

КОЛЛАГЕН И ГЕМОСТАЗ

(Обзор литературы)

Филиппова О.И., Курникова Е.А.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова" Минздрава России
Санкт-Петербург, ул. Кирочная д.41*

Резюме.

Коллаген является наиболее распространенным белком внеклеточного матрикса и ключевым структурным компонентом соединительной ткани, определяя ее механическую прочность и растяжимость. В различных тканях преобладают разные типы коллагена, а это, в свою очередь, определяется той ролью, которую коллаген играет в конкретном органе или ткани. В сосудистой стенке обнаружены коллагены I, III, IV, V, VI, XV и XVIII типа. Благодаря своим адгезивным свойствам коллагены также являются непосредственными участниками гемостаза. Они являются одним из основных активаторов тромбоцитов при повреждении целостности сосудистой стенки. Эти белки поддерживает как адгезию тромбоцитов, так и полную их активацию. В данном обзоре рассматриваются механизмы взаимодействия коллагена и системы гемостаза, роль коллагена в регуляции системы свертывания.

Ключевые слова: коллаген, тромбоциты, фактор Виллебранда, коллаген связывающая способность фактора Виллебранда, болезнь Виллебранда.

COLLAGEN AND HEMOSTASIS

Philippova O.I., Kurnikova E.A.

*North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
St. Petersburg, Kirochnaya st., 41*

Abstract.

Collagen is the most common protein of the extracellular matrix and the key structural component of the connective tissue, determining its mechanical strength and stretchability. Different types of collagen predominate in different tissues, and this in turn is determined by the role that collagen plays in a particular organ or tissue. Collagen types I, III, IV, V, VI, XV and XVIII have been found in the vascular wall. Due to their adhesive properties, collagens are also

direct participants in hemostasis. They are one of the main activators of platelets in case of damage to the integrity of the vascular wall. These proteins support both platelet adhesion and full activation. The article considers mechanisms of interaction of collagen and hemostasis, the role of collagen in regulation of coagulation system.

Keywords: collagen, platelets, Willebrand factor, collagen binding capacity of Willebrand factor, Willebrand disease.

Коллаген является наиболее распространенным белком внеклеточного матрикса и ключевым структурным компонентом соединительной ткани. На сегодняшний день известно о 28 типах коллагена, которые отличаются друг от друга структурой пептидных цепей, функцией и локализацией в организме. [1]. В сосудистой стенке обнаружены коллагены I, III, IV, V, VI, XV и XVIII типа [2,3,4,5] (рис.1). Из них преобладает содержание фибриллярных коллагенов I (60%) и III типа (30%). Эти коллагены являются основной составляющей всех оболочек сосудистой стенки[3].



Рис. 1. Схематическое представление локализации коллагенов в сосудистой стенке

Коллагены в сосудистой стенке определяют не только ее механическую прочность и растяжимость, благодаря своим адгезивным свойствам коллагены I, III, IV и VI типа также являются непосредственными участниками гемостаза. Они являются одним из основных активаторов тромбоцитов при повреждении целостности сосудистой стенки. Эти белки поддерживает как адгезию тромбоцитов, так и полную их активацию [4].

Коллагены представляют собой левозакрученную спираль из трёх α -цепей (рис.2). Один виток спирали α -цепи содержит три аминокислотных остатка, которые чередуются в виде трипептидов (триплетов), начинающихся с остатка глицина (G-X-Y) [6]. Присутствие глицина в каждом третьем положении коллагеновых полипептидных цепей необходимо для правильного их скручивания в тройную спираль. Тройная спиральная конформация коллагенов является важной предпосылкой для их распознавания тромбоцитами и другими

лигандами [7,8,9]. Мутации, приводящие к замене глицина на другую аминокислоту, приводят к нарушению структуры тройной спирали и взаимодействия с лигандами.

