

УДК: 611.018.52
doi:

Микрочастицы тромбоцитов: образование и свойства

Кубатиев А.А.¹, Боровая Т.Г.², Жуховицкий В.Г.², Адреевская С.Г.², Шевлягина Н.В.²

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России», 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Статья является обзорной, содержит информацию об образовании и свойствах микрочастиц тромбоцитов, их роли в физиологических процессах организма и патогенезе заболеваний. Рассматриваются механизмы ремоделирования плазмолеммы и цитоскелета тромбоцитов в ходе формирования микрочастиц, приводятся фенотипические особенности микрочастиц и их значение как молекулярных трансмиттеров и активаторов сигнальных путей в клетках-мишенях. Представлена информация об участии микрочастиц в патогенезе заболеваний, сопровождающихся тромбообразованием, в регуляции ангиогенеза и метастазировании опухолей. Рассматривается влияние микрочастиц тромбоцитов на факторы воспаления и потенциальная роль микрочастиц в патогенезе инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: тромбоциты, микрочастицы, ангиогенез, канцерогенез, воспаление.

Для цитирования: Кубатиев А.А., Боровая Т.Г., В.Г. Жуховицкий Т.Г., Адреевская С.Г., Шевлягина Н.В. Микрочастицы тромбоцитов: образование и свойства. Патогенез. 2017; 15(2): 4–13.

Для корреспонденции: Боровая Татьяна Геннадьевна, докт. мед. наук, профессор, член-корр. РАН, главн. научн. сотр., e-mail: tbor27@yandex.ru, тел. +7-(499)-193-30-40

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.01.2017

Platelet Microparticles: Formation and Properties

Kubatiev A.A.¹, Borovaya T.G.², Zhukhovitsky V.G.², Adreevskaya S.G.², Shevlyagina N.V.²

¹ «Research Institute of General Pathology and Pathophysiology», 125315, ul. Baltiyskaya 8, Moscow, Russian Federation

² «Scientific Research Center for Epidemiology and Microbiology named after. Honorary Academician N.F. Gamalei of the Ministry of Health of Russia», 123098, Moscow, ul. Gamalei 18, Moscow, Russian Federation

This article is a review that contains information about the formation and properties of microparticles of platelets, about their role in the physiological processes of the organism and pathogenesis of the disease. Are considered: mechanisms of remodeling plasmalemma and platelet cytoskeleton during formation of microparticles, the phenotypic features of microparticles and their role as molecular transmitters and activators of signaling pathways in target cells. Presents information on the involvement of microparticles in the pathogenesis of diseases associated with thrombus formation, in the regulation of angiogenesis and metastasis of tumors. Discusses the influence of platelet microparticles on inflammation factors and the potential role of microparticles in the pathogenesis of infectious diseases.

Key words: platelets, microparticles, remodeling, plasmalemma, angiogenesis, metastasis of tumors.

For citation: Kubatiev A.A., Borovaya T.G., Zhukhovitsky V.G., Adreevskaya S.G., Shevlyagina N.V. Platelet microparticles: formation and properties. Pathogenesis. 2017; 15(2): 4–13 (In Russian).

For correspondence: Borovaya Tatyana Gennadievna, doctor of medical sciences, professor, corresponding member. RAS. E-mail: tbor27@yandex.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 20.01.2017

Общая характеристика и механизм образования микрочастиц

Образование микрочастиц (микровезикул) является неотъемлемым проявлением жизнедеятельности клеток и происходит как «in vivo», так и «in vitro». В организме человека микрочастицы образуют (отшнуровывают) практически все типы клеток в результате блебинга плазматической мембраны (от англ. Bleb — волдырь). В совокупности все микрочастицы, присутствующие в организме, представляют собой гетерогенную популяцию мелких ограниченных мембраной везикул-производных разных

типов клеток [5], образование которых стимулируется действием патогенов, стресса, разного рода повреждений и прочих неблагоприятных факторов [117]. Наиболее активная продукция микрочастиц свойственна форменным элементам крови: тромбоцитам, нейтрофилам, моноцитам, Т-лимфоцитам, а также эндотелиальным и гладкомышечным клеткам сосудов [3, 4, 96]. В отличие от прежних представлений о микрочастицах как инертных «осколках» клеток, результаты исследований последних десятилетий указывают на их важную роль как в физиологических процессах организма, так и в развитии патоло-

гии. Особое внимание направлено на изучение микрочастиц форменных элементов крови и клеток сосудистых оболочек, поскольку практически все ткани организма человека имеют в своем составе сосуды и функции микрочастиц-производных названных клеток могут представлять собой новый путь трансцеллюлярной сигнализации в паравазальных регионах тканей [5].

Мембраны микрочастиц состоят в основном из липидных молекул и разных количеств белка и имеют в своем составе антигенные маркеры «родительских» клеток — микро-РНК, рецепторные белки, ферменты и др. [62, 83], хотя в целом фенотип микрочастиц во многом зависит от характера стимуляторных влияний, вызвавших их образование [3, 4, 5, 85, 86]. По причине необычайно мелких размеров микрочастиц — от 30 до 300 нм (что значительно меньше длины волны солнечного света), их идентификация и подробное изучение достаточно затруднительны [49].

Образование микрочастиц происходит в результате ремоделирования плазматической мембраны клетки, в ходе которого теряется асимметричное распределение конститутивных фосфолипидов в бислое. Это происходит в определенных участках плазмалеммы, которые носят название липидные рафты, — микродомены мембраны, обогащенные и более плотно структурированные по сравнению с рядом расположенными участками [91]. Обычно формирование микрочастиц начинается вскоре после добавления к клетке агониста и является кальций-зависимым процессом, который может быть блокирован хелатами кальция. Одной из молекул, регулирующих образование микрочастиц, считается кальпаин-мю (англ. calpain μ), который представляет собой кальций-зависимую цитозольную протеазу, расщепляющую белки цитоскелета: таллин и альфа-актин. Ингибирование кальпаина кальпептином или хелатами кальция предотвращает высвобождение микрочастиц [3, 4]. Возрастание концентрации катионов кальция в клетке приводит к активированию киназы легкой цепи миозина и параллельному ингибированию фосфатазы. Эти изменения ферментной активности совместно с активацией кальпаина отвечают за изменения цитоскелета при блебинге, который жестко зависит от микрофиламентов актина [22, 31, 39, 126]. С участием АТФ-азы стимулируется сокращение миозина [3, 4] и возникает «натяжение» плазматической мембраны, приводящее к разобщению ее связи с цитоскелетом и образованию плазмолеммальных пузырей с последующей отшнуровкой микрочастиц. Физиологическое асимметричное расположение липидов в биомембранах поддерживают ферменты, обеспечивающие переходы липидных молекул из одного слоя в другой [32, 78]. В процессе образования микрочастиц эта асимметрия исчезает вследствие перемещения отрицательно заряженных молекул фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина в наружный слой мембраны. В норме эти липиды сегрегированы во внутреннем слое плазмалеммы, в то время как наружный слой обогащен фосфатидилхолином и сфингомиелином и такое распределение фосфолипидов поддерживается тремя ферментами. Это так называемая «внутри направляющая» помпа — флиппаза (или аминофосфолипид-транслоказа), специфическая для фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина; и «наружу направляющая помпа», или фермент флоппаза. В регуляции физиологического перехода липидных молекул участвует также липидная скрамблаза, производящая неспецифиче-

ское бинаправленное распределение липидов в бислое фосфолипидов плазмалеммы. Увеличение содержания кальция после стимуляции клетки (помимо влияния на цитоскелет) приводит к «коллапсу» мембранной асимметрии путем стимуляции активности скрамблазы и флоппазы при сопутствующем ингибировании флиппазы [89]. Таким образом, утрата плазматической мембраной свойства асимметрии совместно с разрывом морфофункциональной связи плазмалеммы и цитоскелета реализуются в отшнуровке микрочастиц от плазмалеммы [5, 89]. Что касается микрочастиц тромбоцитов, то возрастание предствительства фосфатидилсерина в наружном слое плазмалеммы, возникающее при перемещении липидных молекул, повышает также прокоагуляционные способности формирующихся микрочастиц, поскольку молекулы фосфатидилсерина являются эффективными сайтами активации факторов коагуляции [3, 4].

