

УДК: 616 – 005.1 – 08.; 116 – 005.6.; 616.13 – 004.6.

Михайличенко Ю. В., Михайличенко М.И., Цыбиков Н.Н.

РОЛЬ МИКРОВЕЗИКУЛ В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Читинская государственная медицинская академия
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

Резюме. В обзоре литературы приведены сведения по микровезикулам, которые представляют собой небольшие элементы, отделяющиеся от клеток при их активации или апоптозе. Микровезикулы способны отщепляться от эндотелиальных клеток, а при сахарном диабете 2 типа их числократно увеличивается. Провоспалительные стимулы инициируют образование эндотелиальных микровезикул, несущих тканевой фактор, адгезивные молекулы. Они включены в гемокоагуляцию, воспаление, ангиогенез, нарушают сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и участвуют в прогрессировании заболеваний.

Ключевые слова: микровезикулы, сахарный диабет, дисфункция эндотелия, тромбозы.

Mikhaylichenko Ju. V., Mikhailichenko M.I., Tsybikov N N.

THE ROLE OF MICROVESICLES IN THE PATHOGENESIS OF DIABETIC FOOT

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The literature review provides information on microvesicles, which are small elements, separated from cells during activation or apoptosis. Microvesicles are able to separate from endothelial cells and in diabetes type 2 the number of multiples increases. Proinflammatory stimuli trigger the formation of endothelialisation carrying tissue factor, adhesive molecules. They are included in the blood coagulation, inflammation, angiogenesis, disrupt vascular-platelet hemostasis and are involved in the progression of the disease.

Key words: microvesicles, diabetes, endothelial dysfunction, thrombosis.

В настоящее время организм представляется как интегрированное сообщество высококодифференцированных клеток, а их слаженное функционирование обеспечивается благодаря сложной системой межклеточных коммуникаций [1]. Особая роль в этом процессе принадлежит микровезикулам (МВ) [2].

Довольно сложно перечислить все функции, которые приписывают МВ на основании того, что они реально содержат более тысячи компонентов, в том числе биологически активных [3]. К ним относятся короткие фрагменты матричной РНК (микроРНК), фрагменты плазматических мембран с нативными интегральными белками, биологически активные гуморальные медиаторы, гидрофобные домены плазматической мембраны клеток — рафты, полярные липиды, включая фосфолипиды (ФЛ) разных классов, нестерифицированные жирные кислоты (ЖК), как связанные с альбумином, так и в виде свободных ЖК, прямых, гомо- и гетерогенных мицелл, инвертированные фрагменты плазматических мембран разных клеток, факторы адгезии клеток и т. д.

Структурные и функциональные особенности, которые позволяют рассматривать МВ как потенциальные, неспецифичные, прогностические биомаркеры патологических процессов в клинической биохимии, определяют следующее.

1. МВ можно выявить во всех биологических средах; их можно оценить как количественно при использовании физико-химических методов, так и качественно, — размеры, содержание фосфатидилхолина, ЖК, иные специфичные пептиды и компоненты липидов [4];
2. МВ содержат специфичные белки, которые переходят в них от клеток-доноров; их можно выявить как на поверхности, так и глубже, за фрагментами плазматической мембраны [5];
3. Состав пептидов и микроРНК дает представление о наиболее реальных клетках-донорах, которые образовали большинство МВ путем физиологического (афизиологического) процесса блеббинга (blebb — англ. пузырек воздуха) — образования МВ с мембраной [8];
4. Определить количественные и качественные параметры МВ можно при неинвазивном сборе биологического материала; МВ содержат все биологические жидкости, включая

- плазму крови, мочу, слюну, слезную и синовиальную жидкость, лаважные воды при промывании бронхов, желудочный сок [7];
5. Потенциальные возможности органоспецифичной диагностики можно определить на основании количественных и качественных параметров МВ; они могут быть образованы одновременно разными клетками-донорами; важно научиться достоверно их различать. Для этих целей используют как неспецифичные методы физико-химического определения, так и специфичные иммунохимические биомаркеры в МВ [9];
 6. МВ характеризуются определенной степенью органоспецифичности, поскольку отражают взаимоотношение клеток в ткани или органе [10].

