

© Пальцын А.А., 2017
УДК 616-092

Пальцын А.А.

Микрочастицы тромбоцитов

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8
Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования
Российская медицинская Академия последипломного образования, 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Идея везикулярного способа межклеточных коммуникаций появилась в начале XXI века и сегодня быстро развивается. Определено, что таким способом передаются сигналы во многих биологических и патологических процессах: циркуляция, регенерация, атеросклероз, опухолевый рост. Стало очевидно, что проблема везикулярных межклеточных коммуникаций представляет интерес для медицины. Знания в этой области могут быть использованы и уже начинают использоваться для диагностики, прогнозирования и лечения ряда тяжелых заболеваний, таких как, атеросклероз, диабет, рак. Важный момент в развитии указанных заболеваний представляют собой передающие межклеточные сигналы микрочастицы тромбоцитов. Они, кроме того, участники некоторых важнейших физиологических процессов.

Ключевые слова: тромбоцит; микрочастицы; экстрацеллюлярные везикулы; межклеточные взаимодействия.

Для цитирования: Пальцын А.А. Микрочастицы тромбоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(1): 99—105

Для корреспонденции: Пальцын Александр Александрович, доктор биол. наук, проф., лауреат Государственной премии СССР, гл. науч. сотр. Института общей патологии и патофизиологии РАН, проф. каф. общей патологии и патофизиологии РМАПО, e-mail: lrrp@mail.ru

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.09.2016

Paltsyn A.A.

Platelet microparticles

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow 125315, Russia
Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow 125315, Russia

The idea of a vesicular way of intercellular communications has appeared at the beginning of the XXI century and today quickly develops. It is determined that in such a way the signals are transmitted in many biological and pathological processes: circulation, regeneration, atherosclerosis, tumor growth. It became obvious that the problem of vesicular intercellular communications is of great medical interest. Knowledge in this area can be used and already begins to use for diagnostics, prognosis and treatment of several serious diseases, including, such spread as an atherosclerosis, diabetes, cancer. An important moment in the development of these diseases — transmitting intercellular signals by platelet microparticles. They, in addition, are participants some of important physiological processes.

Keywords: platelet; microparticles; extracellular vesicles; cell-cell communications.

For citation: Paltsyn A.A. Platelet microparticles. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2017; 61(1): 99—105 (in Russ.).

Corresponding author: Paltsyn A.A., lrrp@mail.ru

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 16.09.2016

На протяжении многих десятилетий считалось, что межклеточные взаимодействия осуществляются либо путем прямого физического контакта клеток, либо путем выделения в среду сигнальных молекул. Сложилось представление, что такие молекулы дей-

ствуют, связываясь с соответствующими рецепторами на поверхности клетки-мишени, или внутри клетки будучи поглощенными ею. В последние годы в биологию пришло осознание замечательного факта — широкого распространения в физиологических и патоло-

гических процессах жизнедеятельности везикулярного способа передачи сигнала. Выяснилось, что очень многие, а может быть, и все клетки отделяют от поверхностной мембраны везикулы со сложным набором биологически активных веществ, содержащихся, как в полости везикул, так и на их мембране. Общее название этих образований «экстрацеллюлярные везикулы». Самый общий список содержимого: РНК, белки, липиды. Многие стороны биологии экстрацеллюлярных везикул остаются неизвестными, однако объем уже приобретенных знаний (больше из области патологии, чем физиологии) оказался достаточным для осознания их важной биологической роли и обусловил наблюдаемую сегодня популярность этой проблемы.

В большинстве работ экстрацеллюлярные везикулы по механизму образования и по размеру делят на 2 типа: экзосомы, образующиеся из мультивезикулярных телец и имеющие размер (30—100 нм) и микрочастицы (МЧ), окруженные клеточной мембраной экстрацеллюлярные везикулы размером от 100 до 1000 нм. Указывается, что в плазме здорового человека после осаждения тромбоцитов содержится 18% экзосом и 82% МЧ [1]. Представленные процентные соотношения этих типов экстрацеллюлярных везикул, конечно, стоит воспринимать не более как приблизительные. Уже размерный критерий не позволяет их строго разграничить. Кроме того соотношение их «выходов» различается при разных методах получения биологических жидкостей, выделения и хранения везикул [2].

