<https://doi.org/10.36396/MS.2019.14.03.005>

Коагуляционные свойства мембранных микрочастиц тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов и эндотелиальных клеток

О.А. АНТОНОВА, Н.В. ГОЛУБЕВА, О.А. ШУСТОВА, В.В. ЯКУШКИН, А.В. МАЗУРОВ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Мембранные микрочастицы (МЧ) образуются при активации и/или повреждении клеток. Они обладают коагуляционной активностью (ускоряют свертывание крови), так как содержат на своей поверхности фосфатидилсерин — субстрат для образования коагуляционных комплексов, а некоторые из них — тканевой фактор (ТФ), главный инициатор коагуляционных реакций. Циркулирующие в кровотоке МЧ продуцируются клетками крови и эндотелиальными клетками сосудистой стенки, и их содержание может меняться при различных патологических состояниях. Сравнительные *in vitro* исследования показали, что наибольшей способностью ускорять свертывание плазмы крови обладают МЧ моноцитов и эндотелиальных клеток и более низкой — МЧ тромбоцитов, эритроцитов и гранулоцитов (нейтрофилов). Эти различия обусловлены главным образом присутствием в МЧ моноцитов и эндотелиальных клеток активного ТФ и отсутствием его в МЧ тромбоцитов, эритроцитов и гранулоцитов. Вариации размера МЧ различного клеточного происхождения существенно не влияют на их коагуляционные свойства. Таким образом, на коагуляционный (протромботический) потенциал крови могут оказывать влияние в первую очередь МЧ, экспрессирующие ТФ, источником которых могут быть активированные и/или поврежденные моноциты и эндотелиальные клетки.

Ключевые слова: мембранные микрочастицы, коагуляция крови, фосфатидилсерин, тканевой фактор, тромбоциты, эритроциты, лейкоциты, эндотелиальные клетки.

Coagulation properties of membrane microparticles of platelets, erythrocytes, leukocytes and endothelial cells.

ANTONOVA O.A., GOLUBEVA N.V., YAKUSHKIN V.V., SHUSTOVA O.A., MAZUROV A.V.

National Medical Research Center for Cardiology, Russian Ministry of Health, Moscow, Russian Federation

Membrane microparticles (MPs) are formed upon cell activation and/or damage. They possess coagulation activity (accelerate blood clotting) since they contain on their surface phosphatidylserine, substrate for assembling coagulation complexes, and some of them tissue factor (TF), major initiator of coagulation reactions. Circulating MPs are produced by blood cells and vessel wall endothelial cells and their amount could be changed in different pathological conditions. Comparative *in vitro* studies have shown that MPs derived from monocytes and endothelial cells have the highest and MPs derived from platelets, erythrocytes and granulocytes (neutrophils) much lower ability to accelerate blood plasma clotting. These differences are mainly determined by the presence of active TF in monocyte and endothelial MPs and its absence in platelet, erythrocyte and granulocyte MPs. Size variations of MPs of different cellular origin do not significantly affect their coagulation properties. Thus, coagulation (prothrombotic) blood potential could be influenced first of all by TF expressing MPs the source of which are activated and/or damaged monocytes and endothelial cells.

Key words: membrane microparticles, blood coagulation, phosphatidylserine, tissue factor, platelets, erythrocytes, leukocytes, endothelial cells.

Сведения об авторах:

Антонова Ольга Александровна — НМИЦ кардиологии Минздрава России, e-mail: loa_lu@mail.ru

Голубева Нина Владимировна — НМИЦ кардиологии Минздрава России, e-mail: ngolubeva0@gmail.com

Шустова Ольга Александровна — НМИЦ кардиологии Минздрава России, e-mail: vesta21@yandex.ru

Якушкин Владимир Владимирович — НМИЦ кардиологии Минздрава России, e-mail: abc2109yb@mail.ru

Мазуров Алексей Владимирович — профессор, главный научный сотрудник, и.о. руководителя лаборатории клеточной адгезии НМИЦ кардиологии Минздрава России, (ORCID ID 0000-0003-4470-0124) +7 (916) 627-05-43 (моб.), +7 (495) 414-37-35 (раб.); e-mail: avmazurov@list.ru, (автор, ответственный за переписку)

