

К.Л. Маркова, И.Ю. Коган, А.Р. Шевелева, В.А. Михайлова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Микровезикулы лейкоцитарного происхождения

Микровезикулы — новый объект биологических исследований. Они представляют собой субклеточные структуры размером от 100 до 1000 нм и обнаружены практически во всех биологических жидкостях человека. Их источниками являются различные клетки организма. Микровезикулы обладают разнообразным внутренним составом и несут широкий спектр молекул на своей поверхности, что определяет их участие в физиологических и патологических процессах. Предполагается их роль в качестве биологических маркеров заболеваний, чем и обусловлен интерес к ним. В настоящее время в мировой литературе достаточно много данных о микровезикулах тромбоцитов и эндотелиальных клеток, при этом данных о микровезикулах лейкоцитов практически нет. В связи с этим целью настоящего обзора было суммирование данных о микровезикулах лейкоцитов. В обзоре представлены данные о клетках-источниках, внутреннем и поверхностном составе микровезикул лейкоцитов, их взаимодействии с различными клетками организма, вовлеченности в физиологические и патологические процессы. Дальнейшее изучение микровезикул позволит уточнить их роль в норме и при патологиях, возможность использования в качестве маркеров заболеваний и переносчиков различных биологически активных молекул.

Ключевые слова: микровезикулы, везикулы, лейкоциты, лимфоциты.

(Для цитирования: Маркова К.Л., Коган И.Ю., Шевелева А.Р., Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И. Микровезикулы лейкоцитарного происхождения. Вестник РАМН. 2018;73(6):378–387. doi: 10.15690/vramn1031)

378

Введение

Микровезикулы, представляющие собой субклеточные структуры размером, по разным данным, от 100 до 1000 нм, обнаружены практически во всех биологических жидкостях человека. Их источниками являются различные клетки организма. Микровезикулы обладают разнообразным внутренним составом и несут широкий спектр молекул на своей поверхности. Содержимое и рецепторный аппарат микровезикул определяет их участие в физиологических и патологических процессах. Клетки взаимодействуют за счет прямых контактов друг с другом (лиганд-рецепторные взаимодействия), а также за счет локальной и дистанционной передачи секретлируемых молекул (цитокины и гормоны). Помимо этого, важным элементом межклеточных коммуникаций являются процессы, происходящие внутри самих клеток, так как они опосредуют биосинтез медиаторных молекул, проведение сигналов в клетке. Установлено, что клетки способны передавать друг другу рецепторные

молекулы вместе с фрагментами плазматической мембраны, например при образовании иммунного синапса [1]. Механизмы, опосредующие данные взаимодействия, недостаточно изучены, однако полагают, что в подобных клеточных коммуникациях принимают участие субклеточные образования — внеклеточные везикулы.

Внеклеточные везикулы (extracellular vesicles, EV) — гетерогенная популяция мембранных везикул. Они образуются клетками различного происхождения во время их жизнедеятельности, активации и при апоптозе [2, 3]. В зависимости от размера и способа образования в настоящее время везикулы подразделяют на экзосомы (30–120 нм), микровезикулы (МВ), или эктосомы (100–1000 нм), апоптотические тельца (800–5000 нм), однако некоторые исследователи выделяют дополнительные подтипы EV, такие как нановезикулы, гигантские онкосомы, гигантские мембранные везикулы, уни- и мультиламеллярные везикулы. Классификация и деление везикул по размерам обсуждается, так как нет строгих критериев и методов их получения и детекции [2, 3].

K.L. Markova, I.U. Kogan, A.R. Sheveleva, V.A. Mikhailova, S.A. Selkov, D.I. Sokolov

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott,
Saint-Petersburg, Russian Federation

Microvesicles of Leukocyte Origin

Microvesicles are a new field of biological research. They are subcellular structures ranging in size from 100 to 1000 nm and found in practically all human biological fluids. Their sources are different cells. Microvesicles have a diverse internal composition and carry a wide spectrum of molecules on their surface, which determines their participation in physiological and pathological processes. Their assumed role of biological markers of diseases has aroused great interest. At the present time, there is a lot of data in the world literature about microvesicles of platelets and endothelial cells, and there is practically no data about microvesicles of leukocytes. In this regard, the purpose of the given review was to summarize the data about microvesicles of leukocytes. The review presents data about source cells, internal and superficial composition of leukocytes' microvesicles, their interaction with various cells, and involvement in physiological and pathological processes. Further study of microvesicles will make it possible to clarify their role in normal and pathological conditions, the possibility of using them as vectors of diseases and carriers of various biologically active molecules.

Key words: microvesicles, vesicles, leukocytes, lymphocytes.

(For citation: Markova KL, Kogan IU, Sheveleva AR, Mikhailova VA, Selkov SA, Sokolov DI. Microvesicles of Leukocyte Origin. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(6):378–387. doi: 10.15690/vramn1031)

Внеклеточные везикулы обнаружены в различных биологических жидкостях человека: в плазме крови, моче, плевральной жидкости, синовиальной жидкости, слюне, грудном молоке, эякуляте, назальном лаваже как в норме, так и при патологии [4]. Они могут быть также получены из содержимого атеросклеротической бляшки [5]. Внеклеточные везикулы содержат различные поверхностные и внутриклеточные молекулы — белки, липиды, гликолипиды, гликопротеины и нуклеиновые кислоты, включая ДНК, мРНК и некодирующие РНК. Таким образом, внеклеточные везикулы имеют потенциал для доставки информации окружающим клеткам и тканям [2, 6].