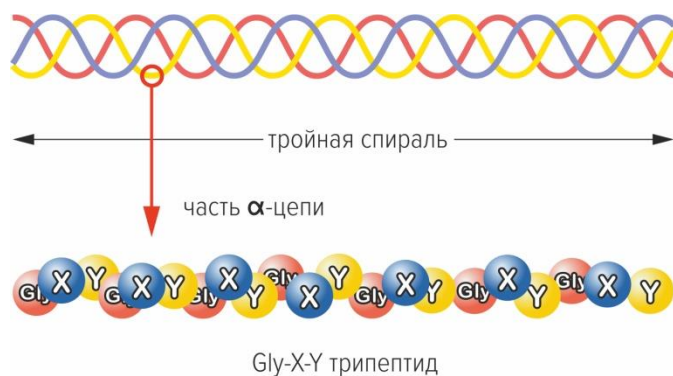


Рис.2 Первичная структура коллагена

Молекула коллагена I типа состоит из двух цепей $\alpha 1$ и одной цепи $\alpha 2$, тогда как гомотример коллагена III типа состоит из трех идентичных цепей $\alpha 1$. Оба коллагена относятся к фибриллярным коллагенам, тройные спирали которых полимеризуются в поперечно-полосатые фибриллы и волокна [5]. В молекуле этих коллагенов обнаружено множество функциональных доменов, включая участки связывания с тромбоцитарными рецепторами, фактором Виллебранда. Коллаген является уникальным агонистом тромбоцитов, поскольку действует как иммобилизованный лиганд, вызывающий активацию тромбоцитов только после стабильной адгезии [10]. Адгезия тромбоцитов к коллагену представляет собой результат взаимодействия специфических участков распознавания в коллагеновых волокнах и их комплементарных рецепторов. Основными тромбоцитарными рецепторами, с помощью которых происходит непосредственное связывание коллагена с тромбоцитами, являются интегрины $\alpha 2\beta 1$ и гликопротеин GPVI [11,12]. Участками распознавания интегриновых рецепторов $\alpha 2/\beta 1$ в структуре $\alpha 1$ цепи коллагена I типа являются аминокислотная последовательность DGEA в позиции 435-438 [13], GFOGER в позиции 502-516 [9], коллагена III типа –GGPPGPR в позиции 522-528 [14]. Участки распознавания мембранного рецептора GPVI образованы аминокислотной последовательностью GPP, где (P*-окси-пролил)[15]. Повреждение кровеносного сосуда приводит к тому, к открытому коллагену прикрепляются фактор Виллебранда. Участок, посредством которого происходит связывание коллагена I типа с фактором Виллебранда, образован в аминокислотную последовательность RGQAGVMF в положении 574-582 в $\alpha 1$ -цепи и последовательностью RGEOGNIGF в положении 486-494 в $\alpha 2$ –цепи при условии, когда $\alpha 2(I)$ цепь находится в средней или задней позиции [7].

В молекуле коллагена III типа, состоящей из трех одинаковых $\alpha 1$ -цепей, аминокислоты образуют также единый сайт связывания с фактором Виллебранда. VWF-связывающим участком является аминокислотная последовательность RGQOGVMGF в положении 572-580[8].

К коллагенам, обладающим регуляторной функцией в системе гемостаза относятся и коллагены IV и VI типа [16,17]. Коллаген IV типа - нефибриллярный коллаген, образующий сетеподобные структуры, локализуется в базальных мембранах эндотелия, гладкомышечных клеток. В его структуре обнаружены сайты связывания с тромбоцитарными рецепторами. Участком распознавания интегринов $\alpha 2/\beta 1$ является аминокислотная последовательность GFOGER в позиции 405-410 $\alpha 1$ -цепи коллагена [9]. В коллагене IV типа еще не обнаружены участки для непосредственного взаимодействия с фактором Виллебранда. По данным vanZanten G.H. с соавторами, взаимодействие коллагена IV типа с фактором Виллебранда опосредовано через тромбоциты [18]. Механизм их взаимодействия до конца не изучен. В структуре коллагена IV типа обнаружены сайты связывания с фактором FIX [19]. Значимость этого специфического связывания не известна и предполагают, что оно играет роль в контроле уровня FIX в крови [20].

