

ОБЗОРЫ

Мембранные микровезикулы: биологические свойства и участие в патогенезе заболеваний

М.О. Гомзикова¹, Р.Ф. Гайфуллина¹, И.Г. Мустафин², В.М. Чернов³,
З.Р. Мифтахова², А.С. Галевич², А.А. Ризванов¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

² Казанский государственный медицинский университет, Казань

³ Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

Membrane microvesicles: biological properties and involvement in pathogenesis of diseases

M.O. Gomzikova¹, R.F. Gaifullina¹, I.G. Mustafin², V.M. Chernov³, Z.R. Miftahova², A.S. Galyavich², A.A. Rizvanov¹

¹ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

² Kazan State Medical University, Kazan

³ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of KazSC RAS, Kazan

Микровезикулы (МВ) — мембранные везикулы, которые высвобождаются от поверхности клеток в норме, а также при стимуляции или гибели клеток (тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, эндотелиальных клеток, трансформированных клеток и др.). Долгое время полагали, что МВ не играют существенной роли и представляют собой инертный «мусор», высвобождаемый клетками в процессе жизнедеятельности, однако накапливающиеся данные свидетельствуют о важной роли МВ в различных физиологических и патологических процессах. На сегодняшний день в базах данных PUBMED, OMIM и GENE, накоплено большое количество публикаций посвященных исследованию способности МВ переносить различные биологически активные вещества (липиды, белки, нуклеиновые кислоты и т.д.), применению МВ в качестве диагностических маркеров и влиянию на развитие различных заболеваний.

Ключевые слова: мембранные микровезикулы, патогенез заболеваний.

Высвобождение мембранных везикул характерно для бактерий, архей, растений и животных, в том числе человека. Впервые микрочастицы, циркулирующие в крови человека, описал и установил их тромбоцитарное происхождение Р. Wolf в 1967 г. [1]. Впоследствии было установлено, что образование микрочастиц характерно для многих типов клеток, в том числе для лейкоцитов, эритроцитов, лейкомиоцитов, эндотелиальных, стволовых, а также опухолевых клеток. Микровезикулы обнаружены в различных биологических жидкостях человека (кровь, лимфа, слюна, пот, моча) [2, 3].

В литературе под термином микрочастицы понимают непосредственно микрочастицы (микровезикулы или эктосомы), а также подобные им клеточные образования — экзосомы и апоптозные тельца, которые, однако, имеют иной механизм образования, отличаются содержимым и выпол-

няемыми функциями, поэтому в обзоре мы будем использовать синоним термина микрочастицы — микровезикулы (МВ). Микровезикулы — мембранные структуры различного размера (100–1000 нм), отделяющиеся от цитоплазматической мембраны (ЦПМ) клеток. МВ заключают внутри себя цитозольные компоненты, такие как ферменты, факторы транскрипции, молекулы мРНК [4, 5]. Долгое время полагали, что МВ — инертный «мусор», высвобождаемый клетками в процессе жизнедеятельности, однако накапливающиеся данные свидетельствуют о важной роли МВ в различных физиологических и патологических процессах. К настоящему времени установлено, что МВ участвуют в развитии атеросклероза и гипертензии (влияют на сердечно-сосудистую функцию), тромбоза (стимулируют коагуляцию), неврологических нарушений,

Key words: Membrane microvesicles, pathogenesis of diseases, thrombosis, angiogenesis, blood clotting.

e-mail: rizvanov@gmail.com

воспаления, онкологических заболеваний, а также в процессе ангиогенеза [6–9].

Функция МВ определяется их составом, который зависит от типа клетки, их продуцировавшей, и стимула, вызвавшего их образование [10, 11]. Например, тромбоцитарные МВ (ТМВ) участвуют в свертывании крови, а эндотелиальные (ЭМВ) – в ангиогенезе [11]. При этом все типы МВ способны к переносу заключенных внутри них молекул в другие клетки, то есть МВ опосредуют взаимодействие между клетками на расстоянии. В то же время это способствует распространению вирусов, прионов, а также онкологических заболеваний [3].