Микровезикулы описаны впервые в 1967 г. П. Вульфом (P. Wolf) и колл., которые обнаружили маленькие тромбоцитарные фрагменты в плазме крови. Долгое время считалось, что микровезикулы — это клеточный дебрис («остатки» полуразрушенных клеток). Последующее их изучение показало, что слушивание (shedding) везикул с мембраны встречается как у нормальных, так и опухолевых клеток. Микровезикулы образуют клетки крови, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки и эпителиальные клетки. Их количество в циркуляции зависит от баланса скорости их образования клетками и скорости очищения от них. Исследования, проведенные на мышах, показывают, что поглощение циркулирующих микровезикул происходит в селезенке. У здоровых людей циркулирует более 80% микровезикул тромбоцитарного происхождения, а микровезикулы лейкоцитов и эндотелиальных клеток составляют минорную часть [2].

Считается, что микровезикулы могут передавать различные биологически активные молекулы от одной клетки к другой или выступать в качестве субклеточного вектора, распространяющего сигналы окружающим клеткам. Микровезикулы представляют собой источник большого количества различных иммунологически активных молекул, которые, воздействуя на клетки, могут регулировать различные процессы, происходящие в организме, в том числе воспаление, коагуляцию, презентацию антигенов, апоптоз, то есть могут участвовать в патогенезе различных заболеваний и воспалительных процессов [7–9].

Микровезикулы могут передавать клеткам-реципиентам хемокиновые и цитокиновые рецепторы, арахидоновую кислоту. Они могут проявлять противовоспалительные свойства, индуцируя апоптоз иммунных клеток и/или способствуя продукции ими противовоспалительных медиаторов [7]. Микровезикулы демонстрируют и провоспалительную активность посредством увеличения восприимчивости клеток к новым стимулам, межклеточного переноса рецепторов и встраивания их в плазматическую мембрану клеток-реципиентов [4], путем активизации системы комплемента, а также способствуют привлечению и миграции лейкоцитов в патологический очаг.

Образование везикул и взаимодействие с клеткой-реципиентом

Образование везикул, или везикуляция, — постоянный и естественный процесс, однако показано, что при активации клеток или при апоптозе образование везикул усиливается [2]. При исследовании везикуляции на клеточных линиях обнаружено, что стимуляция иммунных клеток фактором некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF α) и интерлейкином 1 бета (interleukin 1 beta, IL1 β), активированным фактором комплемента C5a,

конканавалином, а также воздействие факторов, индуцирующих апоптоз клеток (форболовый эфир, иономицин, УФ-облучение), увеличивают уровень внеклеточных везикул в среде. Ранее отмечено, что опухолевые клетки постоянно образуют внеклеточные везикулы [7].

Образование каждого из типов везикул происходит за счет различных механизмов. Процесс образования экзосом является наиболее изученным — он опосредуется клеточным комплексом ESCRT (endosomal sorting complex required for transport). Формирование экзосом начинается с того, что в цитозоле клетки в мультивезикулярном теле образуются интралюминарные везикулы, затем происходит слияние мультивезикулярного тела с плазматической мембраной клетки и выход экзосом во внеклеточное пространство. Основными маркерами экзосом являются мембранные белки (cluster of differentiation) CD81, CD63, а также ген 101 (Tsg101) [2, 3]. Апоптотические тельца образуются на последних этапах апоптоза, опосредованных действием каспаз. При апоптозе происходит конденсация ядерного хроматина, сжатие ядра и образование ядерных фрагментов, которые перемещаются к плазматической мембране и высвобождаются в виде апоптотических телец. Отличительной чертой апоптотических телец от других типов внеклеточных везикул является проницаемая мембрана [3].

Наименее изученной популяцией внеклеточных везикул являются микровезикулы. Формирование микровезикул происходит за счет механизма отпочковывания (blebbing) плазматической мембраны клетки. Данный механизм недостаточно изучен: например, неизвестно, каким образом содержимое попадает в везикулу, однако обнаружено, что процесс образования сопровождается сжатием и потерей асимметрии плазматической мембраны клетки, реорганизацией цитоскелета. Это в свою очередь приводит к перераспределению фосфолипидов и экспонированию фосфатидилсерина на внешней части (внешний листок) мембраны, который связывается с аннексином V. Помимо фосфатидилсерина микровезикулы несут на поверхность мембраны различные рецепторы, адгезионные молекулы клетки-источника [10]. В зависимости от участка мембраны, на котором происходит отпочковывание, микровезикулы могут иметь различные свойства и состав [2, 3, 7]. У клеток в состоянии покоя фосфатидилсерин локализован на внутреннем листке мембраны и регулируется АТФ-зависимой аминокислот-липид-транслоказой. При нарушении асимметрии мембраны клетки данный фермент теряет свои функции [7]. Последние исследования показали, что процесс образования микровезикул зависит от уровня кальция в клетке. При увеличении концентрации внутриклеточного кальция за счет выхода из кальциевых депо в процессе жизнедеятельности клетки или при обработке клеток различными хелатирующими веществами происходит активация Ca²⁺-зависимой цистеиновой протеазы кальпаина, которая разрушает белки цитоскелета, в частности белок талин. Вследствие этого плазматическая мембрана отделяется от цитоскелета, и в данных местах происходит отпочковывание мембраны и образование микровезикулы [7, 11, 12]. Помимо этого, важным участником процесса ремоделирования цитоскелета клетки является Rho-ассоциированная киназа 1 (ROCK-1), которая фосфорилирует легкие цепи миозина, вследствие чего увеличивается его сократимость [7]. Везикуляция чаще всего происходит в той области плазматической мембраны, где содержатся липидные рафты, и обусловлена липидным составом мембраны; факторами, модулирующими

деформацию и изгиб; текучестью мембраны и изменением структуры цитоскелета. Обогащение холестерина плазматической мембраны приводит к увеличению образования микровезикул. Церамиды также важны для изгиба мембраны, что способствует образованию МВ. Некоторые исследователи предполагают, что образование микровезикул является конечной точкой активационного каскада и/или началом апоптоза клетки [12].