Коллаген VI типа является компонентом микрофибриллярных структур, обнаруженный во всех оболочках сосудистой стенки. Он опосредует связь между фибриллярными коллагеновыми волокнами и является связующим звеном между базальной мембраной и интерстициальной матрицей сосудистой стенки [21]. По данным Rand J.Y. и соавторов, коллаген VI типа инициирует раннюю VWF-зависимую адгезию тромбоцитов в условиях низкого сдвига [17]. Коллаген VI типа представляет собой гетеротример, состоящий из шести полипептидных цепей: $\alpha 1(VI)$, $\alpha 2(VI)$ и $\alpha 3(VI)$, $\alpha 4(VI)$, $\alpha 5(VI)$ и $\alpha 6(VI)$. Предполагаемый сайт связывания с фактором Виллебранда находится в модуле A7 позиции 413-613 глобулярной части $\alpha 3(VI)$ цепи [22]. Механизм связывания фактора Виллебранда с коллагеном IV и VI типа до конца не ясен.

Сосудистые коллагены, расположенные в матриксе, не подвергаются воздействию текущей крови. Однако после травмы кровеносных сосудов обнажаются субэндотелиальные структуры, включая соединительная ткань, которая содержит высокий процент коллагена. В случае повреждения целостности эндотелиальной выстилки, эндотелиальные клетки сокращаются, обнажая коллаген IV типа, основной компонент базальной мембраны. Более глубокое повреждение обнажает фибриллярные коллагены I и III типа [23].

Взаимодействие коллагена с тромбоцитарными рецепторами по своему механизму различаются в зонах циркуляции с малой скоростью тока (и низким напряжением сдвига) и с большой скоростью (высоком напряжении сдвига) тока крови [24]. В условиях низкого напряжения сдвига происходит непосредственное взаимодействие тромбоцитарных рецепторов с соответствующими сайтами распознавания коллагеновых белков. Основными рецепторами тромбоцитов, посредством которых тромбоциты связываются с коллагеном в условиях низкого напряжения сдвига, являются интегрин GPIa/IIa ($\alpha 2\beta 1$) и тромбоцитарный рецептор GPVI. В то время как гликопротеин $\alpha 2\beta 1$ является адгезионным, необходимым для адгезии тромбоцитов к коллагену, GPVI отвечает за генерацию внутриклеточных сигналов в процессе активации тромбоцитов [25].

Адгезия тромбоцитов к коллагену при высоком напряжении сдвига (обнаруживаемого в мелких артериях и артериолах) опосредовано связыванием коллагена с фактором Виллебранда [26], который содержится в плазме крови, секретируется из телец Вайбеля-Паладе эндотелиальных клеток и α -гранул тромбоцитов. Фактор Виллебранда является адгезивным белком между тромбоцитами и стенкой сосуда и носителем FVIII, предотвращая его протеолитическую деградацию в плазме [27,28]. Этот мультимерный белок состоит из структурных доменов и соответствующих связующих участков [29]. Первые четыре домена (D1, D2, D и D3) служат для регуляции сборки мультимеров. Домены D и D3 также позволяют VWF связываться фактором свертывания FVIII. Участком связывания с тромбоцитарным гликопротеином Ib·IX·V (GPIb) и с коллагеном IV и VI типа является домен A1 [30, 31]. Основной сайт связывания для фибриллярных коллагенов I и III находится в домене A3 [32,33]. Исследования, направленные на изучение взаимодействия между доменами A1 и A3 и фибриллярными коллагенами I,III типа показали, что домен A1 также может взаимодействовать с ними. При мутациях в домене A3, приводящих к потере связывания фактора Виллебранда с коллагеном, домен A1 способен принять на себя функцию домена A3 и связываться с коллагеном I и III типа [34]. Morales LD, с соавторами продемонстрировали, что домен A1 может одновременно взаимодействовать с коллагеном и GPIb, и что эти взаимодействия позволяют рекрутировать тромбоциты в условиях потока [35].