Было показано увеличение уровня определенных типов МВ у людей с острым коронарным синдромом, атеросклерозом, ишемическим инсультом, диабетом, системной и легочной гипертензией, гипертриглицеридемией, а также при тромботических заболеваниях [2, 9, 12]. Это наблюдение позволило использовать МВ в качестве маркера соответствующих заболеваний, а также показателя эффективности лечения.

Механизмы образования микровезикул

Образование МВ происходит как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Это нормальный процесс, однако при активации клеток, воздействии стресса или в процессе апоптоза МВ продуцируются в гораздо больших количествах [13].

К настоящему времени установлено, что образование МВ происходит в определенных сайтах на поверхности клетки, обогащенных холестерином, которые называют липидными рафтами [14], в условиях нарушения мембранной асимметрии (перемещение фосфатидилсерина в наружный монослой ЦПМ), что также является маркером активации или клеточного стресса, а также реорганизации цитоскелета (рис. 1) [15].

Для ЦПМ характерно асимметричное распределение фосфолипидов между двумя монослоями (наружный монослой обогащен фосфатидилхолином и сфингомиелином, тогда как внутренний монослой содержит аминокислоты – фосфатидилсерин (ФС) и фосфатидилэтаноламин (ФЭ)), которое

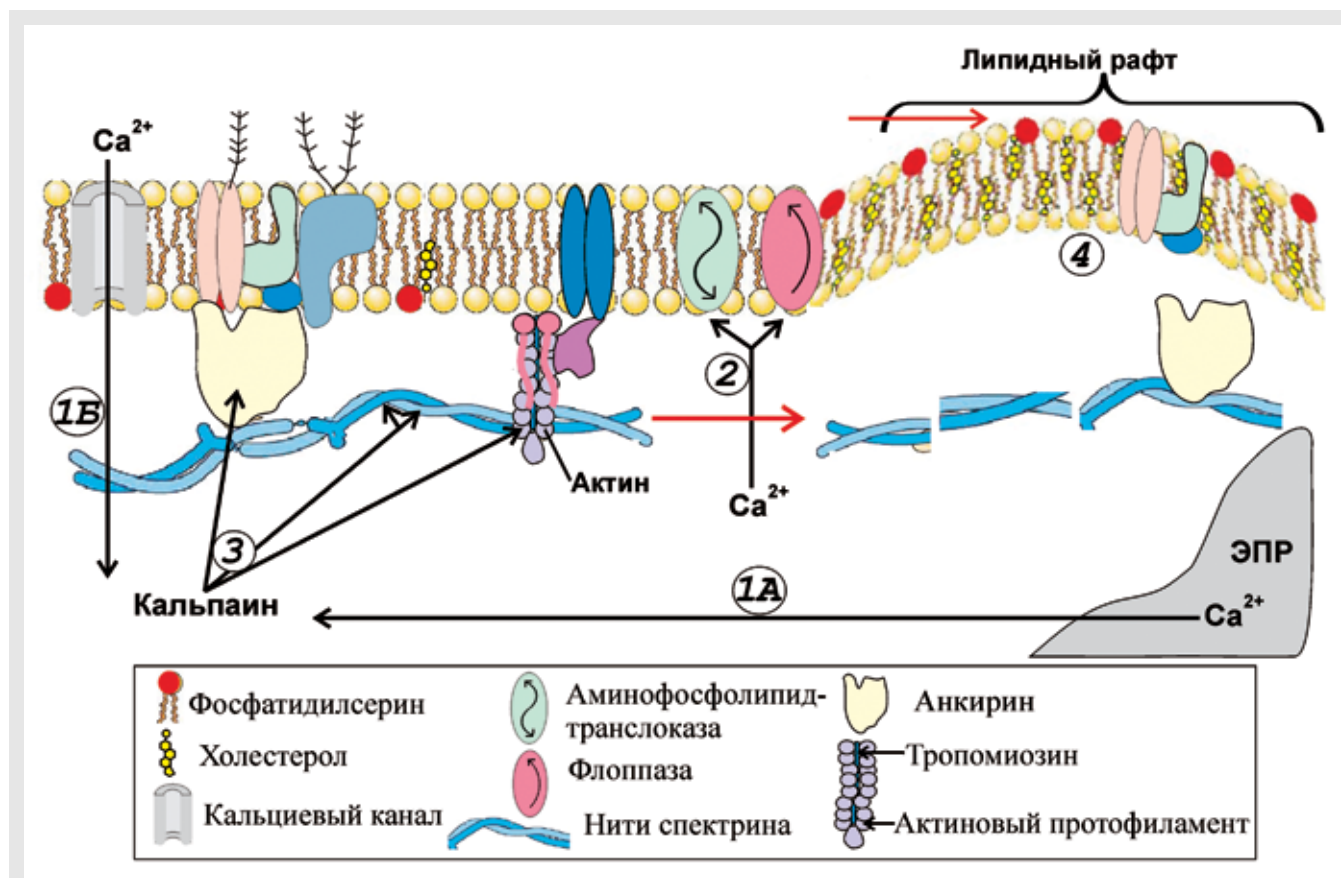


Рис. 1. Механизм высвобождения МВ:

1 – увеличение концентрации ионов кальция в клетке;

А – быстрое кратковременное агонист-индуцированное высвобождение ионов кальция из Ca^{2+} -депо, представленных эндоплазматическим ретикулумом (ЭПР);

Б – депо-управляемый вход кальция – медленный продолжительный приток внеклеточных ионов кальция через ЦПМ;

2 – активация флоспазы и одновременное ингибирование аминокислот-транслоказы, ведущее к перераспределению фосфолипидов – перемещение, главным образом, ФС в наружный монослой ЦПМ;

3 – активация протеазы кальпаина, которая разрушает якорный белок анкирин и белки цитоскелета спектрин и актин;

4 – образование везикулы, обогащенной компонентами цитоплазмы клетки