Длительная циркуляция МВ в крови и не очень быстрое поглощение и утилизация их макрофагами вначале в рыхлой соединительной ткани интимы артерий, а позже в филогенезе в специализированных макрофагах Купфера определены формированием на поверхности МВ суррогатной мембраны [11]. Она формируется из фрагментов плазматической мембраны разных клеток-доноров, в том числе из афизиологичных мембран, которые покрывают тельца апоптоза. Часть фрагментов плазматической мембраны, вероятно, являются инвертированными, афизиологичными с увеличенным количеством аминоФЛ (фосфатидилсерина — ФС и фосфатидилэтаноламина — ФЭ) на поверхности и скоплением гидрофобных доменов плазматической мембраны — рафтов. Наличие ФС на поверхности МВ определяют в иммунохимической реакции с аннексином (индуктор биологической реакции апоптоза). Определение аннексина в МВ рассматривают как тест апоптоза, предвестника внутрисосудистого диссеминированного тромбоза, который отчасти формируется и на тромбогенной поверхности МВ [12].

Отрицательно заряженные аминоФЛ, ФС и ФЭ располагаются во внутреннем монослое мембраны. Фосфатидилхолины, доминирующие в наружном монослое мембраны, заряда не имеют. При поступлении в цитоплазму Ca^{2+} , содержание которого контролируют гуморальные механизмы на аутокринном уровне, при контролируемом апоптозе градиент концентрации анионных ФЛ в бислое мембраны клеток нарушается. При гиперкальциемии цитозоля локальное ослабление связи мембраны с цитоскелетом сопровождается переходом ФС из внутреннего монослоя в наружный с образованием тромбогенной поверхности. В этих условиях на мембране эндотелия начинается образования МВ. В составе МВ оказываются одновременно с фрагментами мембраны и цитоплазматические белки, в частности тканевой фактор (ТФ). Выставление на мембрану ФС активизирует связывание плазменных факторов свертывания и последующую каскадную реакцию гемокоагуляции [13].

Клетками-донорами, которые образуют МВ, являются адипоциты, монослой клеток эндотелия (мезотелия), гладкомышечные клетки, кардиомиоциты, энтероциты, тучные клетки, моноциты и эритроциты, тромбоциты, нейтрофилы и лимфоциты, гепатоциты, макрофаги Купфера, клетки иммунной системы, пневмоциты и метаплазированные клетки [2].

В настоящее время механизмы формирования МВ в полной мере не выяснены. Вместе с тем показано, что фрагменты плазматической мембраны клеток отделяются в форме МВ, далее они оказываются в плазме крови или в межклеточной среде. Высокая концентрация Ca^{2+} в цитозоле клеток и реорганизация структуры цитоскелета активизируют образование МВ [3].

В формировании в плазме крови МВ участвуют как белки-агонисты, так и белки-антагонисты. Важно понять, что образование МВ осуществляется не только при гибели клеток по типу апоптоза. Возможно, это может быть контролируемый самими клетками процесс “структурного обновления” плазматических мембран. В тромбоцитах формирование и отделение МВ вероятно, является стимулом для поддержания постоянно высокой функциональной активности клеток [13]. К индукторам тромбоцитов относятся адреналин, аденозиндифосфат (АДФ), тромбин, коллаген, Ca^{2+} . Кроме того, тромбоциты реагируют на антитела к антигенам тромбоцитов; результатом этого является обратный процесс — ингибирование активности пластинок, однако, в этом случае также происходит образование МВ. При этом

биологические и химические стимулы, механические факторы, вероятно, подобно “реакции сдвига” на поверхности эндотелия, вызывают “обновление” мембраны тромбоцитов, а возможно, и иных функционально активных клеток.

Небольшую субпопуляцию МВ составляют те из них, для которых донорами служат клетки эндотелия (мезотелия); они часто имеют антигенные детерминанты, расположенные на поверхности [2].