Фактор Виллебранда в своем естественном состоянии напоминает глобулярную форму. В условиях высокого напряжения сдвига под влиянием гемодинамических сил и контакта субэндотелиальными белками фактор Виллебранда подвергается конформационным изменениям: разворачивается в струноподобную структуру, обнажая сайты связывания с тромбоцитарными рецепторами и коллагеном [36]. В условиях

высокого напряжения сдвига фактор Виллебранда с одной стороны соединяется посредством домена А3 с коллагеном, с другой стороны с помощью сайта А1 с гликопротеиновым комплексом GPIb–IX–V тромбоцитов, образуя «мостик» между коллагеном и тромбоцитом [32] (рис.3). Взаимодействие фактора Виллебранда, иммобилизованного на коллагене, с гликопротеином GPIb–V–IX тромбоцита, приводит к «замедлению» движения тромбоцитов в кровотоке, их к захвату из тока крови. Связывание фактора Виллебранда с GPIb приводит не только рекрутированию тромбоцитов из тока крови, но и индуцирует сигнальные события активации тромбоцитов, приводящие к активации интегрина и интегрин-зависимой стабильной адгезии и агрегации тромбоцитов [37].

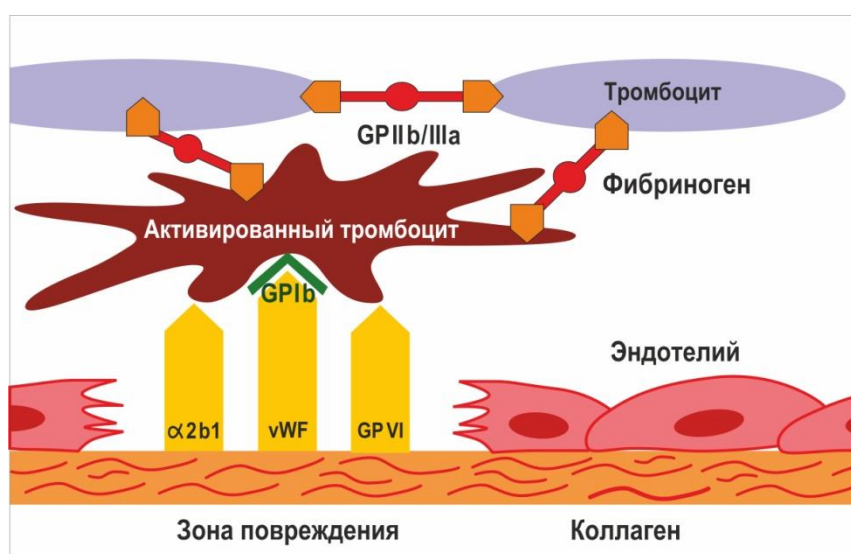


Рис. 3. Активация тромбоцитов коллагеном

Адгезия тромбоцитов к коллагену за счет связи GPIb и vWF не является стабильной, под током крови тромбоциты перекатываются по поверхности поврежденной стенки. В процессе перекатывания происходит укрепление соединения тромбоцита к коллагену за счет вовлечения в процесс интегрина $\alpha 2\beta 1$ [38].

Интегрины $\alpha 2\beta 1$ представляют собой нековалентно связанные гетеродимеры, состоящие из α - и β -цепей, имеющие низкое сродство к их естественному лиганду в покоящихся тромбоцитах [39]. Сигналом для перехода интегрина $\alpha 2\beta 1$ в высокоаффинную форму служит повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме активированных тромбоцитов, что происходит в результате взаимодействия коллагена с GPVI, фактора Виллебранда с гликопротеиновым комплексом GPIb–IX–V. В процессе активации происходит изменение положения α - и β -цепи интегрина друг относительно друга, что приводит к плотному связыванию тромбоцитов с коллагеном. Данные тромбоцитарные рецепторы функционируют как «якорь» для прикрепления тромбоцитов к коллагеновым

волокон, тогда как гликопротеин GPVI, главным образом, ответственен за активацию тромбоцитов [40].