находится под контролем ферментативного трансмембранного комплекса, включающего в себя такие ферменты, как аминоксфофолипид-транслоказа, флоспаза, скрамблаза [16, 17]. Перемещение ФС в наружный монослой катализирует АТФ-зависимый фермент с «флиппазной» активностью, при этом также происходит обратный процесс — транспортировка ФС во внутренний монослой с помощью фермента аминоксфофолипид-транслоказы, обладающей «флоспазной» активностью, которая поддерживает исходное асимметричное распределение фосфолипидов [16, 17].

Необходимо отметить, что процесс нарушения асимметричности мембраны является Ca^{2+} -зависимым. При увеличении концентрации ионов кальция в цитозоле происходит активация флоспазы и одновременное ингибирование аминоксфофолипид-транслоказы, что приводит к перемещению ФС преимущественно в наружный монослой ЦПМ [18]. Одновременно, увеличение концентрации Ca^{2+} приводит к активации эндогенной протеазы кальпаина, некоторых киназ, а также к ингибированию фосфатаз [19]. Эти события в свою очередь приводят к реорганизации цитоскелета. Субстратом фермента кальпаина являются белки анкирины, которые связывают интегральные мембранные белки со спектрин-актиновым цитоскелетом, и собственно белки цитоскелета (спектрин и актин) [2, 18]. Фосфорилирование легких цепей миозина с помощью киназы легких цепей миозина (КЛЦМ) при активации Rho-ассоциированной киназой I (Rho-associated kinase I, ROCK-I) при апоптозе стимулирует сократительную активность миозина, которая, вероятно, приводит к натяжению и отделению ЦПМ от цитоскелета, что способствует высвобождению МВ [18, 19].

На ранней стадии апоптоза также наблюдается увеличение концентрации ФС во внешнем монослое ЦПМ и образовании МВ. Апоптотные тельца в отличие от МВ более крупные частицы (более 1,5 мкм), образующиеся вследствие фрагментации клетки на финальной стадии апоптоза [19].

Интересно отметить, что в ЭМВ обнаружена высокая концентрация ключевого фермента апоптоза — каспазы-3. Предполагается, что посредством высвобождения МВ клетка избавляется от фермента, избегая таким образом гибели [3]. При этом ингибирование фермента приводит к блокаде высвобождения МВ [18].

Однако открытым остается вопрос — одинаковы ли МВ, высвобождаемые клетками в процессе апоптоза, по липидному и белковому составу, а также по патофизиологическим свойствам, с МВ, высвобождаемыми в результате клеточной активации [11].