Механизмы взаимодействия микровезикул с клеткам-реципиентами остаются практически неизученными. Однако описывают несколько видов взаимодействий EV с клетками-мишенями, при помощи которых везикулы могут доставлять свое содержимое: кавеолин- и клатрининдуцированный эндоцитоз, макропиноцитоз и эндоцитоз липидных рафтов, фагоцитоз [3]. После попадания везикул в клетку они могут поглощаться эндосомально-лизосомальной системой клетки и затем соединиться с мембранами органелл и цитозольным содержимым клетки-реципиента. Они также способны сливаться с самой мембраной клетки-реципиента, чтобы высвободить свое содержимое непосредственно или при помощи рецепторов во внутреннюю среду клетки. Везикулы в результате лиганд-рецепторного взаимодействия с клеткой-мишенью могут высвободить свое содержимое во внеклеточное пространство и тем самым активировать как клетку-мишень, так и соседние клетки. Наконец, везикулы могут взаимодействовать с клеткой-мишенью без слияния с ней, а при помощи лиганд-рецепторных механизмов, запуская сигнальные каскады в клетке [2]. Таким образом, везикулы функционируют как системы, передающие информацию клеткам в их тканевой среде при помощи различных механизмов [4]. Имеются данные о том, что низкий pH в среде способствует слиянию мембран микровезикул с клетками-реципиентами, а гепарансульфаты-протеогликаны, наоборот, снижают слияние микровезикул с мембраной клетки-мишени. Таким образом, механизмы взаимодействия везикул и клеток-реципиентов зависят от различных факторов — состава сред, микроокружения, от типа клеток-источников, рецепторно-лигандного репертуара на них, а также от содержимого самих везикул [2].

Методы изучения везикул

Несмотря на возрастающий научный и клинический интерес к данным объектам исследования, на сегодняшний момент только разрабатываются протоколы для получения и детекции везикул. Изучение свойств везикул осложнено тем, что их размер ниже разрешающей способности приборов. Однако существуют методы, при помощи которых уже сейчас возможно исследование состава, размера и свойств везикул.

Основным методом выделения везикул является дифференциальное центрифугирование. Образцы, из которых получают микровезикулы, центрифугируют при 20 000 g, для получения экзосом используют ультрацентрифуги и режим центрифугирования от 100 000 g. Вся работа с везикулами осуществляется при низких температурах, так как объекты неустойчивы к перепадам температуры. Основными методами для изучения размеров, морфологии и фенотипа везикул являются трансмиссионная электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, метод динамического светорассеяния, проточная цитофлуориметрия [13, 14].

Микровезикулы лейкоцитов

Микровезикулы лейкоцитарного происхождения остаются наименее изученной популяцией МВ, что может быть связано с тем, что они составляют минорную часть микровезикул в кровотоке при физиологических условиях. Однако при патологиях их уровень в плазме крови резко возрастает. Данный факт интересен для их изучения, так как микровезикулы лейкоцитов могут служить маркером развития различных заболеваний [2]. В связи с этим изучение свойств популяции МВ лейкоцитарного происхождения является весьма актуальным.

Установлено, что нейтрофилы, дендритные клетки, макрофаги, тучные клетки, Т- и В-лимфоциты способны образовывать микровезикулы [15] (табл.). Эффект МВ на клетку-мишень зависит от их молекулярного состава — как поверхностного, так и внутреннего. Они могут содержать мембранные, цитоплазматические и ядерные компоненты исходной клетки и обычно сохраняют поверхностные маркеры родительских клеток [12]. Иммунологический эффект микровезикул лейкоцитарного происхождения включает в себя широкий спектр механизмов активации и подавления иммунных реакций. Микровезикулы могут оказывать биологические эффекты на клетки-источники (аутокринное воздействие) и клетки-реципиенты либо воздействуя на клеточные рецепторы/лиганды, либо путем переноса содержимого белков, липидов, мРНК или микроРНК, антигенов, запуская сигнальные каскады внутри клеток. Таким образом, микровезикулы действуют как своеобразные «контейнеры», передающие информацию от родительских клеток клеткам-мишеням в зависимости от микроокружения, стимула и клетки источника [12]. В связи с этим идентификация специфических молекулярных маркеров в составе или на поверхности микровезикул, полученных из лейкоцитов, может быть полезна для исследований по использованию МВ в качестве терапевтических агентов [15].

Микровезикулы нейтрофилов

Клетки врожденного иммунитета осуществляют неспецифическую защиту организма от различных патогенов. В ходе иммунного ответа активированные лейкоциты образуют микровезикулы. Нейтрофилы — самая многочисленная популяция лейкоцитов (40–75%), циркулирующих в кровотоке у человека, однако количество микровезикул нейтрофилов незначительно, и их уровень возрастает при воспалительных процессах, протекающих в организме, а также при сильных физических нагрузках. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов участвуют в регуляции активности клеток, участвующих в воспалении и других иммунных реакциях [12].