Микрочастицы: производные тромбоцитов и мегакриоцитов

Среди всех микрочастиц, находящихся в крови, микрочастицы тромбоцитов являются наиболее многочисленными [38] — составляют около 70—90% от общего числа таковых. По сравнению с тромбоцитами, которые имеют среднюю продолжительность жизни около 10 суток, длительность существования тромбоцитарных микрочастиц измеряется минутами [40], при этом остается неясным, каким образом микрочастицы удаляются из циркуляции. Вероятно, что количественное содержание микрочастиц в крови отражает состояние баланса между их образованием и утилизацией [2]. При различных патологических состояниях этот баланс нарушается и в крови регистрируется увеличение содержания тромбоцитарных микрочастиц, вызванное «хронической активацией» тромбоцитов [115]. Микрочастицы тромбоцитов гетерогенны, характеризуются присутствием или отсутствием митохондрий [79] и варьированием размеров. По величине размеров они разделены на классы [34]: меньшие из микрочастиц являются практически альфа-гранулами, а большие представляют собой частицы, отшнурованные от плазматической мембраны тромбоцитов. Ключевые белковые компоненты тромбоцитарных микрочастиц идентифицированы с помощью электронной иммуноцитохимии, жидкостной цитометрии и масспектрометрии [48, 65, 98]. Белки крупных микрочастиц тромбоцитов представлены $\alpha_2\beta_3$ -интегрином, гликопротеином-1b, молекулами PСAM, P-селектина и прочими белками плазматической мембраны [35]. Природа белков более мелких тромбоцитарных микрочастиц, которые были идентифицированы с помощью масспектрометрии, соответствует белковым компонентам альфа-гранул, митохондрий и цитозоля [48, 65, 98]. Примечательно, что микрочастицы разных классов значительно отличаются по содержанию ростовых факторов, хемокинов и рецепторов плазмолеммы.

Впервые микрочастицы были выявлены более сорока лет назад, но фундаментальные вопросы, связанные с их образованием и ролью в организме человека, лишь начинают проясняться [61].

Полученные из плазмы крови микрочастицы впервые были идентифицированы как некая «активность», поддерживающая образование тромбина в обедненной (или

очищенной) от тромбоцитов плазме крови. Эти микро-частицы получили название «тромбоцитарная пыль» [61, 129]. Последующие исследования с применением метода иммуноцитохимического маркирования показали, что выделенные из плазмы крови микро-частицы имеют разные поверхностные антигены и, соответственно, происходят не только из тромбоцитов, но и лейкоцитов, эндотелиоцитов, эритроцитов. Специфическими антигенами для тромбоцитарных микро-частиц оказались CD41 и CD42b антигены [45, 46]. CD41-позитивные (CD41+) микро-частицы тромбоцитов имеют в диаметре менее одного микрона и, как правило, экспрессируют на своей внешней поверхности анионные фосфолипиды. Последние создают отрицательно заряженную область, формирующую электростатические связи (полярные и неполярные) с катионными участками пептидов, расположенных вблизи мембраны. Микро-частицы легко образуются после активации тромбоцитов такими физиологическими тромбоцитарными агонистами, как тромбин и коллаген, или нефизиологическими агонистами, например, ионофором кальция. Формирование тромбоцитарных микро-частиц наблюдается при воздействии на тромбоциты C5b-9 белка комплемента [128] и факторов индукции апоптоза [109]. Микро-частицы, иммуноцитохимически маркирующиеся анти-CD41 и анти-CD42b антителами, имеются в достаточном количестве в крови и у здоровых лиц, чьи тромбоциты не экспрессируют маркеров активации. Проведенная в ряде исследований оценка «скорости выведения» микро-частиц из циркуляции указывает, что последние удаляются из крови достаточно быстро [40, 61, 101]. Это говорит о том, что в норме микро-частицы постоянно воспроизводятся из тромбоцитов для поддержания их определенной концентрации в плазме крови. Альтернативная возможность пополнения CD41+ микро-частиц заключается в перманентной отшнуровке микро-частиц от мегакариоцитов — родительских клеток тромбоцитов. Еще в 90-х годах прошлого столетия появились сведения [29], что культивируемые мегакариоциты человека, полученные от CD34+ и CD38+ клеток костного мозга, образуют микро-частицы. Зарегистрированные методом проточной цитометрии, эти частицы размером 0,1–0,3 мкм в диаметре, экспрессировали специфический белок тромбоцитов — аPb β 3. Позднее с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии была выявлена отшнуровка микро-частиц в культуре мышинных мегакариоцитов [41]. Они выглядели как субмикронные «бусины» вдоль тонких отростков мегакариоцитов. Ингибирование полимеризации актина — одного из ключевых белков цитоскелета, как и стимулирование его деполимеризации, приводили к дополнительной продукции микро-частиц мегакариоцитами.

Таким образом, CD41+ микро-частицы, циркулирующие в крови, предположительно представлены двумя популяциями: производными тромбоцитов (тромбоцитарные микро-частицы) и мегакариоцитов (мегакариоцитарные микро-частицы). При сходстве в содержании маркера CD41, эти популяции различаются по содержанию других белковых факторов. Так, Flaumenhaft R. et al. (2009), изучая микро-частицы, полученные из мышинных тромбоцитов активированных в культуре, выявили в них экспрессию белков CD62P, CD63+ и LAMP-1, а в микро-частицах, полученных из культивируемых мышинных мегакариоцитов, аналогичная экспрессия отсутствовала [41, 61].

Оказалось, что мегакариоцитарные частицы и микро-частицы, изолированные из плазмы крови мышей, проявляли одинаково низкий уровень экспрессии CD62P и LAMP-1 и содержали белок филамин-А, связывающий GPIb α -гликопротеин плазмолеммы с актиновыми филаментами цитоскелета, в то время как в активированных тромбоцитах филамин-А расщеплялся и в тромбоцитарных микро-частицах не обнаруживался [41]. Сопоставление результатов исследований позволило прийти к заключению, что большинство циркулирующих в крови CD41+ микро-частиц по спектру своего иммуноцитохимического маркирования более близки к микро-частицам мегакариоцитарной (нежели тромбоцитарной) природы. Дополнительные доказательства того, что циркулирующие микро-частицы могут быть получены непосредственно из мегакариоцитов, происходят и из результатов клинических наблюдений. Так, в исследованиях случаев инфаркта миокарда и заболеваний периферических сосудов, сопровождающихся тромбозом, приводятся данные о закономерном для этих состояний увеличении числа CD62P+ и CD63+ микро-частиц в крови пациентов на фоне неизменной численности CD41+ микро-частиц. Это позволило предположить, что циркулирующие CD41+ микро-частицы имеют мегакариоцитарное происхождение [121]. С результатами приведенных исследований согласуются данные Flaumenhaft R. et al. (2009) [41] о том, что большинство циркулирующих в плазме крови здоровых людей микро-частиц являются CD62-отрицательными и содержат «полнометражный» филамин А, что указывает на их мегакариоцитарный источник.

Свойства и функции микро-частиц — производных тромбоцитов и мегакариоцитов

Результаты проведенных исследований позволили всесторонне изучить ранее не известные свойства микро-частиц производных тромбоцитов и мегакариоцитов и раскрыть широкий спектр их влияния на клетку организма. Это: доставка биологически активных соединений различным типам клеток, участие в регуляции ангиогенеза и реактивных изменений сосудов, в развитии воспаления и метастазировании опухолей, в иммунных ответах и патогенезе инфекционных заболеваний, в стимулировании экспрессии адгезионных молекул, регуляции коммуникативных взаимодействий клеток и др. [8, 68]. Так, стало известно, что микро-частицы тромбоцитов могут экспрессировать и транспортировать к клеткам разных типов рецепторы тромбоцитарной мембраны — Pb-IIIa (GPIIb-IIIa) и P-селектин [74]. Janowska-Wieczorek et al. (2001) сообщили, что гемопоэтические стволовые/прогениторные клетки, после взаимодействия с микро-частицами-производными мегакариоцитов, начинают экспрессировать новые рецепторные белки, которые специфичны для тромбоцитов: CXCR4, CD41, CD62, PAR-1. Эти же авторы обнаружили, что мегакариоцитарные микро-частицы облегчают приживание клеток-предшественников, сообщив, таким образом, о новой ранее не известной роли микро-частиц в трансплантации стволовых клеток и о перспективе использования микро-частиц в трансплантологии [63]. Микро-частицы из активированных тромбоцитов способны передавать рецепторные белки мембранам как здоровых, так и опухолевых клеток. По отношению к клеткам опухолей это свойство микро-частиц, изме-