Образуются МЧ путем экзоцитоза многими клетками: моноцитами, макрофагами, В и Т лимфоцитами, нейтрофилами, эритроцитами, эндотелиоцитами, эпителиоцитами, нейрональными прогениторными клетками (NPC), нейронами, астроцитами, микроглиоцитами. Отделение клетками МЧ — постоянный, конститутивный процесс, усиливающийся при активации или апоптозе. Образованием МЧ природа решает 3 задачи. Защищает биологически активные факторы от ферментолиза в жидких средах организма, обеспечивает одновременную доставку комплекса факторов к отдаленным реципиентам, освобождается от «ненужных» или избыточных компонентов клетки.

По результатам нашего поиска, микрочастицы тромбоцитов открыл, не поняв этого факта, O'Brien [3]. Частиц он не наблюдал, но обнаружил их биологическое действие, а именно — коагулирующую активность сыворотки, не содержащей тромбоцитов. Некогда воспринимаемые как клеточный детрит «клеточная пыль» [4], МЧ теперь признаются научным сообществом как эффекторы с важными биологическими функциями, образовавшиеся в регулируемом процессе [5]. МЧ играют существенную роль

в таких процессах, как воспаление, сердечно- и невровазкулярные болезни, атеросклероз, иммунный ответ, диссеминация опухолей, диабет, гемостаз, ангиогенез.

Продукция тромбоцитарных микрочастиц (ТМЧ) стимулируется увеличением внутриклеточного содержания кальция, ROS (reactive oxygen species), тромбином, эндотоксином, активацией системы комплемента, медиаторами воспаления, АДФ, адреналином, гипоксией, стрессом, апоптозом [6]. В экспериментах *in vitro* в качестве активаторов отделения ТМЧ указываются липополисахариды, IL-6, эритропоэтин, коллаген, норадреналин, ионофор A23187, TNF α , С-реактивный белок [7]. Даже этот неполный список активаторов образования МЧ делает понятным тот факт, что почти при всех заболеваниях концентрация МЧ в крови возрастает. В принципе уровень увеличения соответствует тяжести болезни [8]. Такое положение представляется заманчивой областью для медицинских исследований. Нельзя исключить, что определяя клеточную принадлежность и концентрацию МЧ в крови, удастся совершенствовать диагностику, прогноз и эффективность терапии некоторых болезней. Есть и факты, свидетельствующие о реалистичности такого предположения. Так добавление витамина С к обычной терапии пациентам с инфарктом миокарда существенно снижало уровень прокоагулянтных ТМЧ и эндотелиальных МЧ. Иными словами, по содержанию МЧ можно судить о степени риска тромботических осложнений и, соответственно, о действии витамина С [9]. Повышенный уровень ТМЧ многократно находили при инсультах [10]. Способностью ТМЧ стимулировать тромбоз и ангиогенез некоторые авторы объясняют их вклад в метастазирование опухолей с перспективой использования ТМЧ в качестве диагностического и прогностического маркера в онкологии [11].

ТМЧ отличаются от МЧ всех других клеток. ТМЧ порождаются не клетками, а образованиями, которые сами соответствуют понятию МЧ — тромбоцитами, которые во-первых, не имеют ядра, во-вторых, по размеру «минимальные» тромбоциты «не выходят за рамки» максимальных МЧ — 1000 нм. Существует и ещё одно сходство между тромбоцитами и ТМЧ. Есть сообщения о том, что циркулирующие в крови здоровых людей ТМЧ продуцируются, как и сами тромбоциты, мегакариоцитами [12,13].

Сказанное не означает, однако, что в создании природой ТМЧ не удастся обнаружить биологической целесообразности, что они, будучи карликовым вариантом тромбоцитов, просто дублируют их функцию. ТМЧ, хотя и сходны с тромбоцитами, но имеют и существенные отличия от них. Главный отличаю-

щий момент — возможность слияния ТМЧ с реципиентом, с клеткой-мишенью. Тромбоцит же с другими клетками, по-видимому, не сливается, по крайней мере, сообщений об этом не найдено. Таким образом, в отличие от тромбоцита, взаимодействующего с клетками-мишенями только механизмом лиганд — рецептор, ТМЧ за счет возможности слияния увеличила набор взаимодействий.