Подобно другим популяциям микровезикул, нейтрофильные образуются как из апоптотических, так и активированных нейтрофилов, их состав зависит от стимулов, используемых при активации клеток-источников. J. Dall и соавт. разделяют соединения-стимулы для образования микровезикул нейтрофилов на три категории: бактериальные продукты [18], «факторы организма-хозяина», цитокины и экзогенные соединения. Микровезикулы нейтрофилов, образованные нейтрофилами в результате активации бактериями, способны уменьшать бактериальный рост [11]. Побочные продукты жизнедеятельности бактерий, такие как эндотоксин и fMLP (N-формилметионин) [45], являются мощными индукторами образования микровезикул нейтрофилов. К медиаторам организма-хозяина можно отнести

Таблица. Функции микровезикул лейкоцитарного происхождения

Микровезикулы	Взаимодействие микровезикул с различными клетками	Патология
Микровезикулы нейтрофилов	Активация комплемента по классическому пути; фиксация C3-, C4-фрагментов [16]; антимикробная активность; хемотаксис нейтрофилов и лейкоцитов [17]; усиление продукции эндотелиальными клетками IL8, IL6 и экспрессии MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-селектина, TF [12]. Снижение экспрессии STAT1, NF- κ B в эндотелиальных клетках [18]. Принимают участие в фибринолизе и ремоделировании тканей [5, 19]. Блокируют фагоцитоз и активацию макрофагов, а также их реакцию на липополисахарид и зимозан [20]. Способствуют уменьшению секреции IFN γ и TNF α и увеличению секреции TFG β НК-клетками [21]. Изменяют морфологию и снижают фагоцитарную активность дендритных клеток. Снижают пролиферацию Т-клеток [22]. Уменьшают адгезию нейтрофилов к HUVEC [23]	Острый и хронический васкулит; IgA-нефропатия и тубулоинтерстициальный нефрит; системная красная волчанка; антифосфолипидный синдром [12]; сепсис [24]
Микровезикулы моноцитов	Передача TF нейтрофилам, которые в свою очередь приобретают прокоагулянтную активность [25]. Проангиогенные свойства [26]. Способствуют пролиферации эндотелия, активируют лимфоцит и ангиогенез атеросклеротической бляшки [27]. Индукция окислительного и нитрозативного стресса в эндотелиальных клетках [28]. Активируют эндотелиальные клетки, стимулируют образование ими микровезикул. Регулируют экспрессию TF, фактора фон Виллебранда, ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина на эндотелиальных клетках [28–30]. Стимулируют продукцию IL8 и MCP-1 эндотелиальными клетками. Вызывают апоптоз клеток гладкой мускулатуры сосудов [31]. Индуцируют продукцию эпителиальными клетками легкого провоспалительных цитокинов и хемокинов [8]. Принимают участие в коагуляции [32]	Атеросклероз; сахарный диабет 2-го типа [8]; гипертония [33]; диабетическая ретинопатия [34]. Безалкогольный гепатоз печени и безалкогольный стеатогепатит [35]. Церебральная малярия [36]; ВИЧ-инфекция [8]. Ревматоидный артрит [8]; псориаз [37]. Полимиозит; дерматомиозит [38]; антифосфолипидный синдром [39]. Серповидноклеточная анемия [24]; рак легких; ночная пароксизмальная гемоглобинурия и сепсис [37]
Микровезикулы лимфоцитов	В-клеточные везикулы могут усиливать антигенную презентацию, доставляя МНС II класса фолликулярным дендритным клеткам [7]. CD56 ⁺ и содержащие перфорин внеклеточные везикулы от НК-клеток обладают цитотоксическими свойствами [13, 40]. Везикулы Т-лимфоцитов опосредуют киллинг клеток за счет Fas/FasL и TRAIL [7]. Т-лимфоцитарные микровезикулы вызывают повышение экспрессии синтазы оксида азота и циклооксигеназы-2 в гладкомышечных клетках [41]. Индуцируют рост сосудов <i>in vitro</i> ; регулируют экспрессию ICAM-1, RhoA, VEGF и синтазы NO эндотелиальными клетками [42]. Способствуют увеличению продукции эндотелиальными клетками активных форм кислорода, повышению экспрессии CD36 и снижению экспрессии VEGFR2 на эндотелиальных клетках [43]. Вызывают дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими IL8 и онкостатина М [40]	Аутоиммунные заболевания [38]; преэклампсия [9]; лейкемия [44]

381

различные факторы гуморальной защиты иммунитета — TNF α [12], белки комплемента [20], IL8 [45] и фактор активации тромбоцитов; экзогенные соединения — активатор протеинкиназы С, РМА, иономицин и ингибитор синтазы оксида азота, L-NAME [12]. TNF α является мощным активатором образования микровезикул нейтрофилов, механизм опосредован NF- κ B и/или каспаза 8-зависимыми путями. Каспаза 8 активирует каспазу 3, которая в свою очередь активирует кальпаин посредством расщепления кальпастина — ингибитора кальпаина, вследствие чего происходит повышение концентрации кальция и образование МВ [11]. В целом, большинство этих факторов используют и в условиях *in vitro* для изучения свойств микровезикул.