Имеется еще одна возможность выхода МВ в межклеточную среду при участии небольших лейциновыхпротеогликанов, таких как декорин. Этот компонент клеточного матрикса усиливает выход МВ между вновь образованными клетками эндотелия сосудов в процессе их дифференцировки. Поскольку бигликан и декорин регулируют в мембране активный и пассивный перенос субстратов, возможен перенос в составе МВ [6].

Клетками-донорами могут быть и эритроциты; они тоже образуют МВ хотя в меньшем количестве, чем тромбоциты. Образование МВ стимулирует поступление в цитоплазму избытка Ca^{2+} . МВ эритроцитов не содержат элементов цитоскелета, но в них много белков цитозоля, фрагментов плазматических мембран и гемоглобина. Полагают, что образование эритроцитами МВ предохраняет их от опсонизации компонентами комплемента. Эритроцитарные МВ с ФС на поверхности суррогатной мембраны могут участвовать в образовании и протромбинового комплекса. Образование МВ из мембраны эритроцитов выражено в большей мере при переливании крови, которую хранили дольше 4 нед. В течение 120 дней циркуляции в кровотоке клетки “тратят” на образование МВ более 20% своего объема. При этом содержание гемоглобина в «старых», малых и более плотных эритроцитах увеличивается на 16%, за счет его концентрирования. В эритроцитах постепенно возрастает содержание денатурированного гемоглобина, С-9 компонента комплемента и IgG [14].

Рассматривают МВ и как факторы иммуномодуляции, с возможной передачи гуморальной информации в везикулах между эритроцитами и эндотелием, которые разделены по сути внешней для клеток межклеточной средой – плазмой крови. Несмотря на филогенетические различия, все сходятся во мнении, что образование МВ эритроцитами-донорами является фактором риска гиперкоагуляции, которая в свою очередь чревата тромбоэмболическими осложнениями [15].

Одновременно с действием МВ эритроцитов связывают и выраженное противовоспалительное действие; доказательства получены при их инкубации с макрофагами. *In vitro* МВ выражено ингибировали активацию клеток при действии зимозана А и липополисахарида (ЛПС) бактерий. Одновременно показано, что МВ эритроцитов вызывают снижение секреции макрофагами интерлейкинов (ИЛ) — ИЛ-8 и ИЛ-10, а также фактора некроза опухоли α [4].

МВ из лейкоцитов-доноров активируют клетки монослоя эндотелия, индуцируя синтез ТФ, адгезивных и воспалительных белков и соединений. Уровень МВ лейкоцитов-доноров в крови повышен при артериальной гипертензии, остром коронарном синдроме, инфаркте миокарда, тяжелой травме, диабете, ВИЧ-инфицировании. Оценка роли МВ лейкоцитов связана с анализом регуляции функции клеток и многих гуморальных медиаторов, которые эти функции обеспечивают: молекул адгезии, рецепторов, сигнальных ИЛ, эйкозаноидов – производных эссенциальных полиеновых ЖК. Активированные моноциты экспрессируют образование ТФ, который вместе с адгезивными белками может переходить в состав МВ [16].

Образование МВ и поступление их в кровь происходит как в физиологических условиях, так и при патологии. В норме при кратковременной стимуляции клеток МВ обеспечивают локальное усиление тромбообразования. В зависимости от клеток-доноров МВ имеют на поверхности молекулы клеточной адгезии, ТФ, рецепторы, антигены, мембранные транспортеры, медиаторы иммунных реакций и апоптоза. Можно предположить, что именно МВ обеспечивали (обеспечивают) функциональное взаимодействие клеток крови и филогенетически ранний вариант обмена информацией между ними в межклеточной среде [6].

МВ плазмы крови активируют гемокоагуляцию с разных сторон. Наличие на суррогатной мембране МВ увеличенного количества молекул ФС активирует протеазы каскада гемокоагуляции и функцию тромбоцитов. МВ, содержащие ТФ, создают одновременно ус-

ловия как для инициирования, так и для поддержания гемокоагуляции; одновременно МВ активируют и тромбообразование. Наличие в крови повышенной концентрации МВ создает условия для их длительного нахождения на грани норма ↔ гиперкоагуляция + тромбоз.