Роль микровезикул в ангиогенезе

МВ одного типа могут как активировать, так и подавлять ангиогенез в зависимости от своего состава.

ЭМВ проявляют ангиогенную активность благодаря наличию матриксных металлопротеиназ (ММП), главным образом ММП-2 и ММП-9, которые вовлечены в процесс миграции эндотелиальных клеток и формирования капилляров [20]. R. Lacroix и др. (2007) обнаружили, что МВ, образующиеся после стимуляции эндотелиальных клеток фактором некроза опухоли- α (TNF α), также способствуют ангиогенезу, преобразуя плазминоген в плазмин [21].

Активатор плазминогена, переносимый ЭМВ, был идентифицирован как урокиназный активатор плазминогена (УАП), который связывается со специфичным рецептором (урокиназный рецептор — УАПР) на поверхности ЭМВ. В результате, образование плазмина, индуцированное УАП, и последующая активация ММП способствуют миграции и формированию капиллярноподобных структур эндотелиальными клетками-предшественницами. Однако имеется определенная пороговая концентрация ЭМВ, превышение которой ведет к обратному эффекту [21].

Имеются данные, что ЭМВ способны ингибировать формирование капиллярноподобных структур путем увеличения продукции супероксид-аниона и активных форм кислорода (АФК) [22-23]. Увеличение продукции супероксид-аниона, который вступает в реакцию с оксидом азота (NO), ведет к уменьшению запаса NO и развитию окислительного стресса, ответственного за эндотелиальную дисфункцию. Действительно, накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что супероксид-анион и АФК играют важную роль в инициации и развитии сосудистых заболеваний, таких как гипертензия и атеросклероз [23].

Положительное влияние тромбоцитов на процесс ангиогенеза довольно хорошо известно, поэтому исследователей интересовал вопрос о роли в этом процессе ТМВ. Было обнаружено, что ТМВ также проявляют ангиогенную активность, способствуя практически всем этапам ангиогенеза (пролиферация, миграция и формирование капиллярноподобных структур ЭК). При этом липидные компоненты ТМВ — главные факторы, активирующие ангиогенез [24].

Отрицательное дозозависимое влияние на процесс ангиогенеза было показано в отношении лимфоцитарных МВ (ЛМВ). ЛМВ ингибируют ангиогенез *in vivo* и *in vitro*, снижая выживаемость, пролиферацию и миграцию ЭК. В то же время отрицательный эффект не зависел от вида стимула, который вызвал образование ЛМВ (гипероксия или гипоксия) [25]. Авторы предположили, что антиангиогенные свойства ЛМВ, подобно ЭМВ, обеспечиваются механизмами окислительного стресса. Действительно, ЛМВ индуцируют активацию NADPH-оксидазы, что приводит к увеличению количества продуктов катализируемой ферментом реакции, а именно АФК и супероксид-анион [23, 25].

Н.А. Mostefai и соавт. (2008) обнаружили, что МВ, образованные активированными/апоптотными лимфоцитами, способствуют ангиогенезу, увеличивая экспрессию таких проангиогенных факторов, как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), интерлейкин-1 β и молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1). Положительное влияние ЛМВ отчасти обусловлено наличием на их поверхности белка Sonic Hedgehog (Shh), который повышает экспрессию двух семейств проангиогенных факторов — VEGF и ангиопоэтинов [23].

Интересны результаты исследований M.C. Deregibus и соавт. (2007): МВ, образованные эндотелиальными клетками-предшественницами, способны индуцировать пролиферацию и образование капиллярноподобных структур эндотелиоцитами *in vitro* посредством доставки мРНК, в том числе ассоциированной с фосфатидилинозитол-3-киназным сигнальным путем, который регулирует антиапоптотную программу и процесс ангиогенеза [26].

Приведенные данные позволяют заключить, что МВ наряду с факторами роста, цитокинами и рецепторами, могут участвовать в межклеточной коммуникации, способствовать репрограммированию дифференцированных клеток и активировать ангиогенную программу в покоящихся клетках.

Поскольку обнаружено, что МВ вовлечены в ангиогенез, вызывает интерес возможность их терапевтического применения.