GPVI представляет собой трансмембранный гликопротеин тромбоцитов, который играет решающую роль в индуцированной коллагеном активации и агрегации тромбоцитов. Взаимодействие GPVI с коллагеном запускает внутриклеточную передачу сигналов, что приводит к внутренней активации интегринов тромбоцитов $\alpha 2\beta 1$ и $\alpha \text{IIb}\beta 3$ и запуску внутриклеточного сигнального каскада. Происходит активация тирозинкиназы Syk (Spleentyrosinekinase) [41], которая в свою очередь, инициирует реакции, ведущие к активации фосфолипазы $\text{C}\gamma 2$ ($\text{PLC}\gamma 2$), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и малых G белков, что в итоге приводит к мобилизации ионов кальция из внутриклеточных депо, высвобождению содержимого гранул [42,24]. Выброс медиаторов агрегации тромбоксана A_2 , АДФ и АТФ и других активных веществ потенцирует активацию интегрин $\alpha \text{IIb}\beta 3$, который может связывать фибриноген, фактор Виллебранда и фибронектин, что приводит к прочной адгезии тромбоцитов к стенке сосуда и, путем сшивания через фибриноген, к агрегации с другими тромбоцитами.

В литературе имеются публикации о возможном существовании дополнительных тромбоцитарных рецепторов, специфически связывающихся коллагеном I типа [43] и III типа [44,45]. По данным Maurice P. с соавторами, в структуре коллагена III типа существует тромбоцитарно-реактивный участок с аминокислотной последовательностью KOGEOGPK, который является участком связывания с коллаген-связывающим белком III типа [45]. Механизм взаимодействия этих рецепторов с коллагеном и значимость этих рецепторов в активации тромбоцитов не до конца изучены.

Помимо активации тромбоцитов роль коллагена в системе свертывания проявляется в том, что тромбоциты, адгезированные к коллагену, экспрессируют фосфатидилсерины. В интактных тромбоцитах фосфатидилсерины локализуются преимущественно в плазмолемме, их транслокация происходит в результате активации тромбоцитов. Экспрессированные фосфатидилсерины образуют каталитическую поверхность, способствующую взаимодействию фактора FIXa в комплексе с фактором FVIIIa с фактором FX (теназой), FXa в комплексе с фактором Va с фактором F II (протромбиназой) и генерации тромбина [4].

Опосредованное влияние коллагена на гемостаз также проявляется в процессе доставки фактора свертывания крови FVIII к месту повреждения сосудистой стенки. Коллаген при взаимодействии с фактором Виллебранда в зоне повреждения индуцирует конформационные изменения в участке vWF, связывающем фактор VIII, что снижает

сродство к фактору FVIII [46]. Высвобождаемый FVIII, взаимодействуя с тромбином, подвергается протеолитической активации и активно включается в процесс свертывания крови.

Нарушение синтеза коллагенов сосудистой стенки сопровождается нарушениями в системе гемостаза, что демонстрирует связь коллагена и системы гемостаза. Синдром Элерса-Данло является примером группы заболеваний, вызванных дефектами синтеза коллагена, и характеризуется гиперастязимостью и гиперэластичностью кожи, гипермобильностью суставов, плохим заживлением ран и появлением синяков при незначительной травме. Большинство подтипов синдрома Элерса-Данло связано с мутациями генов в коллагенах I, III и V типов [47]. Геморрагии при данном заболевании обусловлены как уменьшением содержания коллагена, изменениями его свойств, так и дисфункцией тромбоцитов. Вытяжка коллагена этих пациентов вызывала слабую агрегацию нормальных тромбоцитов. Тромбоцитопатия проявлялась слабой агрегацией кровяных пластинок после воздействия на них адреналином и малыми дозами АДФ [47]. Описаны также кровотечения у пациентов с дисфункцией коллагена IV типа, вызванные различными мутациями генов, кодирующих α цепи коллагена [49,50].

Роль комбинации коллагена с фактором Виллебранда в процессе гемостаза продемонстрирована нарушениями свертываемости при болезни Виллебранда. Нарушение связывание фактора Виллебранда с коллагеном выявляется при снижении его количества или его функциональных расстройствах [51-52]. К функциональным расстройствам фактора Виллебранда приводят мутации в коллагенсвязывающих доменах. Известно, что мутации в домене A3 VWF могут проявляться нарушением связывания фактора Виллебранда с коллагеном I,III и IV типа, домене A1 с коллагеном IV типа [53-55].