Помимо классификации стимулов, активирующих нейтрофилы, разработана классификация микровезикул нейтрофилов по их эффекту в отношении бактерий [46]. С. Тiмаг и колл. показали, что они обладают антибактериальным эффектом, но этот эффект зависит от стимула активации [11]. Микровезикулы нейтрофилов из периферической крови человека разделяют на 3 категории: s-МВ (спонтанное образование), р-МВ (стимуляция форболовым эфиром) и b-МВ (индукция бактериями). Для субпопуляций микровезикул нейтрофилов характерна различная степень антибактериальных свойств: s-МВ не обладают заметными антибактериальными свойствами,

р-МВ обладают умеренными антибактериальными свойствами, а b-МВ наиболее эффективны при предупреждении бактериального роста. Протеомный анализ субпопуляций микровезикул нейтрофилов показал, что антибактериальными белками (миелопероксидаза, лактоферрин) обогащены b-МВ, что может обуславливать их дифференциальное воздействие на рост бактерий. Поверхностные маркеры b-МВ включали интегрины CD11b и CD18. В связи с этим предложен механизм проявления антибактериальных свойств b-МВ, в котором b-МВ присоединяются к бактериям через интегрины, что приводит к образованию агрегатов b-МВ и бактерий, однако агрегирование бактерии b-МВ не имело бактерицидного эффекта, но вместо этого предотвращало их рост, т.е. было бактериостатическим. Этот антибактериальный эффект снижался при обработке b-МВ водой или сапонином и зависел от Ca²⁺, энергии (глюкозы).

Влияние микровезикул нейтрофилов на бактерии отличается от эффектов нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular trap, NET), что подтверждается несколькими фактами. Образование NET является более длительным процессом (2–4 ч), тогда как максимальное образование b-МВ происходит в течение 20 мин. Производство NET зависит от активных форм кислорода, тогда как образование и активность b-МВ не зависят от окислительного взрыва. NET не требуют энергии или

других клеточных структур, тогда как b-MB зависят от ремоделирования цитоскелета и уровня глюкозы. Таким образом, авторами предполагается важная иммунологическая роль микровезикул нейтрофилов в улавливании бактерий. Важным аспектом является то, что микровезикулы свободно движутся в системной циркуляции, обладают способностью прикрепляться к бактериям в крови или тканях [11].

Взаимодействие микровезикул нейтрофилов с клетками

Микровезикулы нейтрофилов экспрессируют фосфатидилсерин на наружном листке мембраны, а также L-селектин, который необходим для их адгезии [5]. Показано, что данные микровезикулы активируют комплемент по классическому пути, фиксируют C3-, C4-фрагменты [16], а опсонизированные MB связываются с эритроцитами через рецептор комплемента 1, что может играть роль в их секвестрации. Микровезикулы нейтрофилов содержат в своем составе эластазу, миелопероксидазу и протеиназу 3, могут оказывать целенаправленную антимикробную активность, а микровезикулы нейтрофилов, транспортирующие эластазу, металлопротеиназу 9 или протеиназу 3, способствуют локальному разрушению тканей [45]. Они способны оказывать аутокринное воздействие на хемотаксис нейтрофилов [17]. Обнаружено, что микровезикулы нейтрофилов усиливают хемотаксис нейтрофилов вследствие экспрессии L- и P-селектина на своей поверхности. Они могут вызывать увеличение экспрессии тромбоцитами P-селектина [19]. Микровезикулы нейтрофилов, содержащие Mac-1, взаимодействуют с урокиназой, плазминогеном и металлопротеиназой 2 и 5, что указывает на их вовлеченность в фибринолиз и ремоделирование тканей [5, 19]. Микровезикулы нейтрофилов, выделенные из периферической крови пациентов с сепсисом, активировали JNK1-протеинкиназу семейства MAPK в эндотелиальных клетках, что приводило к секреции ими IL6 и MCP-1 [12]; микровезикулы нейтрофилов индуцировали также экспрессию эндотелиальными клетками IL8 и молекул адгезии. Кроме того, было обнаружено, что MB нейтрофилов связываются с эндотелиальными клетками через CD18, что приводит к увеличению экспрессии ICAM-1, а также увеличению количества активных форм кислорода в эндотелиальных клетках [47]. Микровезикулы нейтрофилов способны увеличивать экспрессию тканевого фактора (tissue factor, TF) эндотелиальными клетками, что в свою очередь приводит к образованию фактора свертываемости крови Ха [12]. Все эти факты являются показателями того, что микровезикулы нейтрофилов обладают провоспалительной активностью. Вместе с тем следует отметить, что, по данным других исследователей, микровезикулы нейтрофилов, культивируемые с эндотелиальными клетками, снижают уровень экспрессии STAT1, NF-κB, CCL8 и CXCL6 в эндотелиальных клетках, что приводит к противовоспалительным процессам и уменьшению воспалительных реакций [18]. К. Lim и соавт. продемонстрировали, что ингибирование образования микровезикул нейтрофилов приводит к увеличению сосудистой проницаемости [48].

Имеются данные о взаимодействии микровезикул нейтрофилов с клетками моноцитарно-макрофагальной линии. Контакт микровезикул нейтрофилов с макрофагом блокирует фагоцитоз. Микровезикулы нейтрофилов также блокируют реакцию макрофагов на зимозан и липополисахарид (ЛПС) [20]. В частности, они блокируют активацию макрофагов путем ингибирования фосфори-

лирования транскрипционного фактора каппа-би (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) и его ядерной транслокации. Предполагается, что экспрессия фосфатидилсерина на MB нейтрофилов является механизмом активации рецептора тирозинпротеинкиназы MER (MERTK) на макрофагах, поскольку блокада фосфатидилсерина блокирует активацию MERTK. При этом его экспрессия на других клеточных микровезикулах не приводила к активации этого пути. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов способствуют уменьшению секреции гамма-интерферона (interferon gamma, IFNγ) и TNFα, одновременно увеличивая секрецию трансформирующего ростового фактора бета 1 (transforming growth factor beta-1, TGF-β1) активированными IL2 естественными киллерами [21]. При культивировании с дендритными клетками, полученными из моноцитов, микровезикулы нейтрофилов приводили к изменению морфологии дендритных клеток, снижению их фагоцитарной активности и повышенной секреции TGF-β1 [22]. В этом же исследовании в присутствии микровезикул нейтрофилов, ЛПС и макрофагов последние демонстрировали сниженные способности индуцировать пролиферацию Т-клеток [22]. Было обнаружено, что в присутствии MB нейтрофилов уменьшается адгезия нейтрофилов к эндотелиальным клеткам пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) [23]. Независимо от клетки-мишени MB нейтрофилов, положительные по аннексину V, проявляют иммуносупрессивный эффект.