Роль микровезикул в свертывании крови

Впервые МВ обратили на себя внимание именно благодаря участию в свертывании крови. В результате исследования феномена образования тромбина в плазме свободной от тромбоцитов, были открыты ТМВ [1], доля которых достигает 80% от всех циркулирующих микрочастиц в крови человека [19]. Обнаружено, что поверхность ТМВ в 50–100 раз более активна по сравнению с поверхностью тромбоцитов [27].

В свертывании крови также участвуют ЭМВ. Так, при инкубации плазмы с возрастающим количеством ЭМВ наблюдается сокращение времени коагуляции, а также образование тромбина *in vitro* [11].

Причина коагуляционной активности МВ заключается в наличии ФС во внешнем монослое мембраны, так как в процессе свертывания крови взаимодействие и последовательная активация ряда факторов свертывания происходит на отрицательно заряженной фосфолипидной мембране (ФС несет отрицательный заряд), которую, помимо активированных тромбоцитов, предоставляют разные типы МВ [12]. Вместе с тем, в мембранах многих клеток организма, в частности в мембранах лейкоцитов, тромбоцитов и эндотелиальных клеток, а также в мембранах соответствующих типов МВ присутствует интегральный гликопротеин – рецептор фактора свертывания VIIa, называемый тканевым фактором (ТФ), который участвует во внешнем пути инициации свертывания, приводящим к образованию тромбина – центрального фермента системы свертывания [11, 28, 29].

Однако имеются данные, что МВ способны проявлять свойства антикоагулянта. Так, МВ, образованные эндотелиальными клетками или моноцитами в результате индукции активированным протеином С (APC) – известным физиологическим антикоагулянтом – проявляют отрицательное влияние на процесс свертывания крови. При обработке APC происходит его связывание со специфическим рецептором на поверхности клеток, этот комплекс сохраняется и в составе МВ в результате «отпочковывания» от мембраны продуцирующей клетки [30]. Именно APC в составе МВ и проявляет отрицательное влияние на процесс коагуляции, ингибируя факторы свертывания Va и VIIIa [31].

Основываясь на результатах этих исследований, было высказано предположение, что МВ участвуют в регуляции про- и антикоагуляционного равновесия [30]. В целом, МВ защищают от кровотечения, однако их множественное высвобождение может привести к тромботическим осложнениям. Действительно, повышенный уровень прокоагуляционных ЭМВ был обнаружен у пациентов с острым коронарным синдромом [32] и непосредственно в атеросклеротических бляшках [33].

Клиническое значение циркулирующих МВ: роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний

В крови здоровых людей облигатно циркулируют МВ различного происхождения, основная масса приходится на ТМВ, а также эритроцитарные МВ (ЭрМВ), ЛМВ и ЭМВ [4]. Повышение уровня МВ в крови при заболевании человека впервые было показано при тромбоцитопенической пурпуре (болезнь Верльгофа) [34], с тех пор широко исследуется вклад МВ при различных патологических состояниях. Неудивительно, что в первую очередь большинство исследователей заинтересовала роль МВ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.

Существует положительная корреляция между уровнем МВ и тяжестью сердечно-сосудистого заболевания. Вероятно, эти процессы взаимосвязаны, так как установлено, что МВ участвуют в развитии тромбоза, нарушении сосудистой функции, воспалении – основных процессах, вовлеченных в патогенез заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Благодаря участию в свертывании крови, как было отмечено выше, множественное высвобождение МВ может привести к развитию тромбоза. Так, повышенный уровень ТМВ обнаружен у пациентов, перенесших ишемический инсульт [35], с острой тромбоэмболией лёгочной артерии [36], в случае клапанной фибрилляции предсердий, для которой характерен высокий риск развития тромбоэмболического осложнения, их количество увеличено более чем в 3 раза [37]. Повышенный уровень МВ различного происхождения (ТМВ, ЭМВ и моноцитарные МВ) обнаружен у пациентов с тромбозом глубоких вен [38]. У пациентов с высокой степенью стеноза коронарной артерии в 2,5 раза больше количество ЭМВ [39].