Увеличение содержания МВ в плазме крови отмечено при многих заболеваниях. Корреляционные отношения между количеством МВ в плазме крови, клетками-донорами и функцией монослоя эндотелия определяют протеины, включая тромбомодулин и молекулы адгезии клеток. Растворимые молекулы адгезии имеют прямое отношение к формированию дисфункции эндотелия [17].

Клетки эндотелия поглощают МВ из плазмы крови путем кавеолинзависимого эндцитоза, после чего биологически активные компоненты МВ ингибируют активность эндотелиальной NO-синтазы. С другой стороны, МВ активируют системы продукции активных форм O₂; они инактивируют синтезированный эндотелием NO, блокируя его биодоступность для гладкомышечных клеток. Вместе с тем компоненты МВ ингибируют синтез клетками простаглицина, фактора гиперполяризации, без которых будет отсутствовать биологический ответ в форме расслабления гладкомышечных клеток под действием NO [18].

Некоторые авторы [19] расценивают МВ как средство иммуномодуляции, возможное средство передачи гуморальной информации в форме везикул между отдельными клетками и монослоем эндотелия. Все клетки отделены друг от друга межклеточной (внешней) средой, но вынуждены общаться и единственным способом общения выбрали материально и энергетически очень затратный путь обмена гуморальными медиаторами в форме МВ, отдавая “кусочки себя ради дела, жертвуя собой”.

В то же время все исследователи, которые придерживаются этой точки зрения, не упоминали о поэтапном становлении биологических функций и реакций на ступенях филогенеза [20]. Не исключено, что на его ранних ступенях, на этапе первых контактов единичных, разрозненных клеток во внешней среде подобный способ общения был единственно возможным. Возможно, столь сложным путем в течение сотен миллионов лет происходило формирование самых ранних паракринных сообществ клеток (СК). В них диффузия гуморальных медиаторов в рамках группы клеток, но уже без везикул, привела к формированию самых ранних регулируемых сообществ из функционально разных клеток. Через миллионы лет эти паракринно регулируемые СК стали структурными и функциональными единицами каждого из органов.

Трудно представить, что возможный способ самого раннего в филогенезе гуморального общения клеток сохранит свое значение в современных условиях. Вместе с тем, согласно методологическому подходу биологической преемственности в становлении биологических функций и реакций, биологические реакции МВ продолжают функционировать, но с несколько иными целями [11]. Ведь продолжается *in vivo* одна из самых древних биологических реакций – внеклеточное пищеварение. Ее реализуют оседлые макрофаги в интима артерий эластического типа при секреции ими металлопротеиназ — функция та же, а цели уже иные.

Роль микровезикул в коагулопатиях при сахарном диабете 2 типа.

Основную массу МВ образуют клетки крови, главным образом тромбоциты, на долю которых приходится более 80% всех МВ плазмы крови. МВ, образованные не тромбоцитами, можно пытаться использовать в дифференциальной диагностике заболеваний [21]. Циркулируя в большом количестве в плазме крови, МВ формируют обширную, подвижную тромбогенную поверхность, в которой в афизиологичном количестве присутствуют анионные прокоагулянтные ФЛ — ФС. Давно установлено, что свертывания плазмы крови в отсутствие тромбоцитов не происходит. Это доказывает, что прокоагулянтные структуры присутствуют в плазме крови и их можно удалить путем седиментации при центрифугировании.

МВ тромбоцитов способны связываться с моноцитами, фибрином и белками матрикса интимы артерий эластического типа. Наличие на поверхности клеток ФС обеспечивает связывание факторов свертывания II, VII, IX, X.

Между тем МВ тромбоцитов индуцируют образование ТФ моноцитами. МВ тромбоцитов могут индуцировать экспрессию генов, которые иницируют сигнализацию, клеточ-

ный рост и пролиферацию, развитие биологической реакции воспаления. Таким образом, МВ тромбоцитов обеспечивают активацию гемокоагуляции [22].