Слияния ТМЧ с клетками-мишенями обеспечивают передачу этим клеткам генетической информации [14]. Наследуемый геном, а также возникающие в нем мутации, в том числе вызванные болезнью, определяют транскриптом мегакариоцитов и выражаются в особенностях трансляции и в тромбоцитах и в ТМЧ [15]. Современный уровень знаний об экстрацеллюлярных везикулах разрушает «заслуженную» и по возрасту и по значению догму биологии о том, что свойства клетки определяются геномом. Перенос ТМЧ мРНК и мкРНК, полученных от мегакариоцитов и тромбоцитов, в клетки-мишени меняет генетическую программу мишеней, придает им новые качества [16]. В тех случаях, когда ТМЧ осуществляют мРНК или мкРНК зависимый контроль функции клеток-мишеней, эффект достигается именно через механизм слияния МЧ. Этот механизм избавляет мРНК и мкРНК от деградации РНК-азами крови [17]. Ещё способ переноса содержимого МЧ в клетку мишень — фагоцитоз [18]. В эксперименте D. Faille [19] ингибиторы как фагоцитоза, так и макропиноцитоза подавляли поглощение ТМЧ. Эта работа особенно интересна тем, что авторы исследовали эндцитоз ТМЧ эндотелиальными клетками мозга — участниками очень важного регенераторного процесса. Разнообразие способов взаимодействия ТМЧ с клетками-мишенями наделяет ТМЧ способностью влиять на мишени не так как тромбоциты. Различие создается не только изоляцией внутреннего содержимого частиц от биоактивных молекул плазмы, но и тем фактом, что активность молекулы в растворе и фиксированной на мембране различна [20]. Содержание связанных с клеточной мембраной белков и липидов в тромбоцитах и ТМЧ может различаться [21]. Коллективом авторов из центра Гематологии РАМН показано, что прокоагуляционная активность поверхности ТМЧ в 50—100 раз превышает активность поверхности тромбоцитов. Те и другие активировались ионофором A23187 [22].

Для суждения о возможных эффектах тромбоцитов и их МЧ существенное значение имели бы данные морфологического, электронно-микроскопического анализа МЧ. Конечно, необходимо было бы знать о представительстве в МЧ гранул тромбоцитов, прежде всего богатых биологически-активными веществами и наиболее многочисленных в тромбоците α

гранул. Однако ответа на этот самый первостепенный и очевидный вопрос в литературе найти не удалось. Даже в статьях, посвященных методам анализа тромбоцитарных МЧ [23—26] первичных, доказательных морфологических препаратов не представлено. В отечественной статье по ТМЧ и, по-видимому, лучшей электронно-микроскопической работе по обсуждаемой теме, в МЧ различимы преимущественно только мембраны, а из внутреннего содержимого показаны митохондрии и гранулы гликогена [27].

Отделение активированными тромбоцитами МЧ сопровождается перемещением фосфатидилсерина с внутреннего слоя клеточной мембраны на наружный. Таким образом, усиливается (сравнительно с тромбоцитом) тромбогенное действие ТМЧ и, кроме того, фосфатидилсерин становится важным маркером для идентификации ТМЧ [28]. Количество и качество ТМЧ зависит от активирующего стимула [29]. Проточной цитометрией и протеомным анализом исследовали влияние 2 способов активации: стрессом сдвига и тромбином. При стрессе сдвига тромбоциты отделяли большее число МЧ. Существенное различие в зависимости от способа активации обнаружено по содержанию 30 белков, в том числе двух регуляторов ангиогенеза: Dok-2 и интегрин α 6 [30]. Содержание ТМЧ заметно различается даже у здоровых доноров [31].