няющее метаболический статус клеток, несомненно, найдёт применение в будущем как один из приемов борьбы с онкологическими заболеваниями. Показано, что возможна не только пассивная передача микрочастицами различных белков другим клеткам, но и передача с участием хемоаттрактантов [8]. При взаимодействии с клетками микрочастицы тромбоцитов активируют внутриклеточные сигнальные пути: ERK — один из ключевых в передаче регуляторных сигналов; сигнальный путь PI3-kinase/Akt, действующий в регуляции биосинтезов, пролиферации и переживания клеток в целом; а также STAT-белки, осуществляющие трансдукцию молекулярных сигналов и участвующие в транскрипции. Воздействие микрочастиц тромбоцитов на молекулярные механизмы сигнальных путей нарушаются при действии тепла и фермента трипсина, что предполагает участие в реализации этих воздействий (помимо белковых компонентов) липидных молекул микрочастиц [61]. Микрочастицы могут влиять на клетки-мишени либо путем непосредственного стимулирования лигандов, экспрессируемых на поверхности клеток [8, 87], либо путем передачи поверхностных рецепторов от одной клетки к другой [76, 104]. Растет совокупность доказательств, что после присоединения или слияния с клетками-мишенями, микрочастицы передают этим клеткам-реципиентам цитоплазматические белки и микро-РНК, полученные от своих родителей (тромбоцитов и мегакариоцитов) и принимающие участие в и посттранскрипционной [103]. Процесс передачи этих молекул может происходить по механизму рецептор-лигандного взаимодействия или посредством эндоцитоза содержимого микрочастиц клетками-реципиентами [27, 36, 102]. В качестве последствия взаимодействия микрочастиц с потенциальными клетками-мишенями представляется реальной возможность «перепрограммирования» клеток-мишеней с участием «тромбоцитарной пыли». На правомочность такого предположения указывают результаты опытов Ratajczak et al. (2006), в которых приводятся доказательства участия микрочастиц из эмбриональных стволовых клеток в перепрограммировании гемопоэтических прогениторных клеток путем переноса микроРНК и белков [104]. В исследованиях [37] показано, что микрочастицы из эндотелиальных прогениторных клеток иницируют ангиогенез как «in vitro», так и «in vivo» путем переноса микроРНК эндотелиальным клеткам микроциркуляторных, а также более крупных сосудов. Могут ли тромбоцитарные и мегакариоцитарные микрочастицы работать в качестве функциональных мессенджеров генетической информации, пока неясно, хотя недавнее выявление экспрессии микроРНК в микрочастицах плазмы здоровых людей свидетельствуют в пользу такой возможности [59]. Hunter M.P. et al. (2008) обнаружили существенные различия в экспрессии микроРНК между тромбоцитами, мононуклеарами периферической крови и CD41+ микрочастицами плазмы крови человека [59].

Естественно, что первой из идентифицированных функций тромбоцитарных и мегакариоцитарных микрочастиц явилось участие в процессе коагуляции. Если полагаться на результаты опытов Sinauridze E.I. et al. (2007), то потенциал этой функции у микрочастиц необычайно высок. Авторы, используя несколько моделей «in vitro», провели сравнительное изучение прокоагуляционных свойств тромбоцитов, активированных ионофором кальция A23187, и микрочастиц тромбоцитов. Методом про-

точной цитометрии определялись поверхностная плотность фосфатидилсерина, CD61, CD62P и фактора X на единицу площади поверхности микрочастиц и тромбоцитов. Для микрочастиц показатели плотности указанных факторов оказались соответственно в 2,7, 8,4, 4,3 и в 13 раз выше, чем для активированных тромбоцитов [112]. Более того, прокоагуляционный потенциал одной микрочастицы был практически равен таковому у отдельного активированного тромбоцита, несмотря на колоссальную разницу в площадях поверхности сравниваемых объектов. Это говорит о том, что прокоагуляционная поверхность тромбоцитарной микрочастицы существенно выше, чем поверхность активированного тромбоцита, что связано с высокой концентрацией фосфатидилсерина и отрицательным зарядом, которые необходимы для активации факторов свертывания крови [88]. В мембранах тромбоцитарных микрочастиц (как и тромбоцитов) присутствует интегральный гликопротеин — рецептор фактора свертывания VIIa, именуемый тканевым фактором, который участвует в образовании тромбина — центрального участника процесса свертывания крови [13, 73, 90, 110]. Полагают, что, поскольку мРНК тканевого фактора в мегакариоцитах не идентифицируется, этот фактор, присутствующий в тромбоцитах и в их микрочастицах, происходит из клеток других линий и инкорпорируется в тромбоциты при трансцеллюлярном обмене [107]. Verckmans et al. (2001) показали, что CD41+ микрочастицы способствуют генерации небольших количеств тромбина даже при наличии ингибиторных антител к тканевому фактору и фактору FVII, предположив, что низкая степень генерации тромбина у здоровых лиц может способствовать активации С-протеина и проявлению его антикоагуляционного эффекта [11]. Тромбоцитарные микрочастицы имеют также сайты связывания активированных факторов V, VIIa и IXa [14, 111]. Hu Q. et al (2016) провели сравнительное изучение композиции липидов тромбоцитов и их микрочастиц у больных раком яичников и здоровых субъектов [56], полагая, что билипидный слой мембран тромбоцитов и тромбоцитарных микрочастиц может обеспечить некую «биологическую платформу» для сбора белков коагуляции и генерации тромбообразования [97]. Было обнаружено, что у больных раком яичников присутствует измененный профиль прокоагуляционных липидов у тромбоцитов и соответствующих микрочастиц и это играет роль в возрастании риска венозного тромбоза при раке. Одним из слагаемых тромбообразования при действии микрочастиц тромбоцитов на эндотелий сосудов являются реактивные изменения эндотелия и передача эндотелиоцитам прекурсора тромбоксана — арахидоновой кислоты [9, 99]. Ранее было доказано, что тромбоцитарные микрочастицы, помимо взаимодействия с клетками эндотелия, участвуют в адгезии тромбоцитов к субэндотелию, благодаря наличию в составе их мембран коллаген-связывающих рецепторных белков [81]. Высокие концентрации циркулирующих тромбоцитарных микрочастиц (ранжирование от 3,000—11,000/ μ L) зарегистрированы у пациентов с острой коронарной недостаточностью [12, 30, 47], инсультом [71], на ранней стадии кальцификации коронарных артерий в период менопаузы, при цереброваскулярных нарушениях [25]. Операция стентирования, предпринимаемая при лечении коронарного атеросклероза сопровождается увеличением высвобождения тромбоцитарных микрочастиц [53]. В 2008 году Michelsen

et al. зафиксировали повышение уровня тромбоцитарных микрочастиц у лиц, выживших после перенесенного инфаркта миокарда [84] и сегодня практически все имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о существовании прямой связи между содержанием в крови «крупных микрочастиц» тромбоцитов и комплексом «тромбин-антитромбин» в плазме крови у больных инфарктом миокарда. Во многих исследованиях отмечена положительная корреляция между количеством микрочастиц тромбоцитов в крови и тяжестью сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся тромбозом или потенциально опасных в плане развития тромбоза [7, 23]. При фибрилляции предсердий, например, для которой характерен высокий риск тромбоэмболических осложнений, количество микрочастиц тромбоцитов увеличивается более чем в 3 раза [6]. Повышенный уровень микрочастиц различного происхождения, в том числе, тромбоцитарных, обнаружен у лиц с тромбозом глубоких вен [42]. И, напротив, дефект Кастамана, связанный с тенденцией к кровотечениям, как и синдром Скотта, выражающийся в геморрагическом диатезе, характеризуются дефицитом образования тромбоцитарных микрочастиц [19, 20]. Тромбоцитарные микрочастицы могут служить биомаркером тяжести течения вазо-окклюзионной фенотип-связанной серповидноклеточной анемии [92].