Таким образом, сосудистые коллагены являются важнейшим звеном в системе гемостаза, опосредуя взаимодействие между сосудистой стенкой и системой гемостаза. Структурные особенности коллагена обеспечивают не только механическую прочность сосудистой мембраны, но и предотвращение чрезмерной кровопотери после травмы благодаря своим адгезивным свойствам.

Литература

1. Shoulders M.D., Raines R.T. et al. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem.* 2009; 78:929-958. doi: 10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833.
2. Шехонин Б.В., Кондаленко В.Ф., Домогатский С.П. и др. Распределение коллагена I, III, IV, V типов в стенке артерий человека. *Кардиология.* 1984; 24(4):95-99.
3. Howard P.S., Macarak E.J. Localization of collagen types in regional segments of the fetal bovine aorta. *Lab Invest.* 1989; 61: 548– 555.
4. Farndale R.W., Sixma J. J., Barnes M. J., De Groot P. G. The role of collagen in thrombosis and hemostasis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2004; 2: 561–573.
5. Manon-Jensen T., Kjeld N. G., Karsdal M.A. Collagen-mediated hemostasis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2016; 14: 438–448. doi: 10.1111/jth.13249.
6. Baum J., Brodsky B. Folding of peptide models of collagen and misfolding in disease. *Current Opinion in Structural Biology.* 1999; 9: 122–128.
7. Brondijk T.H., Bihan D. Farndale R.W., Huizinga E.G. Implications for collagen I chain registry from the structure of the collagen von Willebrand factor A3 domain complex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(14): 5253-5258. doi: 10.1073/pnas.1112388109.
8. Lisman T., Raynal N., Groeneveld D. et al. A single high-affinity binding site for von Willebrand factor in collagen III, identified using synthetic triple-helical peptides. *Blood.* 2006; 108:3753– 3756.
9. Knight C.G., Morton L.F., Peachey A.R. et al. The collagen-binding A-domains of integrin $\alpha(1)\beta(1)$ and $\alpha(2)\beta(1)$ recognize the same specific amino acid sequence, GFOGER, in native (triple-helical) collagens. *J Biol Chem.* 2000; 275: 35 –40.
10. Heemskerk J.W., Kuijpers M.J. et al. Platelet collagen receptors and coagulation. A characteristic platelet response as possible target for antithrombotic treatment *Trends Cardiovasc Med.* 2005; 15(3):86-92. doi: 10.1016/j.tcm.2005.03.003.
11. Santoro S.A. Identification of a 160,000 dalton platelet membrane protein that mediates the initial divalent cation-dependent adhesion of platelets to collagen. *Cell* 1986; 46:913– 920.
12. Sugiyam, T., Okum, M., Ushikubi F. et al. A novel platelet aggregating factor found in a patient with defective collagen-induced platelet aggregation and autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1987; 69:1712– 1720.
13. Staatz W.D., Fok K.F, Zutter M.M et al. Identification of a tetrapeptide recognition sequence for the $\alpha(2)\beta(1)$ integrin in collagen. *J Biol Chem.* 1991; 266(12):7363-7367.
14. Morton L.F., Peachey A.R., Knight C.G. et al. The Platelet Reactivity of Synthetic Peptides Based on the Collagen III Fragment $\alpha(1)(III)CB4$. Evidence for an Integrin $\alpha(2)\beta(1)$ Recognition