Мембранные микрочастицы (МЧ) представляют собой везикулярные фрагменты плазматической мембраны, которые высвобождаются в окружающую среду при активации и/или повреждении различных клеток. МЧ имеют размер от 100 до 1000 нм и содержат на своей поверхности белки «родительской» клетки. Микрочастицы отличают от еще одного типа внеклеточных мембранных частиц — экзосом. Экзосомы имеют меньший размер, от 40 до 100 нм, образуются внутри клетки и секретируются после слияния с плазматической мембраной, содержащей их внутриклеточные мультивезикулярные тельца. И МЧ, и экзосомы могут переносить биологически активные молекулы (белки, липиды, нуклеиновые кислоты) от продуцирующей их клетки к другим клеткам организма [1,2]. Однако МЧ обладают также выраженной коагуляционной активностью, т.е. способностью ускорять реакции свертывания крови [3–5]. Микрочастицы, в отличие от экзосом, содержат на своей поверхности большое количество фосфатидилсерина [6–8] — отрицательно заряженного фосфолипида, служащего субстратом для сборки коагуляционных комплексов. Некоторые виды МЧ содержат также тканевой фактор (ТФ) — трансмембранный белок, запускающий реакции коагуляционного каскада [6–8].

Источниками циркулирующих в кровотоке МЧ могут быть клетки крови и эндотелиальные клетки сосудистой стенки. МЧ различного клеточного происхождения определяют с помощью проточной цитометрии, используя флуоресцентно меченые антитела против специфических маркеров поверхности «родительских» клеток [5]. Количество МЧ в крови может изменяться при различных патологических состояниях (что, очевидно, является отражением активации/повреждения соответствующих клеток), в частности у больных с тромботическими осложнениями сердечно-сосудистых патологий или высоким риском их развития. У больных с острым коронарным синдромом было зарегистрировано повышение МЧ тромбоцитов [9–12], эритроцитов [13–15], моноцитов [16, 17] и эндотелиальных клеток [16–19]. Увеличение количества МЧ тромбоцитов наблюдали у больных с тяжелым атеросклерозом [20], МЧ моноцитов — у больных сахарным диабетом [21, 22], а МЧ эндотелиальных клеток — у больных с тромбозом [23]. Так как МЧ коагуляционно активны, они могут влиять и на протекание свертывающих реакций в процессе тромбообразования. В связи с этим актуальным вопросом является сравнительная характеристика коагуляционной активности МЧ различного клеточного происхождения.

В серии работ, выполненных в последние годы, мы сравнивали коагуляционную активность и некоторые другие характеристики получаемых *in vitro* МЧ клеток тромбоцитов, эритроцитов, моноцитов, гранулоцитов (нейтрофилов) и эндотелиальных клеток [24–27]. В настоящем обзоре полученные нами результаты обобщены и сопоставлены с данными других авторов.

Для получения МЧ различного клеточного происхождения использовали тромбоциты, эритроциты, моноциты и гранулоциты, выделенные из крови здоровых доноров, культивируемые моноцитарные клетки линии ТНР-1 и культивируемые эндотелиальные клетки пупочной вены

человека. Тромбоциты активировали TRAP (Thrombin Receptor Activating Peptide — пептид, активирующий рецептор тромбина), моноциты крови, моноцитарные клетки ТНР-1, гранулоциты и эндотелиальные клетки — бактериальным липополисахаридом, а эритроциты — кальциевым ионофором А23187. Образовавшиеся МЧ выделяли из клеточного надосадка осаждением при 20 000 g, 30 мин. МЧ подсчитывали с помощью проточной цитометрии. Для исследования коагуляционной активности МЧ применяли модифицированный тест рекальцификации плазмы. В плазму крови доноров, лишенную эндогенных МЧ (центрифугирование при 20 000 g, 90 мин.), добавляли МЧ и определяли лаг-фазу и максимальную скорость свертывания плазмы (образование фибрина) после внесения кальция. Для изучения участия фосфатидилсерина и ТФ в свертывающих реакциях использовали блокатор фосфатидилсерина, белок лактадгерин и антитела против ТФ соответственно. Актив-

Таблица 1. Параметры свертывания плазмы в присутствии МЧ различного клеточного происхождения