Процесс образования МЧ тромбоцитами выражен значительно, чем это бывает в других клетках. МЧ тромбоцитов раньше других МЧ были идентифицированы и описаны [4]. Не так давно считали, что они наиболее многочисленны, составляют около 80% присутствующих в крови МЧ. [32, 33]. Однако более поздние исследования публикуют цифру: 25% [34]. Концентрация ТМЧ в крови 100/1000/мкл [35]. ТМЧ содержат мембранные белки и пептиды (рецепторы, цитокины), белки цитоскелета, в том числе актин, фосфатидилсерин, гликопротеины, протеолитические ферменты [36], металлопротеиназы, факторы роста [23], мРНК, мкРНК и ДНК [2].

Состав МЧ различается в зависимости от метода их анализа [24]. Такие технические моменты как: антикоагулянт, скорость центрифугирования, протокол фильтрации, условия хранения — влияют на особенности полученного образца [2].

Обширный комплект веществ, полученных от родительских клеток, обеспечивает ТМЧ возможность осуществлять большой набор межклеточных взаимодействий и таким образом участвовать во многих физиологических и патологических процессах. Описано, например, что в мозге они могут положительно влиять на синаптическую активность, регенерацию нервов, нейропротекцию [37] содержат ангиогенные факторы и стимулируют ангиогенез [38].

По данным А. Rank с сотрудниками [39], полупериод жизни перелитых ТМЧ в крови человека оказался 5,3—5,8 ч. Устраняться из циркулирующей крови МЧ могут несколькими способами: деградацией фосфолипазами и протеазами; опсонизацией и последующим фагоцитозом Купферовскими клетками, спленоцитами, макрофагами легких [2].

МЧ любых клеток могут проявлять прокоагулянтную активность уже за счет обилия мембранных поверхностей как пусковых моментов каскада тромбообразования. Не удивительно, что в отношении ТМЧ подозрения в прокоагулянтной активности кажутся наиболее оправданными. Действительно исследования обнаружили увеличение содержания ТМЧ при тромбозах венозного и артериального русла. Однако авторы не сочли возможным сделать заключение, о том является ли повышенное содержание ТМЧ в крови причиной или результатом тромбоза [40]. Есть сообщение, что ТМЧ могут усиливать тромбообразование на поздних стадиях при раке ободочной кишки [41]. В присутствии ТМЧ усиливается фиксация тромбоцитов и фибрина на атеросклеротических бляшках [42]. Генерация ТМЧ стимулируется *in vitro* при взятии и хранении крови. Это обстоятельство, отмеченное первооткрывателем ТМЧ Р. Wolf [4], может стать причиной осложнений при переливаниях крови [35]. Обнаружен повышенный уровень ТМЧ у людей перенесших инфаркт миокарда [43].

Недавно появилось сообщение большого коллектива по исследованию механизма тромботических осложнений при диабете и подходов к профилактике таких осложнений [44]. Изучали кровь здоровых и больных диабетом людей и мышей. В поиске способа профилактики авторы ориентировались на недавние сообщения о том, что стресс эндоплазматического ретикулаума стимулирует аутофагию и тем способствует выживанию клеток при оксидативном стрессе [45, 46]. Аутофагия — нормальный, регулируемый процесс очищения клетки от необратимо поврежденных структур с помощью лизосом. При макроаутофагии устраняются крупные образования, например, митохондрии. Явление в этом случае называется митофагией, происходит во многих клетках и в тромбоцитах в том числе. Оксидативный стресс, развивающийся при диабете, запускает в тромбоцитах следующую цепь событий: увеличивает содержание ROS, нарушает функцию митохондрий, фосфорилирует p53, усиливает апоптоз. Главным виновником большой частоты тромбозов в сердце и мозге у больных диабетом называют дисфункцию митохондрий и разрушение их апоптозом. Авторы конкретно не связывают апоптоз с увеличенным образованием ТМЧ, но, такое увеличение, как указывалось выше, не может не происходить и оно, конечно, усиливает гемостатиче-