При сахарном диабете 2 типа (СД 2 типа) развивается дисфункция эндотелия. Вместе с тем, монослой эндотелия физиологично препятствует свертыванию крови, продуцируя ингибиторы адгезии и агрегации тромбоцитов и лейкоцитов. Он выставляет на плазматическую мембрану молекулы со свойствами антикоагулянтов: тромбомодулин, ингибитор ТФ, рецепторы активаторов плазминогена, гликозаминогликаны. В условиях патологии (изменение величины напряжения сдвига на мембране эндотелия, действие ИЛ, тромбксана, ЛПС, тромбина, адгезия тромбоцитарных и лейкоцитарных МВ, уремических токсинов, активных форм O₂ и окисленных ЛП) происходит подавление антикоагулянтной активности и начинает преобладать прокоагулянтное действие монослоя эндотелия. Его обеспечивает секреция фактора фон Виллебранда, фактора активации тромбоцитов, АДФ, экспрессия на мембране ТФ и ФС. Все это потенцирует образование МВ на мембране эндотелия. МВ проявляют прокоагулянтные свойства, поскольку непосредственно активируют гемостаз подобно тромбоцитарным и лейкоцитарным МВ, а также путем стимулирования тромбогенного ответа тромбоцитов и лейкоцитов. В зависимости от фазы образования тромба и местонахождения в нем эндотелиальные МВ могут также обеспечивать на поверхности превращение плазминогена в плазмин, и тем самым активировать локальный фибринолиз [6].

Сравнительно недавно установлено увеличение уровня определенных типов МВ (эритроцитарные, тромбоцитарные, лейкоцитарные) у людей с СД 2 типа. Это наблюдение позволило использовать МВ в качестве маркера некоторых заболеваний, таких как атеросклероз артерий нижних конечностей, СД 1 и 2 типов, а также показателя эффективности лечения [2].

Особую роль в формировании осложнений при СД 2 типа играет периферический атеросклероз. В настоящее время, последний рассматривается как хроническое воспаление сосудистой стенки. Воспаление может привести к активации клеток, что приводит к выбросу МВ, которые освобождаются при этом из всех типов клеток, включая лейкоциты, эндотелиальные клетки и тромбоциты, и может содержать различные цитокины, факторы роста и протеиназы в зависимости от их происхождения. Интересно, что МВ могут отображать биологическую активность, связанную с тромбозом, воспалением и иммунными реакциями и, следовательно, могут быть вовлечены в сложный процесс атеросклероза [23].

К сказанному выше можно добавить, что тромбоцитарные МВ являются наиболее распространенным типом микрочастиц, и они могут предоставлять ряд белков и цитокинов, в том числе Р-селектина, CD40 лиганд (CD40L) и ТФ [1].

МВ реализуют свою прокоагулянтную активность через поверхностные отрицательно заряженные фосфолипиды (ФС), которые облегчают сборку факторов свертывания, а также через ТФ воздействия [24], посредством чего возрастет генерация тромбина и может инициировать свертывание крови.

Повышенные плазменные уровни тромбоцитов, эндотелиально – или лейкоцит – производные МВ были обнаружены у пациентов с сердечно-сосудистыми факторами риска и заболеваний, включая СД, острого коронарного синдрома и инсульта [25].

Основной причиной смертности у пациентов с СД 2 типа являются сердечно-сосудистые заболевания. МВ, вырабатываемые в ответ на повреждение эндотелия, являются неотъемлемой частью оценки риска сосудистых заболеваний у пациентов с СД 2 типа [15].

Измененный метаболизм тромбоцитов при СД 2 типа способствует развитию атеротромботических осложнений. Исследования показывают, что количество тромбоцитарных МВ увеличивается у больных с СД 2 типа, по сравнению со здоровыми людьми. Это увеличение объясняется прокоагуляционной активностью тромбоцитов. При увеличении числа МВ происходит усиленная выработка ТФ у пациентов с СД 2 типа. ТФ является трансмембранным белком, участвующим в процессе свертывания крови в естественных условиях. В присутствии ФС ТФ способен увеличивать свою активность [26].

Считается, что микровезикулы и ТФ связываются с тромбоцитами через р-селектина лиганд гликопротеина 1 (PSGL-1), посредством чего осуществляется перенос белков и липидов через тромбоцитарную мембрану.

