

## ОБЗОРЫ

# Мембранные микровезикулы: биологические свойства и участие в патогенезе заболеваний

М.О. Гомзикова<sup>1</sup>, Р.Ф. Гайфуллина<sup>1</sup>, И.Г. Мустафин<sup>2</sup>, В.М. Чернов<sup>3</sup>,  
З.Р. Мифтахова<sup>2</sup>, А.С. Галевич<sup>2</sup>, А.А. Ризванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

<sup>2</sup> Казанский государственный медицинский университет, Казань

<sup>3</sup> Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

### Membrane microvesicles: biological properties and involvement in pathogenesis of diseases

M.O. Gomzikova<sup>1</sup>, R.F. Gaifullina<sup>1</sup>, I.G. Mustafin<sup>2</sup>, V.M. Chernov<sup>3</sup>, Z.R. Miftahova<sup>2</sup>, A.S. Galyavich<sup>2</sup>, A.A. Rizvanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

<sup>2</sup> Kazan State Medical University, Kazan

<sup>3</sup> 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-

Microvesicles (MV) — membrane vesicles, which are released from surface of cells under normal conditions as well as in response to stimulation or destruction of cells (platelets, erythrocytes, leukocytes, endothelial cells, transformed cells, etc.). For a long time it was believed that MV do not play a significant role and were considered to be inert «waste», released by cells during their life, but accumulating evidence indicates the important role of MV in different physiological and pathological processes. To date, the databases PUBMED, OMIM and GENE accumulated a large number of publications devoted to the study of the ability of microvesicles to carry a variety of biologically active substances (lipids, proteins, nucleic acids, etc), the use of microvesicles as diagnostic markers and the influence of membrane microvesicles on the development of various diseases.

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

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,

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

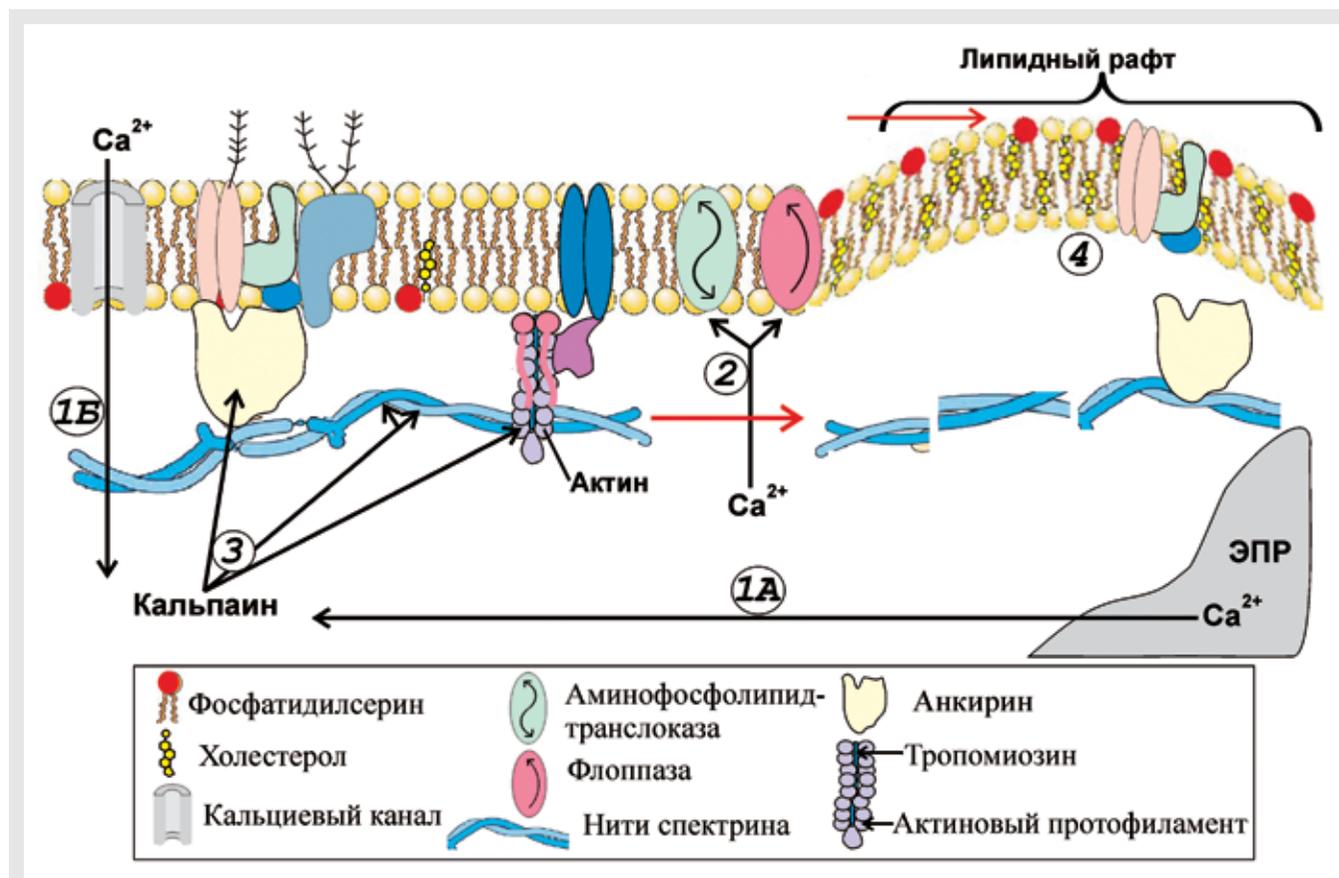


Рис. 1. Механизм высвобождения МВ:

1 — увеличение концентрации ионов кальция в клетке;

А — быстрое кратковременное агонист-индуцированное высвобождение ионов кальция из Ca<sup>2+</sup>-депо, представленных эндоплазматическим ретикулулом (ЭПР);

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

2 — активация флоппазы 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  $\text{Ca}^{2+}$ -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  $\text{Ca}^{2+}$  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- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), 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 $\beta$  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<sup>+</sup>/annexin V<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>/CD42<sup>-</sup> 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<sup>+</sup>/CD42<sup>-</sup> microparticles is associated with improvement of endothelial function in humans. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 614(1-3): 77–83.

Поступила 07.09.2012