Участие микровезикул нейтрофилов в патологических процессах

При исследовании пациентов с различными заболеваниями почек количество микровезикул нейтрофилов было значительно увеличено у пациентов с острым и хроническим васкулитом, IgA-нефропатией и тубулоинтерстициальным нефритом, а также у пациентов, которые подвергались гемодиализу. У пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом уровень микровезикул нейтрофилов также увеличивался, что может быть связано с увеличением скорости генерации плазмينا. При инфекционных процессах наблюдается увеличение количества MB: к примеру, в плазме людей, больных пневмонией, уровень нейтрофильных MB был значительно выше по сравнению со здоровыми пациентами. Было показано, что повышение только циркулирующих микровезикул нейтрофилов может быть независимым маркером атеросклероза [12, 18]. При этом вопрос о том, является ли их увеличение постоянным или изменяется с течением заболевания, остается открытым [5, 12].

Сепсис — заболевание, характеризующееся острым системным воспалительным ответом и нарушенными иммунными реакциями, а также эндотелиальной дисфункцией и генерализованным протромботическим состоянием, приводящим к тромбозу микрососудов, полиорганной недостаточности и нередко к смерти [24]. У пациентов с сепсисом медиаторами образования MB нейтрофилов являются бактерии и факторы, полученные из клеток хозяина.

Повышение уровня нейтрофильных микровезикул может вызвать повышенную коагуляцию и адгезию тромбоцитов, приводящую к микротромбозам, повышенному воспалению сосудистой сети [19] и увеличению количества активных форм кислорода. Следовательно, при избыточном уровне микровезикул нейтрофилов обладают иммуносупрессивными свойствами [24].

Микровезикулы моноцитов

Субпопуляции моноцитов отличаются по экспрессии CD14 и CD16 на своей поверхности: классические моноциты — CD14⁺⁺ CD16⁻, промежуточная популяция — CD14⁺ CD16⁺, неклассические — CD14⁺ CD16⁺⁺. Их функции, секреторная активность и количество в циркуляции различны [49], но все популяции моноцитов образуют микровезикулы, количество которых соотносится с количеством клеток-источников, то есть моноцитов классического подтипа в кровотоке больше, и, соответственно, больше их микровезикул [8].

При физиологических условиях микровезикулы моноцитов образуются из циркулирующих моноцитов при их активации или апоптозе. Микровезикулы моноцитов составляют второй по величине пул тромбогенных МВ после тромбоцитарных микровезикул [26]. В условиях *in vitro* образование микровезикул происходит при активации моноцитов ЛПС, ионофорами кальция, гистамином, Р-селектин-Ig-химерными молекулами [10]. На микровезикулах моноцитов снижена экспрессия рецепторов CD45, так как их нет на липидных рафтах [8]. Стимуляция клеток различными агентами приводит к образованию моноцитарных микровезикул с различным содержанием. Обработка клеток линии ТНР-1 Р-селектином-Ig приводит к образованию микровезикул на 60% клеток, негативных по аннексину V. Обработка той же линии клеток ЛПС приводит к образованию 40% МВ моноцитов, негативных по аннексину V. Состав содержимого также меняется в зависимости от активирующего агента: в микровезикулах моноцитов после активации моноцитов ЛПС обнаружено 408 уникальных белков, а после активации Р-селектином-Ig — 52 уникальных и 100 одинаковых белков для обеих групп [10]. ЛПС-стимулированные микровезикулы моноцитов в основном содержат митохондриальные и ядерные белки, связанные с метаболизмом и энергетическими процессами, происходящими в клетке, а после активации моноцитов Р-селектином-Ig — содержат белки плазматической мембраны, участвующие в сигнальной трансдукции и межклеточных коммуникациях [10]. Следовательно, в зависимости от характера стимула на клетку образуются микровезикулы с различными, в том числе заданными свойствами. В связи с этим изучение протеомного состава МВ важно для оценки их функций.

Обнаружено, что микровезикулы моноцитов одновременно содержат TF, активированный протеин С и тромбомодулин на своей поверхности, и тем самым проявляют как про- [32], так и антикоагулянтную активность [8]. Микровезикулы моноцитов также экспрессируют эндотелиальный рецептор протенина С (ЕРСR), тем самым способствуя активации антикоагулянтного белка С при помощи тромбин-тромбомодулинового комплекса [50]. Микровезикулы, полученные из моноцитов, адгезированных на фибронектине, экспрессируют ингибитор TF (TFPI), а МВ, полученные при активации моноцитов ЛПС, экспрессируют TF. TF⁺ микровезикул моноцитов могут взаимодействовать с нейтрофилами, передавая тканевой фактор, благодаря чему нейтрофилы приобретают прокоагулянтную активность [25]. Микровезикулы, образованные клетками линии ТНР-1, экспрессируют CD15, который опосредует их связывание с Р-селектином на активированных тромбоцитах [5]. Микровезикулы моноцитов, захваченные активированными тромбоцитами внутрь тромба с помощью механизма взаимодействия Р-селектина/гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 (PSGL-1), приводят к накоплению TF и в конечном итоге усиливают отложение фибрина. Моноцитарные