Многие исследования до сих пор используют традиционные средства для подсчета абсолютного числа МВ. Однако становится все более очевидным, что МВ имеют различные фенотипы, и этот фенотип изменяется в зависимости от прородительской клетки МВ [27].

Из-за повышенного содержания МВ активируются хемоаттрактантные свойства многих биологически активных субстанций, в том числе стимуляция выработки многих цитокинов, имеющих свойства хемоаттрактантов. Большинство циркулирующих микровезикул формируют постепенную васкулопатию, ведущую формированию атеросклероза [28].

Последние исследования свидетельствуют о том, что МВ способствуют транспорту мРНК, кодирующих адипонектин и индуцируют ангиогенез. Адипонектин является важным фактором, который был найден в МВ, также играет важную роль в прогрессировании артериальной и коронарной недостаточности, развитии СД 2 типа. Он секретируется адипоцитами. Его антиатерогенные, противовоспалительные свойства продолжают активно применять в терапии сердечно-сосудистой патологии [29].

Таким образом, в формировании диабетической стопы при СД 2 типа далеко не последнюю роль играют МВ, отделившиеся из поврежденного эндотелия и активированных тромбоцитов и других клеток крови, несущих мощный тромбогенный потенциал и приводящий в конечном итоге к тромбозу артерий стопы.

Однако до сих пор непонятно, какие МВ доминируют в этом процессе. Как можно профилировать тромбозы артерий стопы при СД 2 типа с учетом современных знаний о тромбогенной роли МВ. Не исключено, что решение этой проблемы возможно разными путями: элиминацией тромбогенных МВ иммунологическими механизмами; повышение тромбогенных свойств поврежденного эндотелия; инициация реакций локального фибринолиза в зоне возникшего тромбообразования.

Литература:

1. Андрушко И. А., Латфуллин И.А. Патологическое и клинико-диагностическое значение микровезикул в крови. Гематология и трансфузиология. 2007. Т. 44, № 5. С. 24–30.
2. Бышевский А. Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. Екатеринбург: Уральский рабочий, 2009. 383 с
3. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 167 с.
4. Зубаиров Д.М., Тимербаев В.Н., Байкеев Р.Ф. Исследование внешнего пути свертывания крови. / Биохимия животн. и челов. 2007. №13. С. 1–10.
5. Михуткина С.В., Салмина А. В., Сычев. Блэббинг плазматической мембраны тимоцитов и апоптоз связаны с нарушением емкостного входа Са 2+ в клетки. Бюл. exper. биол. имед. – 2004. Т. 137, № 6. С. 628 – 632.
6. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2007. 181с.
7. Сироткина О. В. Молекулярно-генетические основы развития предрасположенности к артериальным тромбозам: автореф. дис. канд. мед. наук. код специальности 14.03.10. СПб. 2003.
8. Шитикова А.С. Тромбоцитарный гемостаз. СПб.: Изд-во СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, 2000. 227с.
9. Albrecht C.A., McVey J.H., Sardini A. Novel missens emutation in ABCA1 result sinaltered protein trafficking and reduced phosphatidylserine translocation in a patient with Scott syndrome // Blood. 2009. Vol. 106. P. 542–549.
10. Andriantsitohaina R., Gaceb A., Vergori L., Martínez M.C. Micro particles as regulators of cardiovascular inflammation. Trends Cardiovasc. Med. 2012. Vol. 22. P. 88-92.
11. Asai T. The laryngeal mask airway. Basic of statistical analysis. 2009. Vol. 1. P. 1-186.
12. Boulanger C. M., Scoazec A., Ebrahimian T. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. Circulation. 2001. Vol. 104. P. 2649-2652.