На важную роль тромбоцитарных микрочастиц в развитии кровеносных сосудов одними из первых указали Kim et al. (2004) [68]. Они сообщили, что тромбоцитарные микрочастицы способствуют пролиферации эндотелиальных клеток и этот эффект опосредован согласованными действиями факторов роста, содержащихся в микрочастицах (VEGF, FGF-2), а также липидного компонента микрочастиц, вероятнее всего, — сфингозин-1-фосфата. Последний предположительно является посредником антиапоптотических и хемотаксических эффектов микрочастиц на эндотелиоциты и, соответственно, посредником индуцированного микрочастицами формирования сосудистых трубок. Проангиогенный эффект тромбоцитов и их микрочастиц ставит вопрос о конкретизации механизма этого влияния, поскольку в тромбоцитарных альфа-гранулах присутствуют как ингибиторы ангиогенеза, так и его активаторы. Один из возможных ответов на этот вопрос предложен Italiano J.E. Jr et al. (2008), обнаружившими, что цитокины с разным эффектом на васкулогенез располагаются в разных гранулах микрочастиц [60]. В дальнейшем предположение этих авторов было подтверждено исследованиями другой группы ученых, которые, используя методы электронной томографии и 3D анализа, зарегистрировали морфологическую гетерогенность популяции альфа-гранул: в микрочастицах, наряду с гранулами обычной сферической формы, были найдены длинные изогнутые структуры (подобия «нитей»), соединенные сферическими доменами и представляющие собой особую форму альфа-гранул [119]. Brill A. et al (2005) в параллельных опытах «in vitro» и «in vivo» показали, что ангиогенное действие тромбоцитарных микрочастиц сравнимо с таковым у тромбоцитов [17]. Интрамиокардиальные инъекции микрочастиц тромбоцитов, произведенные VanWijk M.J. et al. (2003) и Brill A. et al. (2005) на модели экспериментально вызванной ишемии миокарда, заметно стимулировали увеличение количества и размеров новообразованных капилляров [17, 120]. Микрочастицы рассматриваются также и как вероятные посредни-

ки в проангиогенных эффектах самих тромбоцитов, поскольку секретируемые тромбоцитами ангиогенные молекулы, которые традиционно считаются растворимыми, в действительности могут быть связаны с микрочастицами или входить в их состав [55]. Prokopi M. et al. (2009) было продемонстрировано влияние тромбоцитарных микрочастиц на ангиогенную активность эндотелиальных прогениторных клеток в культуре [100]: удаление микрочастиц из специальной по своему составу среды (путем фильтрации или ультрацентрифугирования) существенно ослабляло проангиогенный эффект данной среды. Помимо этого, экспериментально было доказано, что тромбоцитарные микрочастицы могут модулировать сосудистый тонус, влияя на продукцию тромбоксана-A₂ в легочной артерии [99]. Потенциальное ангиогенное действие микрочастиц изучалось и в модели инсульта [51]. Авторами было высказано мнение, что скорость регенерации ткани мозга, помимо активации стволовыми клетками, можно стимулировать добавлением в ишемизированные участки тромбоцитов или их микрочастиц. Чтобы рассмотреть возможные лечебные эффекты, Vagon D et al. (2012) вводили в боковые желудочки мозга крыс после перманентной окклюзии средней мозговой артерии раздельно: плазм, обедненную тромбоцитами и фактором-2 роста фибробластов, тромбоцитарные микрочастицы и тромбоцитарный лизат. Тромбоциты и тромбоцитарные микрочастицы значительно стимулировали пролиферацию стволовых клеток и ангиогенез в субвентрикулярной зоне и в зоне разрушения мозга. Размеры поражения мозга значительно сокращались у животных, получавших тромбоцитарный лизат, обладающий дополнительным нейропротекторным и индуцирующим ангиогенез эффектами, и потому значительно уменьшающий поведенческие дефекты, возникающие после ишемии мозга [123].

Как показали исследования Mause S.F. et al. (2010), тромбоцитарные микрочастицы способны модулировать функциональные свойства эндотелиальных прогениторных клеток и имеют решающее значение в реализации их регенераторного потенциала: добавление тромбоцитарных микрочастиц к культуре этих клеток повышало экспрессию в них маркерных белков зрелых эндотелиоцитов и способствовало межклеточной адгезии. Помимо этого, экспозиция эндотелиальных прогениторных клеток с микрочастицами тромбоцитов стимулировала миграцию, дифференциацию и высвобождение эндотелиальными прогениторными клетками ангиогенных факторов [80]. В более ранних работах [68] сообщалось, что обработка эндотелиальных клеток тромбоцитарными микрочастицами «in vitro» приводит к переживанию эндотелиоцитов, активации их миграции и формированию тубулярных структур — предшественников сосудов. Влияния тромбоцитарных микрочастиц не ограничиваются эндотелием — они способствуют пролиферации гладких миоцитов (например, в коронарных артериях) и, как показано в опытах Weber A. et al. (2000), механизм этого действия независим от фактора роста тромбоцитов [127]. Chiropi et al. в 2009 году зарегистрировали, что диаметр внутренних и наружных сонных артерий отрицательно коррелирует с количеством микрочастиц тромбоцитов, эндотелиоцитов и лейкоцитов в крови [24], однако предложенная этими авторами заявка на возможное участие микрочастиц в ремоделировании артерий остается пока не подтвержденной.

Другие аспекты участия микрочастиц тромбоцитов в развитии патологии

По мере исследования микрочастиц тромбоцитов появляется все больше доказательств важной роли этих субмикронных фрагментов в развитии патологии [11, 20, 54, 66, 130] и параллельно предметом активного рассмотрения становится оценка тромбоцитарных микрочастиц с позиции потенциальных диагностических и прогностических маркеров при ряде заболеваний [75]. Повышенные уровни тромбоцитарных микрочастиц в крови регистрируются при многих патологических состояниях, включая гепарин-индуцированную тромбоцитопению [58, 61], артериальный тромбоз [72, 77], идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, тромбоцитическую тромбоцитопению [44], серповидноклеточную анемию [118], уремию [1], злокачественный рост [122], ревматоидный артрит [15]; исследуется роль микрочастиц тромбоцитов в патогенезе атеросклеротических повреждений сосудов [61, 68, 16, 115, 121].

Результаты многочисленных исследований показали, что микрочастицы тромбоцитов, обладающие способностью индуцировать ангиогенез, косвенно участвуют в метастазировании рака. Хотя эта роль исследована еще недостаточно, имеющиеся в литературе данные однозначно указывают на то, что агрессивное течение опухоли и неблагоприятный исход болезни жестко коррелируют в уровне микрочастиц тромбоцитов в крови и увеличением общего числа тромбоцитов [52]. По данным [67], количественный уровень тромбоцитарных микрочастиц в плазме крови является лучшим индикатором метастазирования рака желудка даже по сравнению с VEGF, IL-6 и фактором RANTES. Сравнительно недавно [69] описали активное накопление VEGF в альфа-гранулах тромбоцитов у больных раком и предположили наличие перекрестной связи между опухолевыми клетками и тромбоцитами, действующими при раке как эффективные проангиогенные единицы [21]. Ранее сообщалось, что микрочастицы могут служить в качестве хемоаттрактантов для нескольких клеточных линий рака легких, активируя фосфорилирование сигнальных молекул и экспрессию матриксной металлопротеиназы-1 мембранного типа [64], способны стимулировать пролиферацию раковых клеток и их адгезию к фибриногену и эндотелиоцитам. Varon D. et al. (2015) в экспериментах «in vitro» показали, что при раке предстательной железы микрочастицы индуцируют секрецию матриксной металлопротеиназы-2 [124], действие которой на железистую ткань облегчает инвазию клеток опухоли [33]. В решении онкологических проблем большое значение имеет информация о роли тромбоцитов и их микрочастиц в реализации иммунного ответа. Существуют экспериментальные данные о важном участии тромбоцитов в опосредовании реакций врожденного и адаптивного иммунитета [108]. Несмотря на общую поддержку этого мнения, основные механизмы, с помощью которых тромбоциты подают предполагаемые «ранние сигналы» иммунным клеткам, не вполне понятны. Предыдущие исследования были сосредоточены на роли белка CD154 (CD40L), который экспрессируется Т-лимфоцитами. Этот белок регулирует функции В-лимфоцитов, взаимодействуя с CD40 на поверхности В-клеток, и имеет решающее значение для запуска и развития адаптивного иммунного ответа. Sprague et al. (2008) показали, что микрочастицы тромбоцитов активируют адапторные иммун-

ные клетки в ответ на сигналы, запускающие синтез антигенов и активность лимфоцитов [114]. Данный аспект биологических свойств микрочастиц тромбоцитов, несомненно, актуален в плане развития представлений о роли микрочастиц на ранних этапах нарушений иммунного ответа, приводящих к развитию опухоли.

