrombomodulin-associated coagulopathy. *Blood* 2016; 128 (14): 1879–83.
- Morrow G.B., Beavis J., Harper S., Bignell P., Laffan M.A., Curry N. Characterisation of a novel thrombomodulin c.1487delC,p.(Pro496Argfs*10) variant and evaluation of therapeutic strategies to manage the rare bleeding phenotype. *Thromb Res* 2021; 197: 100–8.
- Turro E., Astle W.J., Megy K., Gräf S., Greene D., Shamardina O., et al. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature* 2020; 583 (7814): 96–102.
- Osada M., Maruyama K., Kokame K., Denda R., Yamazaki K., Kunieda H., et al. A novel homozygous variant of the thrombomodulin gene causes a hereditary bleeding disorder. *Blood Adv* 2021; 5 (19): 3830–8.
- Tang L., Wang H.F., Lu X., Jian X.R., Jin B., Zheng H., et al. Common genetic risk factors for venous thrombosis in the chinese population. *Am J Hum Genet* 2013; 92 (2): 177–87.
- Razzaq S. Hemolytic uremic syndrome: An emerging health risk. *Am Fam Physician* 2006; 74 (6): 991–6.
- Noris M., Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (4): 1035–50.
- Doggen C.J.M., Kunz G., Rosendaal F.R., Lane D.A., Vos H.L., Stubbs P.J., et al. A mutation in the thrombomodulin gene, 127G to a coding for Ala25Thr, and the risk of myocardial infarction in men. *Thromb Haemost* 1998; 80 (5): 743–8.
- Maga T.K., Nishimura C.J., Weaver A.E., Frees K.L., Smith R.J.H. Mutations in alternative pathway complement proteins in American patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Hum Mutat* 2010; 31 (6): 1445–60.
- Le Clech A., Simon-Tillaux N., Provôt F., Delmas Y., Vieira-Martins P., Limou S., et al. Atypical and secondary hemolytic uremic syndromes have a distinct presentation and no common genetic risk factors. *Kidney Int* 2019; 95 (6): 1443–52.

31. Matsumoto T., Fan X., Ishikawa E., Ito M., Amano K., Toyoda H., et al. Analysis of patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated at the Mie University Hospital: Concentration of C3 p.I1157T mutation. *Int J Hematol* 2014; 100 (5): 437–42.
32. Zhao W., Ding Y., Lu J., Zhang T., Chen D., Zhang H., et al. Genetic analysis of the complement pathway in C3 glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33 (11): 1919–27.
33. Kunz G., Ireland H.A., Stubbs P.J., Kahan M., Coulton G.C., Lane D.A. Identification and characterization of a thrombomodulin gene mutation coding for an elongated protein with reduced expression in a kindred with myocardial infarction. *Blood* 2000; 95 (2): 569–76.
34. Wu C., Dwivedi D.J., Pepler L., Lysov Z., Wayne J., Julian J., et al. Targeted gene sequencing identifies variants in the protein c and endothelial protein c receptor genes in patients with unprovoked venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33 (11): 2674–81.
35. Mahmood I., Hamdan F., Al-Tameemi W. Role of endothelial dysfunction in relation to prothrombogenesis in polycythemia vera. *Iraqi J Hematol* 2018; 7 (1): 8.
36. Page A.V., Liles W.C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence* 2013; 4 (6): 507–16.
37. Salomaa V., Matei C., Aleksic N., Sansores-Garcia L., Folsom A.R., Juneja H., et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: A case-cohort study. *Lancet* 1999; 353 (9166): 1729–34.
38. Kampoli A.M., Tousoulis D., Antoniadis C., Siasos G., Stefanadis C. Biomarkers of premature atherosclerosis. *Trends Mol Med* 2009; 15 (7): 323–32.
39. Wada H., Mori Y., Shimura M., Hiyoyama K., Ioka M., Nakasaki T., et al. Poor outcome in disseminated intravascular coagulation or thrombotic thrombocytopenic purpura patients with severe vascular endothelial cell injuries. *Am J Hematol* 1998; 58 (3): 189–94.
40. Lin S.M., Wang Y.M., Lin H.C., Lee K.Y., Huang C. Da, Liu C.Y., et al. Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2008; 36 (3): 683–9.
41. Mori Y., Wada H., Okugawa Y., Tamaki S., Nakasaki T., Watanabe R., et al. Increased Plasma Thrombomodulin as a Vascular Endothelial Cell Marker in Patients With Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and Hemolytic Uremic Syndrome. *Clin Appl Thromb* 2001; 7 (1): 5–9.
42. Shimizu M., Kuroda M., Inoue N., Konishi M., Igarashi N., Taneichi H., et al. Extensive serum biomarker analysis in patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. *Cytokine* 2014; 66 (1): 1–6.
43. Budzyń M., Iskra M., Turkiewicz W., Krasiński Z., Gryszczyńska B., Kasprzak M.P. Plasma concentration of selected biochemical markers of endothelial dysfunction in women with various severity of chronic venous insufficiency (CVI) – A pilot study. *PLoS One* 2018; 13 (1): 1–17.