13. Brodsky S.V., Malinowski K., Golightly M. Platelet procoagulant activity and microvesicle formation. Its putative role in hemostasis and thrombosis. *Biochim.* 2010. Vol. 1180, № 1. P. 1-8.
14. Burger D., Schock S., Thompson C. S. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clin. Sci.* 2013. Vol. 124, № 7. P. 423-441.
15. Coade S.B., Pearson J. D. Metabolism of adenine nucleotides in human blood. *Circ. Res.* 2006. Vol. 65, № 3. P. 531-537.
16. Confurius P., Bevers E, Zwaal R F A. Prothrombinase complex as a tool to assess changes in membrane asymmetry. *Methods in Molecular Biology.* 2004. Vol. 27. P. 131-142.
17. Dekkers D.W.C., Confurius P., Bevers E.W.M. Transbilayer movement of NBD-labeled phospholipids in red blood cell membranes: outward-directed transport by the multidrug resistance protein 1 (MRP1). *Biochemistry J.* 2012. Vol. 350, № 2. P. 531-535.
18. Del Conde I., Shrimpton C.N., Thiagarajan P., López J.A. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood.* 2005. Vol. 106. P. 1604-1611.
19. Ferroni P., Basili S., Falco A., Davì G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J. Thromb. Haemost.* 2004. Vol. 2, № 8. P. 1282-1291.
20. Flaumenhaft R., Dilks J. R., Richardson J. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood.* 2009. Vol. 113, № 5. P. 1112–1121.
21. Iida K., Whitlow M.B., Nussenzweig V. Membrane vesiculation protects erythrocytes from destruction by complement. *J. Immunol.* 2001. Vol. 147, № 8. P. 2638-2642.
22. Kawashima Y., Nagasawa T., Ninomiya H. Pathophysiologic implication of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood.* 2009. Vol. 96, № 6. P. 2157-162.
23. Libby P., Ridker P.M., Hansson G. K. P. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009. Vol. 54. P. 2129-2138.
24. Lynch S. F., Ludlam C. A. Plasma microparticles and vascular disorders. *Br. J. Haematol.* 2007. Vol. 137, № 1. P. 36-48
25. Mills J C., Stone N.L., Erhardt J., Pittman R.N. Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation. *J. Cell. Biol.* 2008. Vol. 140, № 3. P. 627-636.
26. Mobarrez F, Sjovik C, Soop A. CD40L expression in plasma of volunteers following LPS administration: a comparison between assay of CD40L on platelet microvesicles and soluble CD40L. *Platelets.* 2015. Vol. 26, № 5. P. 486-490.
27. Pasini E. M., Kirkegaard M., Mortensen P. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells. *Blood.* 2006. Vol. 108, № 3. P. 791-801.
28. Rothman J. E., Lenard J. Membrane asymmetry. *Science.* 2007. Vol. 195, № 4280. P. 743-753.
29. Shantsila E., Kamphuisen P.W., Lip G.Y. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2010. Vol. 8, № 11. P. 2358-2368.

References:

1. Andrushko I.A., Latfullin I.A. Pathophysiological and clinical diagnostic value of microvesicles in the blood. *Gematologiya i transfuziologiya* 2007. Vol. 44, No 5. P. 24-30 (in Russian).
2. Mihutkina S. V., Salmina A.B., Sychev A.V. Blebbing plasma membrane of thymocytes and apoptosis involve a violation capacitive entry of Ca^{2+} in cells. *Byul. eksper. Biol. imed.* 2004. Vol. 137 No. 6. P. 628 – 632 (in Russian).
3. Byshevskij A.SH., Tersenev O.A. *Biochemistry for the doctor.* Yekaterinburg: Ural worker. 2009. P. 383 (in Russian).
4. Zubairov D. M., Zubairova L.D. *Microparticles in the blood.* M.: GEOTAR Media, 2009. P. 167 (in Russian).
5. Zubairov D.M., Timerbaev V.N., Bajkeev R.F. Study of external path of blood clotting. *Biochemistry of animal. and the human body.* 2007. No 13 P. 1-10 (in Russian).
6. Petrishchev N. N. *Endothelial dysfunction.* SPb. Publishing house St. Petersburg, 2007. P. 181 (in Russian).