МВ, несущие TF и PSGL-1, связываются с Р-селектином на поверхности эндотелиальных клеток. Моноцитарные микровезикулы индуцируют образование сосудов, что может указывать на их ангиогенное действие [26]. Микровезикулы, полученные из макрофагов, расположенных внутри атеросклеротической бляшки, экспрессируют CD40-лиганд (CD40L) и стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток после связывания с CD40. Они также опосредуют активацию лимфоцитов и ангиогенез внутри сосудистой бляшки [27]. Активация лимфоцитов поддерживается за счет экспрессии белков локуса HLA I класса и HLA II класса МВ моноцитов в сосудистой бляшке [51]. Микровезикулы моноцитов вызывают апоптоз гладкомышечных клеток, передавая им каспазу 1 [31]. Они способны индуцировать окислительный и нитрозативный стресс в эндотелиальных клетках и регулировать экспрессию TF и фактора фон Виллебранда на них [29].

Взаимодействие микровезикул моноцитов с клетками

Микровезикулы моноцитов обладают как провоспалительным, так и противовоспалительным действием. Их провоспалительная активность показана при действии на эндотелиальные клетки, фибробласты, моноциты и гладкомышечные клетки. Микровезикулы моноцитов, индуцированные ЛПС, содержат TNF α , IL6, IL8 и способствуют активации эндотелиальных клеток и образованию ими МВ. Помимо этого, моноцитарные микровезикулы индуцируют транслокацию NF-kB в ядро эндотелиальных клеток, что приводит к продукции ими IL8 и MCP-1 [29]. Эти цитокины рекрутируют лейкоциты в очаг воспаления. Микровезикулы моноцитов инактивируют внутриклеточные сигнальные пути в эндотелии за счет фосфорилирования ERK1/2 и деградации I κ B α . Это приводит к транслокации NF-kB в ядро эндотелиальных клеток, экспрессии ICAM-1, VCAM-1 и Е-селектина на них, что также влияет на привлечение лейкоцитов в очаг воспаления [30]. Микровезикулы моноцитов обладают аутокринным действием, индуцируя экспрессию моноцитами TNF α и IL6, что в свою очередь приводит к их активации [52]. При этом противовоспалительное действие микровезикул моноцитов опосредовано модификацией сигнальных путей в эндотелиальных клетках. Они снижают экспрессию pSrc (tyr416) в них, уменьшая проницаемость сосудов и повышая плотность эндотелиального монослоя. Таким образом, моноцитарные микровезикулы способствуют ограничению воспалительного процесса и сохранению (локализации) инфекционного очага. Микровезикулы моноцитов способствуют увеличению продукции оксида азота (NO) эндотелием, опосредованно через PI3-киназу и ERK1/2-зависимый путь. NO опосредует образование пероксинитрита (ONOO⁻), который в высоких концентрациях может индуцировать гибель клеток через апоптоз и некроз. Микровезикулы моноцитов могут вызвать апоптоз клеток гладкой мускулатуры сосудов благодаря тому, что являются источниками активной каспазы-1, NLRP3 и ASC [31]. Показано, что моноцитарные микровезикулы способствуют активации транскрипционного фактора NF-kB в альвеолярных эпителиальных клетках, тем самым индуцируют секрецию ими провоспалительных цитокинов и хемокинов [8, 30, 52, 53].

Свертывание крови играет важную роль в локализации воспалительного процесса и инфекционного очага [32, 54]. Основными компонентами микровезикул моноцитов, которые участвуют в коагуляции, являются TF

и фосфатидилсерин, активирующие факторы VII, IX, X и протромбин. Микровезикулы моноцитов прикрепляются и сливаются с тромбоцитами, передавая TF для инициирования свертывания крови [54]. Эта передача опосредована взаимодействием между PSGL-1 на МВ моноцитов и Р-селектином на тромбоцитах. Существуют факторы, повышающие активность TF на МВ, например обработка Δ⁹-тетрагидроканнабиолом, стимуляция моноцитов ЛПС, предотвращающая деградацию мРНК TF на моноцитах. Экспрессия TF на моноцитах в свою очередь зависит от уровней TNFα и IL1β [8, 52].