ский потенциал крови. В то же время оксидативный стресс при диабете может выражаться и другой последовательностью изменений. Поврежденные митохондрии могут удаляться не апоптозом, а путем митофагии, уровень которой поддается регулированию. Необходимый уровень митофагии создавали *in vitro* в крови больных диабетом и наблюдали снижение гемостатических характеристик крови. В качестве перспективы клинического использования результатов работы успешно испытана возможность выращивать в культуре мегакариоцитов «тромбоцитоподобные частицы» (plateletlike particle), но экспериментов с ними не проводили и больным эти частицы не переливали. Видимо следует оценить это исследование как заслуживающее дальнейшей разработки и имеющее вероятность практического применения. Авторы смогли регуляцией уровня митофагии снизить коагулирующее действие крови больных диабетом. Конечно, на основе этого знания нельзя уже сегодня переливать соответственно обработанные тромбоциты больным, но после дополнительных проверок, эта идея, может быть, будет принята клиницистами. В этой связи следует сказать о разработке в последние годы (пока тоже не воплотившейся в практику) способа выращивания тромбоцитов в культуре [47, 48]. Возможно, однако, что более успешным в лечении окажется не переливание «исправленной» крови, а «исправление» на основе полученных знаний крови *in vivo*.

Прежде всего, ТМЧ влияют на биологические свойства ближайших соседей: клетки крови и кровяные клетки. Сокультивирование ТМЧ с нормальными стволовыми и прогениторными клетками крови, а также с лейкоцитарными клетками вызывало ответную реакцию этих клеток, выражающуюся хемотаксисом, стимуляцией адгезии, пролиферации и приживления, активацией внутриклеточных сигнальных систем [49]. Действие ТМЧ лишь частично снижалось нагревом или трипсином. Это доказывает, что их биологическая активность обусловлена не только белковым, но и липидным компонентом.

Есть сообщения о прорегенераторном действии ТМЧ. Из крови больных атеросклерозом выделяли мононуклеарные клетки и ТМЧ. Среди мононуклеаров были циркулирующие ангиогенные клетки (ЦАК) Сокультивирование ТМЧ и ЦАК повышало адгезивную способность ЦАК. Внутривенная инъекция таких ЦАК крысам с ишемией задних конечностей улучшала васкуляризацию, увеличивала инкорпорацию ЦАК в капилляры ишемизированных конечностей [50].

В клиническом исследовании американских и китайских врачей, проведенном на 112 больных с острым ишемическим инсультом (контроль 35 здоровых людей), обнаружено значительное увеличение

содержания ТМЧ и тромбоцитов у больных по сравнению с контролем. Антитромбоцитарная терапия у пациентов снижала уровень ТМЧ, но не тромбоцитов. Объем инфаркта положительно коррелировал с содержанием ТМЧ у больных с атеросклерозом крупных артерий. С содержанием тромбоцитов корреляции не отмечено. Не найдено корреляции уровня ТМЧ с факторами риска: гипертонической болезнью, диабетом [51].

Группа исследователей из Израиля изучала возможность терапевтического применения ТМЧ человека в экспериментах с ишемизирующим тромбозом в сердце и мозге. В модели инфаркта у крыс А. Brill с сотрудниками [52] сразу после перевязки левой коронарной артерии вводили в миокард по периферии ишемизированного участка ТМЧ. Через 3 нед. наблюдали статистически значимое увеличение числа сосудов в поврежденной области сравнительно с контролем (введение раствора без ТМЧ). В том же учреждении и по той же схеме эксперимента выполнены несколько работ по исследованию действия ТМЧ на течение инсульта [53]. У спонтанно гипертензивных крыс в возрасте 13 нед. вызывали окклюзию средней мозговой артерии, что приводило к инсульту фронтально-паритетальной коры, занимающей 19—24% полушария. Поврежденный участок закрывали пленкой (5x5 мм) биоразлагаемого полимера с фосфатным буферным раствором (ФБ) или с ФБ, содержащем взвесь 10 мкг/мл или 100 мкг/мл ТМЧ. Местным применением ТМЧ авторы рассчитывали создать регенеративный эффект и избавиться от тромботического эффекта циркулирующих по сосудам ТМЧ. В течение 90 сут. после инсульта многократно исследовали степень восстановления нарушенной двигательной активности. В проведенном через 90 сут. морфологическом исследовании иммуноцитохимически определяли число сосудов и меченых предшественником ДНК (BrdU) клеток. ТМЧ дозозависимо увеличивали плотность расположения сосудов на границе зоны инсульта. Частота колаколизации метки эндотелиоцитов и BrdU указывала на то, что многие из этих сосудов были вновь образованными. На границе зоны повреждения в группе животных с ТМЧ увеличивалось число клеток совмещавших метку BrdU с меткой астроцитов, олигодендроцитов и нейронов (в последнем случае демонстрация не убедительна). Это доказывает, что ТМЧ стимулируют дифференцировку нейральных стволовых клеток. В то же время большое количество клеток, совмещающих метку BrdU с меткой клеток-предшественников (SOX2, Nestin) как в группе с ТМЧ, так и в контроле свидетельствует, что полная дифференцировка клеток ЦНС занимает много времени. Тем не менее, недифференцированных предшественников в группе ТМЧ было боль-