Источник МЧ	Лаг-фаза, мин.	V _{макс} , А450/мин.
Моноциты (МО) (n=10)	1,8±1,2	37,0±15,0
Моноцитарные клетки ТНР-1 (ТНР) (n=10)	4,6±1,4 p (МО)<0,001	31,3± 9,0 p (МО)=0,341
Эндотелиальные клетки (ЭК) (n=6)	4,9±1,6 p (МО)<0,001 p (ТНР)=0,701	26,8±7,5 p (МО)=0,147 p (ТНР)=0,324
Тромбоциты (ТЦ) (n= 4)	8,9±1,3 p (МО)<0,001 p (ТНР)<0,001 p (ЭК)<0,001	25,1±5,3 p (МО)=0,011 p (ТНР)=0,046 p (ЭК)=0,565
Гранулоциты (ГР) (n=6)	8,9±3,1 p (МО)<0,001 p (ТНР)<0,001 p (ЭК)=0,019 p (ТЦ)=0,961	14,7±4,5 p (МО)=0,004 p (ТНР)=0,001 p (ЭК)=0,007 p (ТЦ)<0,001
Эритроциты (ЭР) (n=11)	11,5±1,8 p (МО)<0,001 p (ТНР)<0,001 p (ЭК)<0,001 p (ТЦ)<0,001 p (ГЦ)=0,040	11,3±2,7 p (МО)<0,001 p (ТНР)<0,001 p (ЭК)<0,001 p (ТЦ)<0,001 p (ГЦ)=0,073

Коагуляционную активность МЧ различного происхождения изучали с помощью модифицированного теста рекальцификации плазмы. Свертывание плазмы (образование фибрина) определяли после добавления кальция, регистрируя оптическую плотность при 450 нм (А450). К плазме, лишенной экзогенных МЧ (центрифугирование при 20 000 g, 90 мин.), добавляли МЧ в количестве $1,5 \times 10^7$ и измеряли лаг-фазу и максимальную скорость свертывания (V_{макс}). Приведены средние ± стандартные отклонения, в скобках указано количество препаратов МЧ (n). p (МО), p (ТНР), p (ЭК), p (ТЦ) и p (ГЦ) — достоверности отличий от групп «Моноциты», «Моноцитарные клетки ТНР-1», «Эндотелиальные клетки», «Тромбоциты» и «Гранулоциты» соответственно (t-критерий Стьюдента). Лаг-фаза и V_{макс} для плазмы без МЧ составили 23,3±5,8 мин и 8,5±2,0 А450/мин. (n=23); достоверность отличий обоих показателей от показателей в присутствии любых МЧ — p≤0,001. Собственные обобщенные данные [26, 27].

Таблица 2. Активный ТФ в МЧ различного клеточного происхождения

Источник МЧ	Активный ТФ, фмоль/108МЧ
Моноциты (n=15)	1,97±2,20
Моноцитарные клетки ТНР-1 (n=9)	1,54±1,17
Эндотелиальные клетки (n=10)	0,79±0,23*
Тромбоциты (n=4)	0
Гранулоциты (n=6)	0
Эритроциты (n=4)	0

Количество активного ТФ в МЧ различного происхождения определяли по его способности активировать фактор X с помощью хромогенного теста, добавляя в пробу 0,25x10⁸ МЧ (моноциты, гранулоциты), 0,5x10⁸ МЧ (моноцитарные клетки ТНР-1), 1,0x10⁸ МЧ (эндотелиальные клетки и тромбоциты) и 5,0x10⁸ МЧ (эритроциты). В скобках количество препаратов МЧ (n). Представлены средние ± стандартные отклонения количества активного ТФ в МЧ. 0 — ниже порога чувствительности метода (<0,02 фмоль в пробе). * — p<0,05 — достоверность отличий от группы «Моноцитарные клетки ТНР-1» (t-критерий Стьюдента). Различия между группами «Моноциты» и «Моноцитарные клетки ТНР-1» и группами «Моноциты» и «Эндотелиальные клетки» недостоверны. Достоверность различий с группами, в которых активность ТФ не регистрировалась, не определяли. Собственные обобщенные данные [24, 26, 27].

ность ТФ в МЧ оценивали с помощью хромогенного теста по его способности активировать фактор X. Также в наших работах мы определяли размер МЧ различного клеточного происхождения с помощью метода динамического светорассеивания. (Подробное описание методов см. [24–27].)