Как и микрочастицы других клеточных линий, микрочастицы тромбоцитов могут содействовать воспалению, в том числе путем стимуляции продукции разного рода цитокинов. Совместно с лейкоцитами они участвуют в высвобождении ряда эндотелиальных (IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1) и моноцитарных (IL-1, TNF-, IL-8) цитокинов [82, 95]. В свою очередь, цитокины стимулируют генерацию микрочастиц разными клетками (в том числе тромбоцитами) с выраженными провоспалительными и прокоагуляционными свойствами [94]. Содержащаяся в тромбоцитарных микрочастицах арахидоновая кислота участвует в агрегации тромбоцитов и их адгезионных взаимодействиях с моноцитами и эндотелиальными клетками сосудов при развитии воспаления [10]. Микрочастицы тромбоцитов способствуют адгезии моноцитов и нейтрофилов к эндотелию и стимулируют экспрессию COX-2 в моноцитах и клетках эндотелия [10, 50]. Как участники развития воспаления микрочастицы тромбоцитов (совместно с микрочастицами эндотелиальных клеток и лейкоцитов) способствуют адгезии лейкоцитов к эндотелию и их роллингу [43, 57], могут стимулировать моноцитарно-эндотелиальные взаимодействия путем передачи арахидоновой кислоты эндотелиоцитам, которая индуцирует повышение экспрессии молекул клеточной адгезии (ICAM-1) на эндотелии и CD11a/CD18 и CD11b/CD18 — на моноцитах [10]. В условиях кровотока тромбоцитарные микрочастицы могут усиливать связывание нейтрофилов друг с другом, что обусловлено взаимодействием между Р-селектином на микрочастицах и Р-селектин-гликопротеиновым лигандом-1 на нейтрофилах; блокада этих молекул редуцирует связывание нейтрофилов [43].

Хотя во многих исследованиях продемонстрирована связь между воспалением и содержанием микрочастиц [125], изучение роли последних в развитии ревматоидного артрита начато сравнительно недавно. Ревматоидный артрит — хроническое, системное воспалительное заболевание, которое атакует преимущественно синовиальные оболочки суставов. В работах Choy EH. et al. (2001) показано, что в суставах пациентов с ревматоидным артритом накапливаются тромбоциты и обнаруживается рост числа тромбоцитарных микрочастиц [26, 70]. Прямая патогенетическая связь между тромбоцитами и ревматоидным артритом все еще не установлена, хотя существуют отдельные сведения [15] о том, что скапливающиеся в суставах микрочастицы тромбоцитов усиливают тяжесть течения ревматоидного артрита, и микрочастицы, выделенные из суставной жидкости пациентов с ревматоидным артритом, активируют фибробластоподобные синовиоциты и секрецию ими воспалительных цитокинов. Результаты сравнительных клинических исследований артрита и артроза показали, что, если в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом содержатся значительные количества микрочастиц тромбоцитов, то в синовиальной жидкости у больных артрозом они практически отсутствуют. Schmitt-Sody M. et al. (2007) полагают, что тромбоциты совместно с их микрочастицами и другими клетками, участвующими в воспалительных реакциях при артритах, могут облегчать адгезию микробов к эндотелиальным клеткам сосудистых стенок [106].

References

С учетом способности микрочастиц транспортировать к клеткам биологически активные вещества, вполне вероятно, что микрочастицы могут исполнять в организме роль векторов для передачи клеткам-реципиентам рецепторов, воспринимающих инфекционные агенты. Rozmyslowicz T. et al. (2003) показали, что микрочастицы (как производные мегакариоцитов, так и тромбоцитов) способны передавать хемокиновый CXCR4-корцептор CXCR4-негативным клеткам и делать их чувствительными к Х4 штамму вируса иммунодефицита человека [105]. В этой связи тромбоцитарные и мегакариоцитарные микрочастицы могут рассматриваться как потенциальные биологические агенты, играющие важную роль в распространении ВИЧ-инфекции. Результаты исследований Corrales-Medina et al. (2010) подтвердили значительное повышение уровня тромбоцитарных микрочастиц у ВИЧ-инфицированных лиц [28].

Продолжаются активные исследования роли микрочастиц в патогенезе сепсиса — одной из сложнейших проблем современной медицины, в развитии которого ключевую роль играет сочетание дисфункции сосудов, тромбоза и воспаления. Микрочастицы тромбоцитов, наделенные свойством влиять на эти три процесса, могут иметь определенное значение как участники патогенеза сепсиса, так и в качестве потенциальных факторов борьбы с сепсисом. У пациентов с синдромом множественных органных дисфункций Joor et al. (2001) обнаружили увеличение числа микрочастиц гранулоцитов и уменьшение микрочастиц производных тромбоцитов и эритроцитов [66], а Soriano A.O. et al. (2005) доказали, что при сепсисе уровни циркулирующих эндотелиальных и тромбоцитарных микрочастиц отрицательно коррелируют с прогнозом развития синдрома полиорганной дисфункции и неблагоприятного исхода сепсиса [113]. Менингококковый сепсис по данным Nieuwland R. et al. (2000) протекает с повышением уровня микрочастиц производных гранулоцитов и тромбоцитов [93].

Заключение

Тромбоцитарные микрочастицы, несмотря на большое разнообразие их свойств и функций, а также потенциально важное клиническое значение, долгое время оставались вне поля зрения исследователей. В настоящее время микрочастицы-производные клеток пристально изучаются и существовавшие в течение многих лет пробелы знаний в этой области последовательно заполняются информацией. Постепенно выясняются разные аспекты влияний микрочастиц на физиологические и патологические процессы в организме человека. В будущем это определит применение микрочастиц как диагностических маркеров и векторов доставки терапевтических агентов к клеткам организма, позволит оценить их потенциал как триггеров тех или иных заболеваний, исследовать влияние на микрочастицы лекарственных препаратов и т.д. Как источники цитокинов и факторов роста микрочастицы тромбоцитов перспективны в плане развития новых терапевтических подходов к лечению заболеваний, связанных с канцерогенезом, воспалением, тромбозом, нарушениями ангиогенеза и гемодинамики, для развития так называемой регенеративной медицины [18]. Бесспорно, что выявленные свойства тромбоцитарных микрочастиц позволяют оценить их как высокореактивные биологические единицы, которым принадлежит важная роль в регуляции жизнедеятельности клеток, тканей, органов и организма в целом, а также в развитии патологии.

1. Ando M., Iwata A., Ozeki Y., Tsuchiya K., Akiba T., Nihei H. Circulating platelet-derived microparticles with procoagulant activity may be a potential cause of thrombosis in uremic patients. *Kidney Int.* 2002; 62: 1757–63.
2. Ayers L., Nieuwland R., Kohler M., Kraenkel N., Ferry B., Lee-son P. Dynamic microvesicle release and clearance within the cardiovascular system: triggers and mechanisms. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2015; 129: 915–31.
3. Azevedo L.C., Pedro M.A., Laurindo F.R. Circulating microparticles as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Recent Patents Cardiovascular Drug Discovery*. 2007; 2(1): 41–51.
4. Azevedo L.C., Janiszewski M., Pontieri V., Pedro M. de A., Bassi E., Tucci P. J., Laurindo F.R. Platelet-derived exosomes from septic shock patients induce myocardial dysfunction. *Critical Care*. 2007; 11(6): 120.
5. Azevedo L. Microparticles and exosomes: are they part of important pathways in sepsis pathophysiology?. *Intechopen*. 2012; 155–66.
6. Azzam H., Zagloul M. Elevated platelet microparticle levels in valvular atrial fibrillation. *Hematology*. 2009; 14(6): 357–60.
7. Bal L., Ederhy S., Di Angelantonio E. Toti F., Zobairi F., Dufaitre G., Meuleman C. et al. Circulating procoagulant microparticles in acute pulmonary embolism: a casecontrol study. *Int. J. Cardiol.* 2010; 145(2): 321–2.
8. Baj-Krzyworzeka M., Majka M., Pratico D., Ratajczak J., Vilaire G., Kijowski J., Reza R., Janowska-Wieczorek A., Ratajczak M.Z. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol*. 2002; 30: 450–9.
9. Barry O.P., Pratico D., Lawson J.A., G. A. Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *J Clin Invest*. 1997; 99: 2118–27.
10. Barry O.P., Pratico D., Savani R.C., FitzGerald G.A. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest*. 1998; 102: 136–44.
11. Berckmans R.J., Nieuwland R., Boing A.N., Romijn F.P., Hack C.E., Sturk A. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost.* 2001; 85: 639–46.
12. Biasucci L.M., Porto I., DeMaria G.L., Leone A.M., Ninelli G. et al. Differences in microparticle release in patients with acute coronary syndrome and stable angina. *Circ. J.* 2012; 76: 2174–82.
13. Biro E., Sturk-Maquelin K.N., Vogel G.M., Meuleman D.G., Smit M.J., Hack C.E., Sturk A., Nieuwland R. Human cell-derived microparticles promote thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(12): 2561–8.
14. Biro E., Akkerman J.W., Hoek F.J., Gorter G., Pronk L.M., Sturk A., Nieuwland R. The phospholipids composition and cholesterol content of platelet derived microparticles: a comparison with platelet membrane fractions. *Thromb Haemost.* 2005; 3: 2754–63.
15. Boilard E., Nigrovic P.A., Larabee K., Watts G.F., Cobllyn J.S., Weinblatt M.E., Massarotti E.M., Remold-O'Donnell E., Farndale R.W., Ware J. et al. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science*. 2010; 327: 580–3.
16. Boulanger C.M., Amabile N., Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension*. 2006; 48: 180–6.
17. Brill A., Dashevsky O., Rivo J., Gozal Y., Varon D. Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res*. 2005; 67: 30–8.
18. Burnouf T., Goubran H.A., Chou M.L., Devos D., Radosevic M. Platelet microparticles: detection and assessment of their paradoxical functional roles in disease and regenerative medicine. *Blood Rev*. 2014; 28(4): 155–66.
19. Castaman G., Yu-Feng L., Rodeghiero F. A bleeding disorder characterised by isolated deficiency of platelet microvesicle generation. *Lancet*. 1996; 347: 700–1.
20. Castaman G., Yu-Feng L., Battistin E., Rodeghiero F. Characterization of a novel bleeding disorder with isolated prolonged bleeding time and deficiency of platelet microvesicle generation. *Br J Haematol*. 1997; 96: 458–63.
21. Cervi D., Yip T.T., Bhattacharya N., Podust V.N., Peterson J., Abou-Slaybi A., Naumov G.N., Bender E., Almog N., Italiano J.E. Jr., Folkman J., Klement G.L. Platelet-associated PF-4 as a biomarker of early tumor growth. *Blood*. 2008; 111: 1201–7.