ше. Первые признаки восстановления нарушенной инсультом двигательной активности отмечали через 20 сут. В группе ТМЧ восстановление происходило быстрее и с дозозависимым эффектом. Размер очагов инсульта был меньше в группе ТМЧ, однако разница с контролем не достигала статистически значимой величины. В другом, сходном по схеме, эксперименте того же коллектива, где испытывали не ТМЧ, а лизат тромбоцитов (введение в боковой желудочек) авторы наблюдали через 90 сут. статистически значимое уменьшение величины очага и увеличение скорости восстановления функции [54].

ТМЧ усиливают прокоагулянтное действие тромбоцитов, могут способствовать метастазированию раковых клеток, тромбообразованию после операций на сосудах [55], развитие воспаления, стимулировать процессы регенерации. Будучи посредником в передаче информации от тромбоцитов клеткам-мишеням, они не просто перемещают произведенные тромбоцитами активные молекулы, но могут количественно и качественно менять переданный сигнал. Очень важны для медицинской практики данные об ускоренном образовании ТМЧ при заготовке крови, разделении её на компоненты и хранении. Это может обернуться тромботическими и воспалительными побочными реакциями при переливаниях крови больным. Кроме того, отчетливо обозначается необходимость строгого соблюдения отработанных методов работы с жидкостями, содержащими ТМЧ, чтобы получать ожидаемые биологические эффекты. Имеются благоприятные результаты терапевтического использования ТМЧ.

References

1. Arraud N., Linares R., Tan S., Gounou C., Pasquet J.M., Mornet S., et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost.* 2014;12:614-27.
2. Barteneva N.S., Fasler-Kan E., Bernimoulin M., Stern J.N., Ponomarev E.D., Duckett L., et al. Circulating microparticles: square the circle. *BMC Cell Biol.* 2013; Apr 22:14-23.
3. O'Brien J.R. The platelet-like activity of serum. *Br J Haematol.* 1955; Apr;1(2):223-8.
4. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematology.* 1967;13(3):269-88.
5. McGinn C.M., MacDonnell B.F., Shan C.X., Wallace R., Cummins P.M., Murphy R.P. Microparticles: A Pivotal Nexus in Vascular Homeostasis and Disease. *Curr Clin Pharmacol.* 2016;11(1):28-42.
6. Antwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C., Kyeremeh R., Kyei F., Seidu M.A. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun Inflamm Dis.* 2015; Sep;3(3):133-40.