Все МЧ ускоряли свертывание плазмы (примеры кривых свертывания представлены на рис. 1, а обобщающие данные — в табл. 1). При этом блокирование фосфатидилсерина лактадгерином полностью подавляло свертывание плазмы (см. рис. 1) [26, 27]. Наиболее высокую коагуляционную активность (короткие лаг-фазы и максимальные скорости свертывания) демонстрировали МЧ моноцитов, моноцитарных клеток ТНР-1 и эндотелиальных клеток. Существенно более низкая активность наблюдалась у МЧ тромбоцитов, гранулоцитов и эритроцитов (см. табл. 1) [26, 27]. Дальнейшие исследования показали, что МЧ моноцитов, клеток ТНР-1 и эндотелиальных клеток содержат активный ТФ. Антитела против ТФ удлинляли лаг-фазу свертывания в присутствии этих МЧ, и в них была зарегистрирована активность ТФ с помощью хромогенного теста. В то же время активный ТФ не был обнаружен в МЧ тромбоцитов, гранулоцитов и эритроцитов. Антитела против ТФ не влияли на свертывание в присутствии этих МЧ, и в них не удалось определить активность ТФ в хромогенном тесте. Примеры действия антител против ТФ на свертывание плазмы в тесте рекальцификации приведены на рис. 1, а результаты определения активности ТФ во всех типах МЧ — в табл. 2 [24, 26, 27]. МЧ моноцитов и клеток ТНР-1 содержали несколько больше активного ТФ, чем МЧ эндотелиальных клеток, однако вследствие боль-

шого разброса данных различия достигали достоверного уровня только при сравнении МЧ эндотелиальных клеток с МЧ клеток ТНР-1. В одной из наших работ [26] мы также продемонстрировали, что ингибирование активности ТФ в МЧ моноцитов, клеток ТНР-1 и эндотелиальных клеток приводит к выравниванию показателей свертывания в присутствии этих МЧ и МЧ тромбоцитов и гранулоцитов. Таким образом, совокупность полученных данных указывает на то, что более высокая коагуляционная активность МЧ моноцитов (в том числе моноцитарных клеток ТНР-1) и эндотелиальных клеток по сравнению с МЧ тромбоцитов, гранулоцитов и эритроцитов определяется главным образом наличием в них активного ТФ.

В наших работах мы впервые провели сравнительные исследования размера МЧ различного клеточного происхождения [25–27], предполагая, что размер МЧ может потенциально влиять и на их коагуляционную активность. Для определения размера МЧ использовали метод динамического светорассеивания. В зависимости от типа клеток-продуцентов размер (средний диаметр) МЧ варьировался в диапазоне от 200 до 600 нм. Данные табл. 3 демонстрируют, что наиболее крупными были МЧ эндотелиальных клеток и гранулоцитов (средний диаметр около 600 нм), несколько более мелкими — МЧ моноцитов, клеток ТНР-1 и тромбоцитов (средние диаметры приблизительно от 400 до 500 нм) и существенно более мелкими оказались МЧ эритроцитов

Таблица 3. Размер МЧ различного клеточного происхождения

Источник МЧ	Средний диаметр МЧ, нм
Эндотелиальные клетки (ЭК) (n=6)	591±21
Гранулоциты (ГР) (n=4)	581±10 p (ЭК)=0,376
Моноциты (МО) (n=10)	485±61 p (ЭК)=0,002 p (ГЦ)=0,016
Моноцитарные клетки ТНР 1 (ТНР) (n=7)	410±35 p (ЭК)<0,001 p (ГЦ)<0,001 p (МО)=0,017
Тромбоциты (ТЦ) (n=10)	382±56 p (ЭК)<0,001 p (ГЦ)<0,001 p (МО)=0,004 p (ТНР)=0,276
Эритроциты (ЭР) (n=9)	213±14 p (ЭК)<0,001 p (ГЦ)<0,001 p (МО)<0,001 p (ТНР)<0,001 p (ТЦ)<0,001

Размер (средний диаметр) МЧ различного происхождения определяли методом динамического светорассеивания. Представлены средние ± стандартные отклонения, в скобках указано количество препаратов МЧ (n). p (ЭК), p (ГР), p (МО), p (ТНР), p (ТЦ) — достоверности отличий от групп «Эндотелиальные клетки», «Гранулоциты», «Моноцитарные клетки ТНР-1», «Моноциты» и «Тромбоциты» соответственно (t-критерий Стьюдента). Собственные обобщенные данные [25–27].