22. Charras G.T., Hu C.K., Coughlin M., Mitchison T.J. Reassembly of contractile actin cortex in cell blebs. *J Cell Biol.* 2006; 175: 477–90.
23. Cherian P., Hankey G.J., Eikelboom J.W., Thom J., Baker R.I., McQuillan A., Staton J., Yi Q. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. *Stroke.* 2003; 34(9): 2132–7.
24. Chironi G.N., Simon A., Boulanger C.M., Dignat-George F., Hugel B., Megnien J.L., Lefort M., Freyssinet J.M., Tedgui A. Circulating microparticles may influence early carotid artery remodeling. *J Hypertens.* 2009; 28: 789.
25. Chiva-Blanch G., Suades R., Crespo J., Vilagur G., Arderiu G., Padro T. et al. CD3(+)/CD45(+) and SMA-alpha(+) circulating microparticles are increased in individuals at high cardiovascular risk who will develop a major cardiovascular event. *Int. J. Cardiol.* 2016; 208: 147–9.
26. Choy E.H., Panayi G.S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2001; 344: 907–16.
27. Clayton A., Turkes A., Dewitt S., Steadman R., Mason M.D., Hallett M.B. Adhesion and signaling by B cell-derived exosomes: the role of integrins. *FASEB J.* 2004; 18: 977–9.
28. Corrales-Medina V.F., Simkins J., Chirinos J.A., Serpa J.A., Horstman L.L., Jy W., Ahn Y.S. Increased levels of platelet microparticles in HIV-infected patients with good response to highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010; 54: 217–8.
29. Cramer E.M., Norol F., Guichard J., Breton-Gorius J., Vainchenker W., Masse J.M., Debili N. Ultrastructure of platelet formation by human megakaryocytes cultured with the Mpl ligand. *Blood.* 1997; 89: 2336–46.
30. Cui Y., Zheng L., Jiang M., Jia R., Zhang X., Quan Q., et al. Circulating microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein. *Mol. Biol. Rep.* 2013; 40: 6437–42.
31. Cunningham C.C. Actin polymerization and intracellular solvent flow in cell surface blebbing. *J Cell Biol.* 1995; 129: 1589–99.
32. Daleke D.L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J. Lipid. Res.* 2003; 44(2): 233–42.
33. Dashevsky O., Varon D., Brill A. Platelet-derived microparticles promote invasiveness of prostate cancer cells via upregulation of MMP-2 production. *Int J Cancer.* 2009; 124: 1773–7.
34. Dean W.L., Lee M.J., Cummins T.D., Schultz D.J., Powell D.W. Proteomic and functional characterisation of platelet microparticle size classes. *Thromb Haemost.* 2009; 102: 711–8.
35. Denzer K., Kleijmeer M.J., Heijnen H.F., Stoorvogel W., Geuze H.J. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *J Cell Sci.* 2000; 113: 3365–74.
36. Denzer K., van Eijk M., Kleijmeer M.J., Jakobson E., de Groot C., Geuze H.J. Follicular dendritic cells carry MHC class II-expressing microvesicles at their surface. *J Immunol.* 2000; 165: 1259–65.
37. Derigibus M.C., Cantaluppi V., Calogero R., Lo Iacono M., Tetta C., Biancone L., Bruno S., Bussolati B., Camussi G. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood.* 2007; 110: 2440–8.
38. Diamant M., Tushuizen M.E., Sturk A., Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur J Clin Invest.* 2004; 34: 392–401.
39. Fackler O.T., Grosse R. Cell motility through plasma membrane blebbing. *J Cell Biol.* 2008; 181: 879–84.
40. Flaumenhaft R. Formation and fate of platelet microparticles. *Blood Cells Mol Dis.* 2006; 36: 182–7.
41. Flaumenhaft R., Dilks J.R., Richardson J., Alden E., Patel-Hett S.R., Battinelli E., Klement G.L., Sola-Visner M., Italiano J.E. Jr. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood.* 2009; 113: 1112–21.
42. 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.
43. Forlow S.B., McEver R.P., Nollert M.U. Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles under flow. *Blood.* 2000; 95(4): 1317–23.
44. Galli M., Grassi A., Barbui T. Platelet-derived microvesicles in thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Thromb Haemost.* 1996; 75: 427–31.
45. George J.N., Thoi L.L., McManus L.M., Reimann T.A. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood.* 1982; 60: 834–40.
46. George J.N., Pickett E.B., Saucerman S., McEver R.P., Kunicki T.J., Kieffer N., Newman P.J. Platelet surface glycoproteins. Studies on resting and activated platelets and platelet membrane microparticles in normal subjects, and observations in patients during adult respiratory distress syndrome and cardiac surgery. *J Clin Invest.* 1986; 78: 340–8.
47. George M., Ganesh M.R., Sridhar A., Jena A., Rajaram M., Shanmugam E., et al. Evaluation of endothelial and platelet derived microparticles in patients with acute coronary syndrome. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015; 9: 9–13.
48. Gracia B.A., Smalley D.M., Cho H., Shabanowitz J., Ley K., Hunt D.F. The platelet microparticle proteome. *J Proteome Res.* 2005; 4: 1516–21.
49. Hargett L.A., Bauer N. N. On the origin of microparticles: From «platelet dust» to mediators of intercellular communication. *Pulm Circ.* 2013; 3(2): 329–40.
50. Harter J.M., Rossaint J., Zarbock A. Platelet in inflammation and immunity. *J Thromb Haemost.* 2014; 12: 1764–75.
51. Hayon Y., Dashevsky O., Shai E., Brill A., Varon D., Lecker R.R. Platelet microparticles induce angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia. *Curr Neurovasc Res.* 2012; 9: 185–92.
52. Helley D., Banu E., Bouziane A., Banu A., Scotte F., Fischer A.M., Oudard S. Platelet microparticles: a potential predictive factor of survival in hormone-refractory prostate cancer patients treated with docetaxel-based chemotherapy. *Eur Urol.* 2009; 56: 479–84.
53. Horn P., Baars T., Kahlert P., Heiss C., Westenfeld R., Kelm M. et al. Release of intracoronary microparticles during stent implantation into stable atherosclerotic lesions under protection with an aspiration device. *PLoS ONE.* 2015; 10:e0124904. doi:10.1371/journal.pone.0124904.
54. Horstman L.L., Ahn Y.S. Platelet microparticles: a wide-angle perspective. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1999; 30: 111–42.
55. Horstman L.L., Jy W., Minagar A., Bidot C.J., Jimenez J.J., Alexander J.S., Ahn Y.S. Cell-derived microparticles and exosomes in neuroinflammatory disorders. *Int Rev Neurobiol.* 2007; 79: 227–68.
56. Hu Q., Wang M., Cho M.S., Wang C., Nick A.M., Thiagarajan P., Aung F.M., Han X., Sood A.K., Afshar-Kharghan V. Lipid profile of platelets and platelet-derived microparticles in ovarian cancer. *BBA Clin.* 2016; 6: 76–81.
57. Huber J., Vales A., Mitulovic G., Blumer M., Schmid R., Wittzum J.L., Binder B.R., Leitinger N. Oxidized membrane vesicles and blebs from apoptotic cells contain biologically active oxidized phospholipids that induce monocyte-endothelial interactions. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.* 2002; 22(1): 101–7.
58. Hughes M., Hayward C.P., Warkentin T.E., Horsewood P., Chorneyko K.A., Kelton J.G. Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 2000; 96: 188–94.
59. Hunter M.P., Ismail N., Zhang X., Aguda B.D., Lee E.J., Yu L., Xiao T., Schafer J., Lee M.L., Schmittgen T.D., Nana-Sinkam S.P., Jarjoura D., Marsh C.B. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS One.* 2008; 3(11): e3694.
60. Italiano J.E. Jr., Richardson J.L., Patel-Hett S., Battinelli E., Zaslavsky A., Short S., Ryeom S., Folkman J., Klement G.L. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood.* 2008; 111: 1227–33.
61. Italiano J.E., Jr., Mairuhu T.A., Flaumenhaft R. Clinical Relevance of Microparticles from Platelets and Megakaryocytes. *Curr Opin Hematol.* 2010; 17(6): 578–84.
62. Janiszewski M., Do Carmo A.O., Pedro M.A., Silva E., Knobel E., Laurindo F.R. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway. *Critical Care Medicine.* 2004; 32(3): 818–25.
63. Janowska-Wieczorek A., Majka M., Kijowski J., Baj-Krzyworzeka M., Reza R., Turner A.R., Ratajczak J., Emerson S.G., Kowalska M.A., Ratajczak M.Z. Platelet-derived microparticles bind to hematopoietic stem/progenitor cells and enhance their engraftment. *Blood.* 2001; 98: 3143–9.
64. Janowska-Wieczorek A., Wysoczynski M., Kijowski J., Marquez-Curtis L., Machalinski B., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer.* 2005; 113: 752–60.