Уровень МВ, особенно ЭМВ, повышен также у людей с нарушением сосудистой функции и гипертонией. Признаками нарушения являются ухудшение поток-опосредованного расширения и артериальной эластичности, увеличение скорости распространения пульсовой волны и высокий уровень С-реактивного белка [40]. Установлено, что уровень ЭМВ положительно коррелирует с индексом аугментации (показатель артериальной жесткости) на сонной артерии [41, 42]. В результате, ухудшение артериальной эластичности, ассоциированное с увеличением скорости распространения пульсовой волны, ведет к повреждению эндотелия, что в свою очередь вызывает продукцию ЭМВ, как ответ на стресс. Действительно, у пациентов с декомпенсированной патологией почек, повышенное количество ЭМВ коррелировало с понижением эластичности сосудов и увеличением скорости распространения пульсовой волны [41, 42].

Увеличение количества ЭМВ при гипертонии в основе своей имеет те же причины, что и при эндотелиальном повреждении. Процесс высвобождения МВ эндотелиальными клетками, видимо, крайне чувствителен к изменениям в гемодинамике, так как даже при мягкой гипертонии количество ЭМВ увеличено по сравнению с контрольной группой и растет пропорционально увеличению давления крови [40, 43]. У пациентов с неконтролируемой гипертонией (155/80 мм рт. ст.) уровень ЭМВ в крови был в два раза выше, чем у контрольной группы (120/75 мм рт. ст.), и средний уровень между этими двумя груп-

пами был у пациентов с контролируемой гипертензией [42, 44].

Эндотелиальная дисфункция является одной из причин нестабильности бляшки и последующего развития острого коронарного синдрома [45]. Вероятно, отчасти поэтому количество ЭМВ значительно увеличено у пациентов с острым коронарным синдромом по сравнению с относительно здоровыми людьми [46–48].

Исследования последних лет показали, что многие факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний (курение, гипертензия, диабет) воздействуют именно на эндотелий. Поэтому ЭМВ, как удобные биомаркеры состояния сердечно-сосудистой системы, привлекают к себе все большее внимание исследователей [42]. Н. Кога и соавт. (2005) [49] показали, что уровень ЭМВ является удобоваримым маркером эндотелиальной дисфункции и показателем риска острого коронарного синдрома, даже более чувствительным, чем традиционные методы диагностики.

В этой связи особенно интересным представляется подход к определению количества ЭМВ в комбинации с предшественниками эндотелиальных клеток, соотношение которых способно отразить дисбаланс между процессами повреждения эндотелия и регенерации, что сделает диагностику эндотелиальной дисфункции более точной и информативной [50, 51].

Улучшение состояния при сердечно-сосудистых заболеваниях также выражается в снижении уровня ЭМВ в крови [52], поэтому МВ могут служить показателями успешности лечения, а также — для оценки эффективности новых препаратов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br. J. Haematol.* 1967; 13(3): 269–88.
2. Puddu P., Puddu G.M., Cravero E. et al. The involvement of circulating microparticles in inflammation, coagulation and cardiovascular diseases. *Can. J. Cardiol.* 2010; 26(4): 140–5.
3. Sturk N.R. Cell derived vesicles in health and disease. *Ned. Tijdschr. Klin. Chem. Labgeneesk.* 2012; 37: 65–8.
4. VanWijk M.J., VanBavel E., Sturk A. et al. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc. Res.* 2003; 59(2): 277–87.
5. Hugel B., Martinez M.C., Kunzelmann C. et al. Membrane microparticles: two sides of the coin. *Physiology.* 2005; 20: 22–7.
6. Shai E., Varon D. Development, cell differentiation, angiogenesis-microparticles and their roles in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(1): 10–4.
7. Morel O., Morel N., Freyssinet J.M. et al. Platelet microparticles and vascular cells interactions: a checkpoint between the haemostatic and thrombotic responses. *Platelets* 2008; 19(1): 9–23.
8. Anderson C., Garimella R. Role of extracellular membrane vesicles in the pathogenesis of various diseases, including cancer, renal diseases, atherosclerosis, and arthritis. *Laboratory Investigation* 2010; 90: 1549–57.
9. Chironi G.N., Boulanger C.M., Simon A. et al. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res.* 2009; 335(1): 143–51.
10. Jimenez J.J., Jy W., Mauro L.M. et al. Endothelial cells release phenotypically and quantitatively distinct microparticles in activation and apoptosis. *Thromb. Res.* 2003; 109(4): 175–80.
11. Leroyer A.S., Anfoso F., Lacroix R. et al. Endothelial-derived microparticles: Biological conveyors at the crossroad of inflammation, thrombosis and angiogenesis. *Thromb. Haemost.* 2010; 104(3): 456–63.
12. Morel O., Toti F., Hugel B. et al. Procoagulant microparticles: disrupting the vascular homeostasis equation? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26(12): 2594–604.
13. Tetta C., Bruno S., Fonsato V. et al. The role of microvesicles in tissue repair. *Organogenesis* 2011; 7(2): 105–15.
14. Muralidharan-Chari V., Sedgwick A., D'Souza-Schorey C. Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression. *J. Cell Science* 2010; 123: 1603–11.