(средний диаметр около 200 нм). Эти данные показали отсутствие прямой зависимости между размером МЧ и их способностью стимулировать свертывающие реакции. Например, коагуляционно наиболее активные МЧ моноцитов и клеток ТНР-1 были не самими крупными, а малоактивные МЧ гранулоцитов, наоборот, были одними из самых крупных. Возможно, лишь очень низкая активность МЧ эритроцитов, которая была даже несколько ниже, чем у МЧ тромбоцитов и гранулоцитов (см. табл. 1), также не экспрессирующих ТФ, частично определяется их очень мелким размером.

Сравнительные исследования МЧ моноцитов и тромбоцитов проводились в работах М. Aleman и соавт. [28] и С. Tripisciano и соавт. [7], а МЧ моноцитов, тромбоцитов и эритроцитов — в работе Р. Van Der Meijden и соавт. [29]. Эти авторы использовали для оценки коагуляционной активности МЧ тест генерации тромбина. В их работах, как и в наших исследованиях, было продемонстрировано наличие ТФ в МЧ моноцитов и его отсутствие в МЧ тромбоцитов и эритроцитов и показано, что благодаря этому МЧ моноцитов стимулируют образование тромбина сильнее, чем МЧ тромбоцитов и эритроцитов. Отсутствие ТФ в МЧ эритроцитов было отмечено также в еще одной публикации [30]. Экспрессия ТФ в МЧ эндотелиальных клеток наряду с нашими исследованиями была зарегистрирована и рядом других авторов [31–34].

Проведенные нами исследования и данные литературы показали, что коагуляционно наиболее активными являются МЧ, экспрессирующие ТФ. Такие МЧ продуцируются моноцитами и эндотелиальными клетками, и именно эти МЧ могут оказывать наибольшее влияние на реакции свертывания крови в процессе тромбообразования.

Работа была поддержана грантом РФФИ №17-04-00347.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology*. 2013;200:373–383. <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
2. Lawson C, Vicencio J, Yellon D, Davidson S. Microvesicles and exosomes: new players in metabolic and cardiovascular disease. *Journal of Endocrinology*. 2016;228:R57–71. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0201>
3. Owens A 3rd, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circulation research*. 2011;108:1284–1297. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.233056>
4. Lacroix R, Dubois C, Leroyer A, Sabatier F, Dignat-George F. Revisited role of microparticles in arterial and venous thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2013;11, Suppl 1:24–35. <https://doi.org/10.1111/jth.12268>
5. Mooberry M, Key N. Microparticle analysis in disorders of hemostasis and thrombosis. *Cytometry A*. 2016;89: 111–122. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22647>
6. Heijnen H, Schiel A, Fijnheer R, Geuze H, Sixma J. Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and a-granules. *Blood*. 1999;94:3791–3799.
7. Tripisciano C, Weiss R, Eichhorn T, Spittler A, Heuser T, Fischer M.B, Weber V. Different Potential of Extracellular Vesicles to Support Thrombin Generation: Contributions of Phosphatidylserine, Tissue Factor, and Cellular Origin. *Scientific Reports*. 2017;7(1),6522. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03262-2>

Рисунок 1. Ускорение свертывания плазмы МЧ эритроцитов и моноцитарных клеток ТНР-1

Тест рекальцификации. Эффекты анти-ТФ антител и лактадгерина. К плазме здорового донора, лишенной эндогенных МЧ (центрифугирование 20 000 g, 90 мин), добавляли 3×10^7 МЧ эритроцитов (А) или $0,375 \times 10^7$ МЧ моноцитарных клеток ТНР-1 (Б). Свертывание плазмы регистрировали после добавления CaCl_2 по изменению оптической плотности при 450 нм (A450). Кривые 1 — только МЧ, кривые 2 — МЧ + 10 мкг/мл анти-ТФ антител, кривые 3 — МЧ + 150 нм лактадгерина, кривые 4 — плазма без МЧ. Представлены воспроизводимые кривые из не менее чем 3 экспериментов.