65. Jin M., Drwal G., Bourgeois T. et al. Distinct proteome features of plasma microparticles. *Proteomics*. 2005; 5: 1940–52.
66. Joop K., Berckmans R.J., Nieuwland R., Berkhout J., Romijn F.P., Hack C.E., Sturk A. Microparticles from patients with multiple organ dysfunction syndrome and sepsis support coagulation through multiple mechanisms. *Thromb Haemost.* 2001; 85: 810–20.
67. Kim H.K., Song K.S., Park Y.S., Kang Y.H., Lee Y.J., Lee K.R., Kim H.K., Ryu K.W., Bae J.M., Kim S. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor. *Eur J Cancer*. 2003; 39:184–91.
68. Kim H.K., Song K.S., Chung J.H., Lee K.R., Lee S.N. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. *Br J Haematol*. 2004; 124: 376–84.
69. Klement G.L., Yip T.T., Cassiola F., Kikuchi L., Cervi D., Podust V., Italiano J.E., Wheatley E., Abou-Slaybi A., Bender E., Almog N., Kieran M.W., Folkman J. Platelets actively sequester angiogenesis regulators. *Blood*. 2009; 113: 2835–42.
70. Knijff-Dutmer E.A., Koerts J., Nieuwland R., Kalsbeek-Batenburg E.M., van de Laar M.A. Elevated levels of platelet microparticles are associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002; 46: 1498–1503.
71. Kuriyama N., Nagakane Y., Hosomi A., Ohara T., Kasai T., Harada S. et al. Evaluation of factors associated with elevated levels of platelet-derived microparticles in the acute phase of cerebral infarction. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2010; 16: 26–32.
72. Lee Y.J., Jy W., Horstman L.L., Janania J., Reyes Y., Kelley R.E., Ahn Y.S. Elevated platelet microparticles in transient ischemic attacks, lacunar infarcts, and multiinfarct dementias. *Thromb Res*. 1993; 72: 295–304.
73. Leroyer A.S., Anfosso 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.
74. Li X., Cong H. Platelet-derived microparticles and the potential of glycoprotein IIb/IIIa antagonists in treating acute coronary syndrome. *Tex Heart Inst J*. 2009; 36: 134–9.
75. Luksza E., Mantur M. A new look at platelets and microparticles, including their role in haemostatic disorders and progression of neoplastic disease. *Pol Merkur Lekarski*. 2009; 27(162): 491–5.
76. Mack M., Kleinschmidt A., Bruhl H., Klier C., Nelson P.J., Cihak J., Plachy J., Stangassinger M., Erfle V., Schlondorff D. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: a mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. *Nat Med*. 2000; 6: 769–75.
77. Mallat Z., Benamer H., Hugel B., Benessiano J., Steg P.G., Freyssinet J.M., Tedgui A. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101: 841–3.
78. 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.
79. Marcoux G., Duchez A.C., Rousseau M., Levesque T., Boudreau L.H., Thibault L., Boilard E. Microparticle and mitochondrial release during extended storage of different types of platelet concentrates. *Platelets*. 2016; 29: 1–9.
80. Mause S.F., Ritzel E., Liehn E.A., Hristov M., Bidzhekov K., Muller-Newen G., Soehnlein O., Weber C. Platelet microparticles enhance the vasoregenerative potential of angiogenic early outgrowth cells after vascular injury. *Circulation*. 2010; 122: 495–506.
81. Merten M., Pakala R., Thiagarajan P., Benedict C.R. Platelet microparticles promote platelet interaction with subendothelial matrix in a glycoprotein IIb-IIIa-dependent mechanism. *Circulation*. 1999; 99: 2577–82.
82. Mesri M., Altieri D.C. Leukocyte microparticles stimulate endothelial cell cytokine release and tissue factor induction in a JNK1 signaling pathway. *J Biol Chem*. 1999; 274: 23111–18.
83. Meziani F., Xavier Delabranche X., Asfar P., Toti F. Bench-to-bedside review: Circulating microparticles — a new player in sepsis? *Critical Care*. 2010; 14(5): 236.
84. Michelsen AE, Brodin E, Brosstad F, Hansen JB. Increased level of platelet microparticles in survivors of myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008; 68: 386–92.
85. Milioli M., Ibanez-Vea M., Sidoli S., Palmisano G., Careiri M., Larsen M.R. Quantitative proteomics analysis of platelet-derived microparticles reveals distinct protein signatures when stimulated by different physiological agonists. *J. Proteomics*. 2015; 121: 56–66.
86. Montoro-Garcia S., shantsila E., Hernandez-Romero D., Jover E., Valdes M., Marin F. et al. Small-size platelet microparticles trigger platelet and monocyte functionality and modulate thrombogenesis via P-selectin. *Br. J. Haematol*. 2014; 166: 571–80.
87. Morel O., Toti F., Hugel B., Freyssinet JM. Cellular microparticles: a disseminated storage pool of bioactive vascular effectors//Curr Opin Hematol. 2004;11; 156–164.
88. Morel O., Toti F., Hugel B., Bakouboula B., Camoin-Jau L., Dignat-George F., Freyssinet J.M. Procoagulant microparticles: disrupting the vascular homeostasis equation? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2006; 26(12): 2594–604.
89. 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.
90. Muller I., Klocke A., Alex M., Kotszsch M., Luther T., Morgenstern E., Ziesenis S., Zahler S., Preissner K., Engelmann B. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microparticles and platelets. *FASEB Journal*. 2003; 17(3): 476–8.
91. Muralidharan-Chari V., Sedgwick A., D'Souza-Schorey C. Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression. *J. Cell Science*. 2010; 123: 1603–11.
92. Nebor D., Bowers A., Connes P., Hardy-Dessources M.D., Knight-Madden J., Cumming V. et al. Plasma concentration of platelet-derived microparticles is related to painful vaso-occlusive phenotype severity in sickle cell anemia. *PLoS ONE*. 2014; e87243.10.1371/journal.pone.0087243.
93. Nieuwland R., Berckmans R.J., McGregor S., Boeing A.N., Romijn F.P., Westendorp R.G., Hack C.E., Sturk A. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood*. 2000; 95(3): 930–5.
94. Nomura S., Imamura A., Okuno M., Kamiyama Y., Fujimura Y., Ikeda Y., Fukuhara S. Platelet-derived microparticles in patients with arteriosclerosis obliterans, enhancement of high shear-induced microparticle generation by cytokines. *Thromb Res*. 2000; 98: 257–68.
95. Nomura S., Shouzu A., Omoto S., Nishikawa M., Iwasaka T., Fukuhara S. Activated platelet and oxidized LDL induce endothelial membrane vesiculation: clinical significance of endothelial cell-derived microparticles in patients with type 2 diabetes. *Clinical Applications in Thrombosis and Hemostasis*. 2004; 10(3): 205–15.
96. Nomura S., Ozaki Y., Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings. *Thromb Res*. 2008; 123: 8–23.
97. O'Donnel V.B., Murphy R.C., Watson S.P. Platelet lipids: modern day perspective on lipid discovery and characterization in platelets. *Clin Res*. 2014; 114(7): 1185–203.
98. Perez-Pujol S., Marker P.H., Key N.S. Platelet microparticles are heterogeneous and highly dependent on the activation mechanism: studies using a new digital flow cytometer. *Cytometry A*. 2007; 71: 38–45.
99. Pfister S.L. Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery. *Hypertension*. 2004; 43: 428–33.
100. Prokopi M., Pula G., Mayr U., Devue C., Gallagher J., Xiao Q., Boulanger C.M., Westwood N., Urbich C., Willeit J., Steiner M., Breuss J., Xu Q., Kiechl S., Mayr M. Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell cultures. *Blood*. 2009; 114: 723–32.
101. Rand M.L., Wang H., Bang K.W., Packham M.A., Freedman J. Rapid clearance of procoagulant platelet-derived microparticles from the circulation of rabbits. *J Thromb Haemost*. 2006; 4: 1621–3.
102. Raposo G., Nijman H.W., Stoorvogel W., Liejendekker R., Harding C.V., Melief C.J., Geuze H.J. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*. 1996; 183: 1161–72.
103. Ratajczak J., Wysoczynski M., Hayek F., Janowska-Wieczorek A., Ratajczak M.Z. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*. 2006; 20: 1487–95.
104. Ratajczak J., Miekus K., Kucia M., Zhang J., Reca R., Dvorak P., Ratajczak M.Z. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia*. 2006; 20: 847–56.
105. Rozmyslowicz T., Majka M., Kijowski J., Murphy S.L., Conover D.O., Poncz M., Ratajczak J., Gaulton G.N., Ratajczak M.Z. Platelet- and megakaryocyte-derived microparticles transfer CXCR4 receptor to CXCR4-null cells and make them susceptible to infection by X4-HIV. *Aids*. 2003; 17: 33–42.