44. Mihajlovic D.M., Lendak D.F., Draskovic B.G., Mikic A.S.N., Mitic G.P., Cebovic T.N., et al. Thrombomodulin is a Strong Predictor of Multiorgan Dysfunction Syndrome in Patients With Sepsis. *Clin Appl Thromb* 2015; 21 (5): 469–74.
45. Faust S.N., Levin M., Harrison O.B., Goldin R.D., Lockhart M.S., Kondaveeti S., et al. Dysfunction of Endothelial Protein C Activation in Severe Meningococcal Sepsis. *N Engl J Med* 2001; 345 (6): 408–16.
46. Budzyń M., Gryszczyńska B., Majewski W., Krasiński Z., Kasprzak M.P., Formanowicz D., et al. The association of serum thrombomodulin with endothelial injuring factors in abdominal aortic aneurysm. *Biomed Res Int* 2017; 2791082.
47. Folsom A.R., Yao L., Alonso A., Lutsey P.L., Missov E., Lederle F.A., et al. Circulating Biomarkers and Abdominal Aortic Aneurysm Incidence. *Circulation* 2015; 132 (7): 578–85.
48. Che X.Y., Hao W., Wang Y., Di B., Yin K., Xu Y.C., et al. Nucleocapsid protein as early diagnostic marker for SARS. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 (11): 1947–9.
49. Subirana I., Fitó M., Diaz O., Vila J., Francés A., Delpon E., et al. Prediction of coronary disease incidence by biomarkers of inflammation, oxidation, and metabolism. *Sci Rep* 2018; 8 (1): 1–7.
50. Lyons T.J., Basu A. Biomarkers in diabetes: Hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. *Transl Res* 2012; 159 (4): 303–12.
51. Arishima T., Ito T., Yasuda T., Yasuhiro N., Furubeppu H., Kamikokuryo C., et al. Circulating activated protein C levels are not increased in septic patients treated with recombinant human soluble thrombomodulin. *Thromb J* 2018; 16 (1): 1–7.
52. Mohri M., Sugimoto E., Sata M., Asano T. The inhibitory effect of recombinant human soluble thrombomodulin on initiation and extension of coagulation. A comparison with other anticoagulants. *Thromb Haemost* 1999; 82 (6): 1687–93.
53. Ito T., Thachil J., Asakura H., Levy J.H., Iba T. Thrombomodulin in disseminated intravascular coagulation and other critical conditions – A multi-faceted anticoagulant protein with therapeutic potential. *Crit Care* 2019; 23 (1): 1–11.
54. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W., Antonelli M., Coopersmith C.M., French C., et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021; 47 (11): 1181–247.
55. Guo J.Y., Lin H.Y. Why anticoagulant studies on sepsis fail frequently – start with SCARLET. *Chin J Traumatol* 2023; 26 (5): 297–302.
56. Wada H., Okamoto K., Iba T., Kushimoto S., Kawasugi K., Gando S., et al. Addition of recommendations for the use of recombinant human thrombomodulin to the “Expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan”. *Thromb Res* 2014; 134 (4): 924–5.
57. Van De Wouwer M., Plaisance S., De Vriese A., Waelkens E., Colleen D., Persson J., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin interferes with complement activation and protects against arthritis. *J Thromb Haemost* 2006; 4 (8): 1813–24.
58. Kudo D., Toyama M., Aoyagi T., Akahori Y., Yamamoto H., Ishii K., et al. Involvement of high mobility group box 1 and the therapeutic effect of recombinant thrombomodulin in a mouse model of severe acute respiratory distress syndrome. *Clin Exp Immunol* 2013; 173 (2): 276–87.
59. Wei H.J., Li Y.H., Shi G.Y., Liu S.L., Chang P.C., Kuo C.H., et al. Thrombomodulin domains attenuate atherosclerosis by inhibiting thrombin-induced endothelial cell activation. *Cardiovasc Res* 2011; 92 (2): 317–27.
60. Chen P.S., Wang K.C., Chao T.H., Chung H.C., Tseng S.Y., Luo C.Y., et al. Recombinant Thrombomodulin Exerts Anti-autophagic Action in Endothelial Cells and Provides Anti-atherosclerosis Effect in Apolipoprotein E Deficient Mice. *Sci Rep* 2017; 7 (1): 1–9.
61. Honda T., Ogata S., Mineo E., Nagamori Y., Nakamura S., Bando Y., et al. A novel strategy for hemolytic uremic syndrome: Successful treatment with thrombomodulin α . *Pediatrics* 2013; 131 (3): e928–33.
62. Suyama K., Kawasaki Y., Miyazaki K., Kanno S., Ono A., Ohara S., et al. The efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin for the treatment of shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome model mice. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30 (6): 969–77.
63. Lattenist L., Teske G., Claessen N., Florquin S., Conway E.M., Roelofs J.J.T.H. The lectin like domain of thrombomodulin is involved in the defence against pyelonephritis. *Thromb Res* 2015; 136 (6): 1325–31.