8. Skotland T, Hessvik N, Sandvig K, Llorente A. Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology. *Journal of Lipid Research*. 2018. pii: jlr.R084343. <https://doi.org/10.1194/jlr.R084343> (Epub ahead of print)
9. Van der Zee P, Biro E, Ko Y, de Winter R, Hack C, Sturk A, Nieuwland R. P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction. *Clinical Chemistry*. 2006;52:657–664. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.057414>
10. Skeppholm M, Mobarrez F, Malmqvist K, Wall n H. Platelet-derived microparticles during and after acute coronary syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012;107:1122–1129. <https://doi.org/10.1160/TH11-11-0779>
11. Kafian S, Mobarrez F, Wall n H, Samad B. Association between platelet reactivity and circulating platelet-derived microvesicles in patients with acute coronary syndrome. *Platelets*. 2015;26:467–473. <https://doi.org/10.3109/09537104.2014.940304>
12. Namba M, Tanaka A, Shimada K, Ozeki Y, Uehata S, Sakamoto T, Nishida Y, Nomura S, Yoshikawa J. Circulating platelet-derived microparticles are associated with atherothrombotic events: a marker for vulnerable blood. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2007;27:255–256. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000252064.97632.2c>

13. Giannopoulos G, Oudatzis G, Paterakis G, Synetos A, Tampaki E, Bouras G, Hahalis G, Alexopoulos D, Tousoulis D, Cleman M, Stefanadis C, Deftereos S. Red blood cell and platelet microparticles in myocardial infarction patients treated with primary angioplasty. *International Journal of Cardiology*. 2014;176:145–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.07.022>
14. Suades R, Padr T, Vilahur G, Martin-Yuste V, Sabat M, Sans-Rosell J, Sionis A, Badimon L. Growing thrombi release increased levels of CD235a+ microparticles and decreased levels of activated platelet derived microparticles. Validation in ST-elevation myocardial infarction patient. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2015;13:1776–1786. <https://doi.org/10.1111/jth.13065>
15. Giannopoulos G, Vrachatis D, Oudatzis G, Paterakis G, Angelidis C, Koutivas A, Sianos G, Cleman M, Filippatos G, Lekakis J, Deftereos S. Circulating erythrocyte microparticles and the biochemical extent of myocardial injury in ST elevation myocardial infarction. *Cardiology*. 2017;136:15–20. <https://doi.org/10.1159/000447625>
16. Montoro-Garc a S, Shantsila E, Tapp L, Lopez-Cuenca A, Romero A, Hernandez-Romero D, Orenes-Pi ero E, Manzano-Fern ndez S, Vald s M, Mar n F, Lip G.Y. Small-size circulating microparticles in acute coronary syndromes: relevance to fibrinolytic status, reparative markers and outcomes. *Atherosclerosis*. 2013;227:313–322. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.01.028>
17. Suades R, Padr T, Crespo J, Ramaola I, Martin-Yuste V, Sabat M, Sans-Rosell J, Sionis A, Badimon L. Circulating microparticle signature in coronary and peripheral blood of ST elevation myocardial infarction patients in relation to pain-to-PCI elapsed time. *International Journal of Cardiology*. 2016;202:378–387. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.09.011>
18. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez J, Pastor J, Mauro L, Horstman L, de Marchena E, Ahn Y. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *American Heart Journal*. 2003;145:962–70. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(03\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(03)00103-0)
19. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Fierro C, Macdonough R, Velazques H, Puro J, Jimenez J, Horstman L, Ferreira A, de Marchena E, Ahn Y. Endothelial microparticles correlate with high-risk angiographic lesions in acute coronary syndromes. *International Journal of Cardiology*. 2004;97:439–46. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2003.10.029>
20. Tan K, Tayebjee M, Lynd C, Blann A, Lip G. Platelet microparticles and soluble P selectin in peripheral artery disease: relationship to extent of disease and platelet activation markers. *Annals of Medicine*. 2005;37:61–6.
21. Ogata N, Nomura S, Shouzu A, Imaizumi M, Arichi M, Matsumura M. Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2006;73:241–248. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2006.01.014>
22. Omoto S, Nomura S, Shouzu A, Nishikawa M, Fukuhara S, Iwasaka T. Detection of monocyte-derived microparticles in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2002;45:550–555. <https://doi.org/10.1007/s00125-001-0772-7>
23. Chirinos J, Heresi G, Velasquez H, Jy W, Jimenez J, Ahn E, Horstman L, Soriano A, Zambrano J, Ahn Y. Elevation of endothelial microparticles, platelets, and leukocyte activation in patients with venous thromboembolism. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45:1467–1471. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.12.075>
24. Хаспекова С.Г., Антонова О.А., Шустова О.Н., Якушкин В.В., Голубева Н.В., Титаева Е.В., Добровольский А.Б., Мазуров А.В. Активность тканевого фактора в микрочастицах продуцируемых in vitro эндотелиальными клетками, моноцитами, гранулоцитами и тромбоцитами. *Биохимия*. 2016;81(2):206–214 [Khaspekova SG, Antonova OA, Shustova ON, Yakushkin VV, Golubeva NV, Titaeva E.V., Dobrovolsky AB, Mazurov AV. Activity of tissue factor in microparticles produced in vitro by endothelial cells, monocytes, granulocytes, and platelets. *Biochemistry* (Moscow). 2016;81 (№ 2):114–121. (In Russ.).] <https://doi.org/10.1134/S000629791602005X>