106. Schmitt-Sody M., Metz P., Gottschalk O., Birkenmaier C., Zysk S., Veiheilmann A., Jansson V. Platelet P-selectin is significantly involved in leukocyte-endothelial cell interaction in murine antigen-induced arthritis. *Platelets*. 2007; 18: 365–72.
107. Scholz T., Temmler U., Krause S., Heptinstall S., Losche W. 2002 Transfer of tissue factor from platelets to monocytes: role of platelet-derived microvesicles and CD62P. *Thrombosis and Haemostasis*. 2002; 88(6): 1033–8.
108. Semple J.W., Freedman J. Platelets and innate immunity. *Cell Mol Life Sci*. 2010; 67: 499–511.
109. Shcherbina A., Remold-O'Donnell E. Role of caspase in a subset of human platelet activation responses. *Blood*. 1999; 93: 4222–31.
110. Shet A.S., Aras O., Gupta K., Hass M.J., Rausch D.J., Saba N., Koopmeiners L., Key N.S., Hebbel R.P. Sick blood contains tissue factor-positive microparticles derived from endothelial cells and monocytes. *Blood*. 2003; 102(7): 2678–83.
111. Sims P.J., Wiedmer T., Emson C.T., Weiss H.J., Shattil S.J. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane: studies in Scott syndrome, an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem*. 1989; 264: 17049–57.
112. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y., Pichugin A.V., Pantelev M.A. et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost*. 2007; 97: 425–34.
113. Soriano A.O., Jy W., Chirinos J.A., Valdivia M. A., Velasquez H.S., Jimenez J., Horstman L.L., Kett D.H., Schein R. M., Ahn Y.S. Levels of endothelial and platelet microparticles and their interactions with leukocytes negatively correlate with organ dysfunction and predict mortality in severe sepsis. *Critical Care Medicine*. 2005; 33(11): 2540–6.
114. Sprague D.L., Elzey B.D., Crist S.A., Waldschmidt T.J., Jensen R.J., Ratliff T.L. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity: unique delivery of CD154 signal by platelet-derived membrane vesicles. *Blood*. 2008; 111: 5028–36.
115. Tan K.T., Lip G.Y. The potential role of platelet microparticles in atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2005; 94: 488–92.
116. Tan K.T., Tayebjee M.H., Lynd C., Blann A.D., Lip G.Y. Platelet microparticles and soluble P selectin in peripheral artery disease: relationship to extent of disease and platelet activation markers. *Ann.Med*. 2005; 37: 61–6.
117. Tetta C., Bruno S., Fonsato V., Deregis M.C., Camussi G. The role of microvesicles in tissue repair. *Organogenesis*. 2011; 7(2): 105–15.
118. Tomer A., Harker L.A., Kasey S., Eckman J.R. Thrombogenesis in sickle cell disease. *J Lab Clin Med*. 2001; 137: 398–407.
119. Van Nispen tot Pannerden H., de Haas F., Geerts W., Posthuma G., van Dijk S., Heijnen H.F. The platelet interior revisited: electron tomography reveals tubular alpha-granule subtypes. *Blood*. 2010; 116: 1147–56.
120. VanWijk M.J., VanBavelb A., Sturkc A., Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovas Res*. 2003; 59: 277–87.
121. Varon D., Shai E. Role of platelet-derived microparticles in angiogenesis and tumor progression. *Discov Med*. 2009; 8: 237–41.
122. Varon D., Hayon Y., Dashevsky O., Shai E. Involvement of platelet derived microparticles in tumor metastasis and tissue regeneration. *Thromb Res*. 2012; 130: 98–9.
123. Varon D., Shai E. Platelets and their microparticles as key players in pathophysiological responses. *J Thromb Haemost*. 2015; 13(1): 40–6.
124. Wagner D.D., Burger P.C. Platelets in inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 2131–7.
125. Wang Y., Litvinov R.I., Chen X., Bach T.L., Lian L., Petrich B.G., Monkley S.J., Critchley D.R., Sasaki T., Birnbaum M.J. et al. Loss of PIP5KIgamma, unlike other PIP5KI isoforms, impairs the integrity of the membrane cytoskeleton in murine megakaryocytes. *J Clin Invest*. 2008; 118: 812–9.
126. Weber A., Koppen H.O., Schror K. Platelet-derived microparticles stimulate coronary artery smooth muscle cell mitogenesis by a PDGF-independent mechanism. *Thromb Res*. 2000; 98: 461–6.
127. Wiedmer T., Shattil S.J., Cunningham M., Sims P.J. Role of calcium and calpain in complement-induced vesiculation of the platelet plasma membrane and in the exposure of the platelet factor Va receptor. *Biochemistry*. 1990; 29: 623–32.
128. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol*. 1967; 13: 269–88.
129. Van der Zee P.M., Biro E., Ko Y., de Winter R.J., Hack C.E., Sturk A., Nieuwland R. P-Selectin- and CD63-Exposing Platelet Microparticles Reflect Platelet Activation in Peripheral Arterial Disease and Myocardial Infarction. *Clin Chem*. 2006; 52(4): 657–64.
130. Zwicker J.I. Tissue factor-bearing microparticles and cancer. *Semin Thromb Hemost*. 2008; 34: 195–8.

Сведения об авторах:

Кубатиев Аслан Амирханович, доктор мед. наук, профессор, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», академик РАН, e-mail: niiorp@mail.ru
 Боровая Татьяна Геннадьевна, доктор мед. наук, профессор, член-корр. РАН, главн. научн. сотр. e-mail: tbor27@yandex.ru
 Жуховицкий Владимир Григорьевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. e-mail: zhukhovitsky@rambler.ru
 Андреевская Светлана Георгиевна, канд. мед. наук, старш. научн. сотр. e-mail: hacaranda@yandex.ru
 Шевлягина Наталья Владимировна, канд. мед. наук, старш. научн. сотр. e-mail: microbanatomy@mail.ru