7. Sirotkina O.V. Molecular genetic basis for the development of the predisposition to arterial thrombosis : author. dis. Cand. med. Sciences. code of specialty 14.03.10. SPb., 2003 (in Russian).
8. SHitikova A.S. Hemostasis system. SPb. Publishing house of St. Petersburg state medical University im. Acad. I. P. Pavlov, 2000. P. 227 (in Russian).
9. Albrecht C.A., McVey J.H., Sardini A. Novel missens emutation in ABCA1 result sinaltered protein trafficking and reduced phosphatidylserine translocation in a patient with Scott syndrome. *Blood*. 2009. Vol. 106. P. 542-549.
10. Andriantsitohaina R. Micro particlesas regulators of cardiovascular inflammation. Gaceb A., Vergori L., Martínez M. C. *Trends Cardiovasc. Med*. 2012. Vol. 22. P. 88-92.
11. Asai T. The laryngeal mask airway. *Basic of statistical analysis*. 2009. Vol. 1. P. 1-186.
12. Boulanger C. M., Scoazec A., Ebrahimian T. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001. Vol. 104. P. 2649-2652.
13. Brodsky S.V., Malinowski K., Golightly M. Platelet procoagulant activity and microvesicule formation. Its putative role in htmostasis and thrombosis. *Biochim*. 2010. Vol. 1180, № 1. P. 1-8.
14. Burger D., Schock S., Thompson C.S. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clin. Sci*. 2013. Vol. 124, № 7. P. 423-441.
15. Coade S.B., Pearson J. D. Metabolism of adenine nucleotides in human blood. *Cicc. Res*. 2006. Vol. 65, № 3. P. 531-537.
16. Confurius P., Bevers E, Zwaal R.F.A. Prothrombinase complex as a tool to asses changes in membrane asymmetry. *Methods in Molecular Biology*. 2004. Vol. 27. P. 131-142.
17. Dekkers D.W.C., Comfurius P., Bevers E.W.M. Transbilayer movement of NBD-labeled phospholipids in red blood cell membranes: outward-directed transport by the multidrug resistance protein 1 (MRP1). *Biochemistry J*. 2012. Vol. 350, № 2. P 531-535.
18. Del Conde I., Shrimpton C.N., Thiagarajan P., López J.A. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*. 2005. Vol. 106. P. 1604-1611.
19. Ferroni P., Basili S., Falco A., Davì G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J. Thromb. Haemost*. 2004. Vol. 2, № 8. P. 1282-1291.
20. Flaumenhaft R., Dilks J. R., Richardson J. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction form platelet-derived microparticles. *Blood*. 2009. Vol. 113, № 5. P. 1112 –1121.
21. Iida K., Whitlow M.B., Nussenzweid V. Membrane vesiculation protects erythrocytes from destruction by compliment. *J. Immunol*. 2001. Vol. 147, № 8. P. 2638-2642.
22. Kawashima Y., Nagasawa T., Ninomiya H. Pathophysiologic implication of membrane phospholipid assimetry in bloodcelles. *Blood*. 2009. Vol. 96, № 6. P. 2157-162.
23. Libby P., Ridker P. M., Hansson G. K. P. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2009. Vol. 54. P 2129-2138.
24. Lynch S. F., Ludlam C. A. Plasma microparticles and vascular disorders. *Br. J. Haematol*. 2007. Vol. 137, № 1. P. 36-48
25. Mills J C., Stone N.L., Erhardt J., Pittman R.N. Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation. *J. Cell. Biol*. 2008. Vol. 140, № 3. P. 627-636.
26. Mobarrez F, Sjovik C, Soop A. CD40L expression in plasma of volunteers following LPS administration: a comparison between assay of CD40L on platelet microvesicles and soluble CD40L. *Platelets*. 2015. Vol. 26, № 5. P. 486-490.
27. Pasini E. M., Kirkegaard M., Mortensen P. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells. *Blood*. 2006. Vol. 108, № 3. P. 791-801.
28. Rothman J. E., Lenard J. Membrane asymmetry. *Science*. 2007. Vol. 195, № 4280. P. 743-753.
29. Shantsila E., Kamphuisen P.W., Lip G.Y. Circulatingmicroparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis. *J.Thromb. Haemost*. 2010. Vol. 8, № 11. P. 2358-2368.