- Site Involving Residues 522-528 of the alpha1(III) Collagen Chain. *J Biol Chem.* 1997; 272 (17): 11044-11048.
15. Knight C.G., Morton L.F., Onley D.J. et al. Collagen–platelet interaction: Gly-Pro-Hyp is uniquely specific for platelet GpVI and mediates platelet activation by collagen. *Cardiovasc Res.* 1999; 41: 450–457.
16. Khoshnoodi J., Pedchenko V., Hudson B.G. Mammalian collagen IV. *Microsc Res Tech.* 2008; 71: 357–370.
17. Rand J.H., Wu X.X., Potter B.J., Uson R.R., Gordon R.E. Co-localization of von Willebrand factor and type VI collagen in human vascular subendothelium. *Am J Pathol.* 1993; 142:843–850.
18. vanZanten G.H., Saelman E.U., Schut-Hese K.M. et al. Platelet adhesion to collagen type IV under flow conditions. *Blood.* 1996; 88: 3862–3871.
19. Wolberg A.S., Stafford D.W., Erie D.A. Human factor IX binds to specific sites on the collagenous domain of collagen IV. *J Biol Chem.* 1997; 272: 16717–16720.
20. Gui T., Lin H.F., Jin D.Y. et al. Circulating and binding characteristics of wild-type factor IX and certain Gla domain mutants in vivo. *Blood.* 2002; 100(1):153-158. doi: 10.1182/blood.v100.1.153
21. von der Mark H, Aumailley M, Wick G, Fleischmajer R, Timpl R. Immunocytochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *Eur J Biochem.* 1984; 142: 493–502.
22. Mazzucato M., Spessotto P., Masotti A. et al. Identification of Domains Responsible for von Willebrand Factor Type VI Collagen Interaction Mediating Platelet Adhesion under High Flow The Journal of Biological Chemistry. 1999; 274(5): 3033–3041,doi: 10.1074/jbc.274.5.3033
23. Farndale R.W., Lisman T., Bihan D. et al. Cell-collagen interactions: the use of peptide Toolkits to investigate collagen-receptor interactions *Biochem Soc Trans.* 2008; 36(Pt 2):241-250. doi: 10.1042/BST0360241.
24. Farndale R.W. Collagen-induced platelet activation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2006; 36:162–165.
25. Watson S.P., Herbert J.M.J., Pollitt A.Y. GPVI and CLEC-2 in hemostasis and vascular integrity. *J Thromb. Haemost.* 2010; 8: 1456-1467.
26. Sixma J.J., van Zanten G.H., Huizinga E.G. et al. Platelet adhesion to collagen: an update. *Thromb Haemost.* 1997; 78: 434–438.
27. Sadler J. E. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor *Annu Rev Biochem* 1998; 67:395-424. doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.395.
28. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. - 2018. - Т. 10. - №4. - С. 73-80. doi: 10.17816/mechnikov201810473-80

29. Pannekoek H., Voorberg J. Molecular cloning, expression and assembly of multimeric von Willebrand factor. *Baillieres Clin Haematol.* 1989; 2:879–96.
30. Flood V.H., Schlauderaff A.C., Haberichter S.L. et al. Crucial role for the VWF A1 domain in binding to type IV collagen. *Blood.* 2015; 125: 2297–2304.
31. Rand J.H., Patel N.D., Schwartz E. et al. 150-kD von Willebrand factor binding protein extracted from human vascular subendothelium is type VI collagen. *J Clin Invest.* 1991; 88:253–259.
32. Pareti FI, Niiya K, McPherson JM, Ruggeri ZM. Isolation and characterization of two domains of human von willebrand factor that interact with fibrillar collagen types I and III. *J Biol Chem.* 1987; 262:13835–13841.
33. Romijn RA, Westein E, Bouma B. et al. Mapping the collagen-binding site in the von Willebrand factor-A3 domain. *J Biol Chem* 2003; 278: 15035-15039.
34. Bonnefoy A. , Romijn R. A., Vandervoort P. A. H. et al. von Willebrand factor A1 domain can adequately substitute for A3 domain in recruitment of flowing platelets to collagen. *J Thromb. Haemost.* 2006, 4: 2151–2161.
35. Morales LD, Martin C, Cruz MA. The interaction of von Willebrand factor-A1 domain with collagen: mutation G1324S (type 2M von Willebrand disease) impairs the conformational change in A1 domain induced by collagen. *J Thromb Haemost.* 2006; 4: 417-425.
36. Siedlecki C.A., Lestini B.J., Kottke-Marchant K.K. et al. Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. *Blood* 1996; 88: 2939-2950.
37. Du X. Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *Curr Opin Hematol.* 2007;14:262–269.
38. Li Z, Delaney M. K., O'Brien K. A., Du X. Signaling during platelet adhesion and activation *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30(12): 2341–2349. doi:10.1161/ATVBAHA.110.207522.
39. Hynes, R.O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell.* 2002.110(6): 673–687.
40. Savage B, Almus-Jacobs F., Ruggeri Z.M. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell.* 1998; 94:657-666.
41. Poole, A., Gibbins, J. M., Turner, M. et al. The Fc receptor gamma-chain and the tyrosine kinase Syk are essential for activation of mouse platelets by collagen. *EMBO J.*, 1997; 16, 2333– 2341.
42. Andrews R.K., Gardiner E.E., Shen Y., Berndt M.C. Platelet interactions in thrombosis. *IUBMB Life.* 2004;56(1):13-8.doi: 10.1080/15216540310001649831
43. Zhu J., Cole F., Woo-Rasberry V. et al. Type I and type III collagen-platelet interaction: inhibition by type specific receptor peptides. *Thromb Res.*2007; 119(1):111-119. doi: 10.1016/j.thromres.2005.11.012.