25. Алчинова И.Б., Хаспекова С.Г., Голубева Н.В., Шустова О.Н., Антонова О.А., Карганов М.Ю., Мазуров А.В. Сравнение размера мембранных микрочастиц различного клеточного происхождения методом динамического светорассеивания. Доклады Академии наук. *Биохимия, биофизика, молекулярная биология*. 2016;470(2):223–226. [Alchinova IB, Khaspekova SG, Golubeva NV, Shustova ON, Antonova OA, Karganov MYu, Mazurov AV. Comparison of the size of membrane microparticles of different cellular origin by dynamic light scattering. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2016;470:322–325. (In Russ.).] <https://doi.org/10.1134/S1607672916050045>
26. Shustova O, Antonova O, Golubeva N, Khaspekova S, Yakushkin V, Aksuk S, Alchinova I, Karganov M, Mazurov A. Differential procoagulant activity of microparticles derived from monocytes, granulocytes, platelets and endothelial cells: impact of active tissue factor. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2017;28:373–382. <https://doi.org/10.1097/MB0.0000000000000609>
27. Антонова О.А., Шустова О.Н., Голубева Н.В., Якушкин В.В., Алчинова И.Б., Карганов М.Ю., Мазуров А.В. Коагуляционные свойства мембранных микрочастиц эритроцитов. *Биомедицинская химия*. 2019; 65: 214–221. <https://doi.org/10.18097/PBMC20196503214> [Antonova ON, Shustova ON, Golubeva NV, Yakushkin VV, Alchinova IB, Karganov M Y, Mazurov AV. Coagulation properties of erythrocyte derived membrane microparticles. *Biomedical Chemistry* (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry, 2019; 13: 237–243.].
28. Aleman M, Gardiner C, Harrison P, Wölborg A. Differential contribution of monocyte- and platelet-derived microparticles towards thrombin generation and fibrin formation and stability. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;9:2251–2261. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04488.x>
29. Van Der Meijden P, Van Schilfgaarde M, Van Oerle R, Renn T, ten Cate H, Spronk H. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012;10:1355–1362. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2012.04758.x>
30. Rubin O, Delobel J, Prudent M, Lion N, Kohl K, Tucker E, Tissot J-D, Angelillo-Scherrer A. Red blood cell-derived microparticles isolated from blood units initiate and propagate thrombin generation. *Transfusion*. 2013;53:1744–1754. <https://doi.org/10.1111/trf.12008>
31. Kagawa H, Komiyama Y, Nakamura S, Miyake T, Miyazaki Y, Hamamoto K, Masuda M, Takahashi H, Nomura S, Fukuhara S. Expression of functional tissue factor on small vesicles of lipopolysaccharide-stimulated human vascular endothelial cells. *Thrombosis Research*. 1998;91:297–304.
32. Combes V, Simon A-C, Grau G-E, Arnoux D, Camoin L, Sabatier F, Mutin M, Sanmarco M, Sampol J, Dignat-George F. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. *Journal of Clinical Investigation*. 1999;104:93–102. <https://doi.org/10.1172/JCI4985>
33. Kushak R, Nestoridi E, Lambert J, Selig M, Ingelfinger J, Grabowski E. Detached endothelial cells and microparticles as sources of tissue factor activity. *Thrombosis Research*. 2005;116:409–419. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2005.01.013>
34. Abid Hussein M, Bing A, Bir E, Hoek F, Vogel G, Meuleman D, Sturk A. Phospholipid composition of in vitro endothelial microparticles and their in vivo thrombogenic properties. *Thrombosis Research*. 2008;121:865–871. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2007.08.005>