7. Burger D., Schock S., Thompson C.S., Montezaño A.C., Hakim A.M., Touyz R.M. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clinical Science*. 2013;124(7):423-41.
8. Lannan K.L., Sahler J., Kim N., Spinelli S.L., Maggirwar S.B., Garraud O., et al. Breaking the mold: transcription factors in the anucleate platelet and platelet-derived microparticles. *Front Immunol*. 2015; Feb 13:6:48.
9. Morel O., Jesel L., Hugel B., Douchet M.P., Zupan M., Chauvin M., et al. Protective effects of vitamin C on endothelium damage and platelet activation during myocardial infarction in patients with sustained generation of circulating microparticles. *J Thromb Haemost*. 2003;1:171-7.
10. 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; Feb,16(1):26-32.
11. Falanga A., Tartari C.J., Marchetti M. Microparticles in tumor progression. *Thromb Res*. 2012; Apr;129 Suppl 1:S132-6.
12. Flaumenhaft R., Dilks J.R., Richardson J., Alden E., Patel-Hett S.R., Battinelli E., et al. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood*. 2009; Jan 29;113(5):1112-21.
13. Italiano J.E., Mairuhu A.T., Flaumenhaft R. Clinical relevance of microparticles from platelets and megakaryocytes. *Curr Opin Hematol*. 2010; Nov 17(6):578-84.
14. Goubran H.A., Burnouf T., Stakiw J., Seghatchian J. Platelet microparticle: a sensitive physiological «finetuning» balancing factor in health and disease. *Transfus Apher Sci* 2014; 52: 12-8.
15. Rondina M.T., Weyrich A.S. Regulation of the genetic code in megakaryocytes and platelets. *J Thromb Haemost*. 2015; Jun13 Suppl 1:S26-32.
16. Clancy L., Freedman J.E. New paradigms in thrombosis: novel mediators and biomarkers platelet RNA transfer. *J Thromb Thrombolysis*. 2014; 37: 12-6.
17. Diehl P., Fricke A., Sander L., Stamm J., Bassler N., Htun N., et al. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc. Res*. 2012; 93:633-644.
18. Christianson H.C., Svensson K.J., van Kuppevelt T.H., Li J.P., Belting M. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:17380-5.
19. Faille D., El-Assaad F., Mitchell A.J., Alessi M.C., Chimini G., Fusai T., et al. Endocytosis and intracellular processing of platelet microparticles by brain endothelial cells. *J Cell Mol Med*. 2012; Aug 16(8):1731-8.
20. Tanaka M., Itai T., Adachi M., Nagata S. Down regulation of Fas ligand by shedding. *Nat Med*. 1998;4:31-6.
21. Biro E., Akkerman J.W., Hoek F.J., Gorter G., Pronk L.M., Sturk A., et al. The phospholipid composition and cholesterol content of platelet-derived microparticles: a comparison with platelet membrane fractions. *J Thromb Haemost*. 2005;3:2754-2763.
22. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y., Pichugin A.V., Panteleev M.A., Krymskaya O.V., et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost*. 2007; Mar 97(3):425-34.
23. 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; Jul 28(4):155-66.
24. Schindler S.M., Little J.P., Klegeris A. Microparticles: a new perspective in central nervous system disorders *Biomol Res Int*. 2014;756327.
25. Arraud N., Linares R., Tan S., Gounou C., Pasquet J.M., Mornet S., et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost*. 2014; May12(5):614-27.
26. Gyorgy B., Szabo T.G., Turiak L., Wright M., Herczeg P., Ledeczki Z., et al. Improved flow cytometric assessment reveals distinct microvesicle (cell-derived microparticle) signatures in joint diseases. *PLoS One*. 2012;7(11):e49726.
27. Ponomareva A.A., Nevzorova T.A., Mordakhanova E.R., Andrianova I.A., Litvinov R.I. Structural characterization of platelets and platelet-derived microvesicles. *Tsitologiya*. 2016;58(2):105-14. (in Russian)
28. Antwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C., Kyeremeh R., Kyei F., Seidu M.A. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun Inflamm Dis*. 2015; Sep 3(3):133-40.
29. 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.
30. Shai E., Rosa I., Parguina A.F., Motahedeh S., Varon D., Garcia A. Comparative analysis of platelet-derived microparticles reveals differences in their amount and proteome depending on the platelet stimulus. *J Proteomics*. 2012; Dec 5;76 Spec No.:287-96.
31. Kriebardis A.G., Antonelou M.H., Georgatzakou H.T., Tzounakas V.L., Stamoulis K.E., Papassideri I.S. Microparticles variability in fresh frozen plasma: preparation protocol and storage time effects. *Blood Transfus*. 2016; May 14(2):228-37.
32. 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.
33. 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; Sep 20(9): 1487-95.
34. Arraud N., Linares R., Tan S., Gounou C., Pasquet J.M., Mornet S., et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost*. 2014; 12:614-27.
35. Simak J., Gelderman M.P. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfus Med Rev* 2006;20:1-260.
36. Antwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C., Kyeremeh R., Kyei F., Seidu M.A. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun Inflamm Dis*. 2015; Sep 3(3):133-40.
37. Lai C.P., Breakefield X.O. Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies. *Frontiers in Physiology*. 2012; 3, article 228.
38. Rhee J.S., Black M., Schubert U., Fischer S., Morgenstern E., Hammes H.P., et al. The functional role of blood platelet components in angiogenesis. *Thromb Haemost*. 2004;92:394-402.