44. Monnet E., Depraetere H., Legrand C. et al. A monoclonal antibody to platelet type III collagen-binding protein (TIIICBP) binds to blood and vascular cells, and inhibits platelet vessel-wall interactions. *J Thromb. Haemost.* 2001; 86(2):694-701.
45. Maurice P., Legrand C., Fauvel-Lafeve F. Platelet adhesion and signaling induced by the octapeptide primary binding sequence (KOGEOGPK) from type III collagen *The FASEB Journal • Research Communication*. 2004; 18: 1339-1347.
46. Bendetowicz A.V., Wise R.J., Gilbert von G.E. Willebrand factor (vWf) is a multimeric adhesive glycoprotein that serves as a carrier for factor VIII in plasma *J Biol Chem.* 1999; 274 (18): 12300-12307. doi: 10.1074/jbc.274.18.12300.
47. Byers P.H., Murray M.L. Ehlers–Danlos syndrome: a showcase of conditions that lead to understanding matrix biology. *Matrix Biol.* 2014; 33: 10-15.
48. Onel D., Ulutin S.B., Ulutin O.N. Platelet defect in a case of Ehlers-Danlos syndrome *Acta Haematol.* 1973; 50(4):238-244. doi: 10.1159/000208355.
49. Borza D.B., Neilson E.G., Hudson B.G. Pathogenesis of Goodpasture syndrome: a molecular perspective. *Semin. Nephrol* 2003; 23: 522–531.
50. deVries L.S., Koopman C., Groenendaal F. et al. COL4A1 mutation in two preterm siblings with antenatal onset of parenchymal hemorrhage. *Ann Neurol.* 2009; 65: 12 –18.
51. Колосков А.В. Болезнь Виллебранда. Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19. – № 11. – С. 43-48.
52. Ribba A.S., Loisel I., Lavergne J.M. et al. Ser968Thr mutation within the A3 domain of von Willebrand factor (VWF) in two related patients leads to a defective binding of VWF to collagen *J Thromb. Haemost.* 2001; 86:848–854.
53. Riddell A.F., Gomez K., Millar C.M. et al. Characterization of W1745C and S1783A: 2 novel mutations causing defective collagen binding in the A3 domain of von Willebrand factor. *Blood.* 2009; 114:3489–3496.
54. Flood V.H., Lederman C.A., Wren J.S., et al. Absent collagen binding in a VWF A3 domain mutant: utility of the VWF:CB in diagnosis of VWD. *J Thromb. Haemost.* 2010; 8:1431–1433.
55. Larsen D.M., Haberichter S.L., Gill J.C. et al. Variability in platelet- and collagen-binding defects in type 2M von Willebrand disease. *Haemophilia.* 2013; 19:590–594.