Заключение

Благодаря участию в таких фундаментальных процессах как ангиогенез и свертывание крови, нарушение баланса МВ ведет к серьезным последствиям. Помимо указанных выше сердечно-сосудистых нарушений, изменения в количестве определенных типов МВ наблюдали и при гипертриглицеридемии, преэклампсии, антифосфолипидном синдроме, фибрилляции предсердий, заболеваниях периферических артерий, сердечной недостаточности, васкулитах, сахарном диабете и др. [42]. МВ участвуют также в развитии таких патологических состояний как атеросклероз, тромбоз, артрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, периодонтит, неврологические нарушения, а также участвуют в инвазии и метастазировании опухолевых клеток [8, 9]. В этой связи исследование МВ позволит глубже проникнуть в механизмы патофизиологических процессов, что откроет новые возможности в обнаружении на ранних этапах развития и лечении соответствующих заболеваний.

Благодарности

Работа финансировалась ФЦП Министерства образования и науки Российской Федерации № 16.552.11.7083 и грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых докторов наук МД-433.2013.4. Работа частично выполнена на оборудовании Федерального центра коллективного пользования физико-химических исследований веществ и материалов (ФЦКП ФХИ) и Научно образовательного центра фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета.

15. Freyssinet J.M., Toti F. Formation of procoagulant microparticles and properties. *Thromb. Res.* 2010; 125(Suppl 1): 46–8.
16. Manno S., Takakuwa Y., Mohandas N. Identification of a functional role for lipid asymmetry in biological membranes: Phosphatidylserine-skeletal protein interactions modulate membrane stability. *PNAS USA* 2002; 99(4): 1943–8.
17. Daleke D.L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J. Lipid. Res.* 2003; 44(2): 233–42.
18. Morel O., Jesel L., Freyssinet J.M. et al. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011; 31(1): 15–26.
19. Azevedo L. Microparticles and exosomes: are they part of important pathways in sepsis pathophysiology? *Intechopen* 2012; 155–166.
20. Mostefai H.A., Andriantsitohaina R., Martinez M.C. Plasma membrane microparticles in angiogenesis: role in ischemic diseases and in cancer. *Physiol. Res.* 2008; 57(3): 311–20.
21. Lacroix R., Sabatier F., Mialhe A. et al. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells in vitro. *Blood* 2007; 110(7): 2432–9.
22. Mezentsev A., Merks R.M., O'Riordan E. et al. Endothelial microparticles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; 289(3): 1106–14.
23. Mostefai H.A., Agouni A., Carusio N. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase and xanthine oxidase regulate nitric oxide and reactive oxygen species productions by apoptotic lymphocyte microparticles in endothelial cells. *J. Immunol.* 2008; 180(7): 5028–35.
24. Kim H.K., Song K.S., Chung J.H. et al. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. *Br. J. Haematol.* 2004; 124(3): 376–84.
25. Yang C., Mwaikambo B.R., Zhu T. et al. Lymphocytic microparticles inhibit angiogenesis by stimulating oxidative stress and negatively regulating VEGF-induced pathways. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008; 294(2): 467–76.
26. Derogibus M.C., Cantaluppi V., Calogero R. et al. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood* 2007; 110(7): 2440–8.

27. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y. et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb. Haemost.* 2007; 97(3): 425–34.
28. Biro E., Sturk-Maquelin K.N., Vogel G.M. et al. Human cell-derived microparticles promote thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(12): 2561–8.
29. Shet A.S., Aras O., Gupta K. et al. Sickle blood contains tissue factor-positive microparticles derived from endothelial cells and monocytes. *Blood* 2003; 102(7): 2678–83.
30. Perez-Casal M., Downey C., Cutillas-Moreno B. et al. Microparticle-associated endothelial protein C receptor and the induction of cytoprotective and anti-inflammatory effects. *Haematologica* 2009; 94(3): 387–94.
31. Esmon C.T. The protein C pathway. *Chest* 2003; 124(3 Suppl): 26–32.
32. Mallat Z., Benamer H., Hugel B., et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000; 101(8): 841–3.
33. Leroyer A.S., Isobe H., Leseche G. et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 49(7): 772–7.
34. Kahn I Z.-F.D., Karpatkin S. Microthrombocytosis and platelet fragmentation associated with idiopathic/autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br. J. Haematol.* 1975; 31: 449–60.
35. Cherian P., Hankey G.J., Eikelboom J.W. et al. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. *Stroke* 2003; 34(9): 2132–7.
36. Bal L., Ederhy S., Di Angelantonio E. et al. Circulating procoagulant microparticles in acute pulmonary embolism: a case-control study. *Int. J. Cardiol.* 2010; 145(2): 321–2.
37. Azzam H., Zagloul M. Elevated platelet microparticle levels in valvular atrial fibrillation. *Hematology* 2009; 14(6): 357–60.
38. Flores-Nascimento M.C., Beltrame M.P., De Paula E.V. et al. Microparticles in deep venous thrombosis, antiphospholipid syndrome and Factor V Leiden. *Platelets* 2009; 20(6): 367–75.
39. Bernal-Mizrachi L., Jy W., Fierro C. et al. Endothelial microparticles correlate with high-risk angiographic lesions in acute coronary syndromes. *Int. J. Cardiol.* 2004; 97(3): 439–46.
40. Shantsila E., Kamphuisen P.W., Lip G.Y. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8(11): 2358–68.
41. Amabile N., Guerin A.P., Leroyer A. et al. Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16(11): 3381–8.
42. Viera A.J., Mooberry M., Key N.S. Microparticles in cardiovascular disease pathophysiology and outcomes. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2012; 6(4): 243–52.
43. Huang P.H., Huang S.S., Chen Y.H. et al. Increased circulating CD31⁺/annexin V⁺ apoptotic microparticles and decreased circulating endothelial progenitor cell levels in hypertensive patients with microalbuminuria. *J. Hypertens.* 2010; 28(8): 1655–65.
44. Wang J.M., Su C., Wang Y. et al. Elevated circulating endothelial microparticles and brachial-ankle pulse wave velocity in well-controlled hypertensive patients. *J. Hum. Hypertens.* 2009; 23(5): 307–15.
45. Naghavi M., Libby P., Falk E. et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003; 108(14): 1664–72.
46. Bulut D., Maier K., Bulut-Streich N. et al. Circulating endothelial microparticles correlate inversely with endothelial function in patients with ischemic left ventricular dysfunction. *J. Card. Fail.* 2008; 14(4): 336–40.
47. van der Zee P.M., Biro E., Ko Y. et al. P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction. *Clin. Chem.* 2006; 52(4): 657–64.
48. Bernal-Mizrachi L., Jy W., Jimenez J.J. et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am. Heart J.* 2003; 145(6): 962–70.
49. Koga H., Sugiyama S., Kugiyama K. et al. Elevated levels of VE-cadherin-positive endothelial microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45(10): 1622–30.
50. Sabatier F., Camoin-Jau L., Anfosso F. et al. Circulating endothelial cells, microparticles and progenitors: key players towards the definition of vascular competence. *J. Cell. Mol. Med.* 2009; 13(3): 454–71.
51. Pirro M., Schillaci G., Paltriccia R. et al. Increased ratio of CD31⁺/CD42⁻ microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26(11): 2530–5.
52. Wang J.M., Yang Z., Xu M.G. et al. Berberine-induced decline in circulating CD31⁺/CD42⁻ microparticles is associated with improvement of endothelial function in humans. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 614(1-3): 77–83.

Поступила 07.09.2012