39. Rank A., Nieuwland R., Crispin A., Grutzner S., Iberer M., Toth B., et al. Clearance of platelet microparticles in vivo. *Platelets*. 2011;22:111-16.
40. Nomura S., Shimizu M. Clinical significance of procoagulant microparticles. *J Intensive Care*. 2015; Jan 7:3(1):2.
41. Zhao L., Bi Y., Kou J., Shi J., Piao D. Phosphatidylserine exposing-platelets and microparticles promote procoagulant activity in colon cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016; Mar 25: 35:54.
42. Suades R., Padro T., Vilahur G., Badimon L. Circulating and platelet-derived microparticles in human blood enhance thrombosis on atherosclerotic plaques. *Thromb Haemost*. 2012; Dec 108(6):1208-19.
43. Michelsen A.E., Brodin E., Brosstad F., Hansen J.B. Increased level of platelet microparticles in survivors of myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008; 68(5):386-92.
44. Lee S.H., Du J., Stitham J., Atteya G., Lee S., Xi-ang Y., et al. Inducing mitophagy in diabetic platelets protects against severe oxidative stress. *EMBO Mol Med*. 2016; Jul 1 8(7):779-95.
45. Habertzell P., Hill B.G. Oxidized lipids activate autophagy in a JNK-dependent manner by stimulating the endoplasmic reticulum stress response. *Redox Biol*. 2013 Jan 26;1:56-64.
46. Cai Y., Arikath J., Yang L., Guo M.L., Periyasamy P., Buch S. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders. *Autophagy*. 2016;12(2):225-44.
47. Thon J.N., Mazutis L., Wu S., Sylman J.L., Ehrlicher A., Machlus K.R. et al. Platelet bioreactor-on-a-chip. *Blood*. 2014; Sep 18;124(12):1857-67.
48. Wang B., Zheng J. Platelet generation in vivo and in vitro. *Springerplus*. 2016; Jun 21;5(1):787.
49. Baj-Krzyworzeka M., Majka M., Pratico D., Ratajczak J., Vilaire G., Kijowski J., et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol*. 2002; May 30(5):450-9.
50. Ohtsuka M., Sasaki K., Ueno T., Seki R., Nakayoshi T., Koiwaya H., et al. Platelet-derived microparticles augment the adhesion and neovascularization capacities of circulating angiogenic cells obtained from atherosclerotic patients. *Atherosclerosis*. 2013; Apr 227(2):275-82.
51. Chen Y., Xiao Y., Lin Z., Xiao X., He C., Bihl J.C., et al. The Role of Circulating Platelets Microparticles and Platelet Parameters in Acute Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015; Oct;24(10):2313-20.
52. 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.
53. Hayon Y., Dashevsky O., Shai E., Brill A., Varon D., Leker R. R. Platelet microparticles induce angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia. *Curr. Neurovasc. Res*. 2012; 9: 185-192.
54. Hayon Y., Dashevsky O., Shai E., Varon D., Leker R.R. Platelet lysates stimulate angiogenesis, neurogenesis and neuroprotection after stroke. *Thromb. Haemost*. 2013; 11: 323-330.
55. Kuznik B.I., Bogdanov I.G., Isakova N.V., Serebrijskij I.I., Kas'janenko N.V. Thrombodynamic properties of arterial and venous blood in ischemic patients in preoperative and early postoperative periods after bypass grafting. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2015; 59(1): 39-45. (in Russian)