Участие микровезикул моноцитов в развитии различных патологических состояний

Исследования микровезикул моноцитов показали, что они вовлечены в процессы, связанные с нарушением обмена веществ: атеросклероз и сахарный диабет 2-го типа (СД2). При атеросклерозе наблюдается повышение уровня микровезикул данного типа в крови [8]. В исследованиях на мышах показано, что моноцитарные микровезикулы способствуют образованию бляшек на стенках кровеносного сосуда [55]. Показано, что уровень микровезикул моноцитов повышен у пациентов с гипертонией [33]. Количество микровезикул моноцитов в кровотоке увеличивается у пациентов с СД2 по сравнению со здоровыми пациентами, при этом у пациентов, страдающих диабетом с осложнениями (нефропатия, нейропатия и ретинопатия), обнаружены более высокие концентрации МВ моноцитов по сравнению с больными диабетом без осложнений. В связи с этим уровень микровезикул моноцитов может быть показателем прогрессирования заболевания. Предполагается, что при диабетической ретинопатии микровезикулы моноцитов могут быть причиной образования микрососудистых тромбов, приводящих к блокировке глазных капилляров [34], нарушению или потере зрения. У пациентов с неалкогольным гепатозом печени и неалкогольным стеатогепатитом также наблюдался высокий уровень циркулирующих микровезикул, происходящих как из классических CD14⁺ CD16⁻, так и неклассических CD14⁺ CD16⁺⁺ моноцитов. Таким образом, микровезикулы моноцитов могут быть диагностическим маркером для оценки тяжести и прогрессирования этих заболеваний, не требующим биопсии [35]. Кроме того, повышенный уровень микровезикул из неклассических моноцитов указывает на их активацию, поэтому понимание различных функций моноцитарных МВ может потенциально привести к раскрытию патогенеза болезни. Полагают, что моноцитарные микровезикулы вовлечены в патогенез некоторых инфекционных заболеваний. У пациентов с церебральной малярией уровень МВ моноцитов выше по сравнению с пациентами с неосложненной малярией и пациентами с тяжелой анемией. Моноцитарные микровезикулы могут быть биомаркером прогрессирования дегенерации мозга у пациентов с церебральной малярией [36]. Они также играют роль в развитии вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Поверхностный белок CCR5, являющийся корцептором для связывания ВИЧ, экспрессируется главным образом на Т-лимфоцитах и макрофагах. Модели *in vitro* показали, что микрочастицы мононуклеарных клеток периферической крови, трансфицированные в эпителиальные клетки яичника китайского хомячка, передают CCR5 клеткам, которые обычно не экспрессируют CCR5. Таким образом, перенос поверхностного рецептора приводит к тому, что клетки становятся более восприимчивыми к ВИЧ-инфекции. Таким обра-

зом, понимание функций моноцитарных микровезикул может помочь в создании новых методов лечения, которые будут использоваться в сочетании с высокоактивной антиретровирусной терапией для борьбы с ВИЧ-инфекцией [8].

Полагают, что роль моноцитарных микровезикул в развитии аутоиммунных заболеваний, в частности ревматоидного артрита, заключается в том, что они индуцируют образование матриксных металлопротеиназ синовиальными фибробластами, в результате чего происходит разрушение белков внеклеточного матрикса и повреждение соединительной ткани [56]. Это приводит к синовитам и дальнейшему воспалению. Кроме того, моноцитарные микровезикулы индуцируют секрецию фибробластами провоспалительных цитокинов — IL6, IL8, MCP-1 и MCP-2. Это приводит к ухудшению течения болезни, поскольку активируется еще больше моноцитов, которые образуют микровезикулы, и цикл повторяется, приводя в конечном итоге к повреждению костей и хрящей. Было показано, что уровень микровезикул моноцитов повышен у пациентов с псориазом [37], однако роль, которую они играют в этом заболевании, неясна. Они могут просто быть биомаркерами псориаза, но могут также потенциально способствовать развитию метаболических заболеваний, к которым пациенты с псориазом имеют предрасположенность, например к атеросклерозу. Помимо этого, уровень микровезикул моноцитов повышен при полимиозите, дерматомиозите [38] и антифосфолипидном синдроме [39]. Однако отмечено, что у пациентов с нейропсихиатрическими проявлениями системной красной волчанки уровень моноцитарных микровезикул снижался по мере увеличения тяжести заболевания. Повышенный уровень МВ моноцитов также наблюдался при серповидноклеточной анемии [24], раке легких [6], ночной пароксизмальной гемоглобинурии и сепсисе [37]. Предполагается, что роль микровезикул моноцитов в развитии рака легких обусловлена их проангиогенными свойствами [6]. Тем не менее прямая причинно-следственная связь не определена.

Таким образом, микровезикулы моноцитов можно рассматривать в качестве биомаркеров некоторых заболеваний, однако поскольку их вклад в патогенез заболеваний остается плохо изученным, неизвестно, можно ли рассматривать терапию, нацеленную на них, как способ лечения.

Микровезикулы лимфоцитов

Лимфоциты составляют 25–40% лейкоцитов крови [57]. Данных о микровезикулах, образуемых лимфоцитами, в литературе очень мало. Установлено, что уровень лимфоцитарных микровезикул повышен при различных патологиях, например у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [38]. Было показано, что В-клеточные везикулы иммунологически активны, они могут усиливать антигенную презентацию, доставляя МНС II класса фолликулярным дендритным клеткам [7], а везикулы Т-лимфоцитов опосредуют киллинг клеток за счет содержания на поверхности экзосом Fas-лиганда (FasL) и TRAIL [7]. Обнаружено, что Т-лимфоцитарные микровезикулы, несущие на своей поверхности FasL, взаимодействуют с гладкомышечными клетками и активируют в них NF-κB, тем самым вызывая повышение экспрессии синтазы NO и циклооксигеназы 2 в них. Показано, что при обработке форболовым эфиром, актиномицином D и фитогемагглютинином Т-лимфоциты образуют микро-

везикулы, несущие ген белка Sonic Hedgehog (Shh), данные микровезикулы индуцируют рост сосудов *in vitro* через активацию киназы ФАК и регуляцию экспрессии ICAM-1, RhoA, VEGF и синтеза NO эндотелием [42, 58]. Другими исследователями показано, что обработка Т-лимфоцитов актиномицином D может приводить к образованию ими микровезикул с антиангиогенными свойствами. Такие микровезикулы способствуют увеличению продукции эндотелиальными клетками активных форм кислорода, повышению экспрессии CD36 и снижению экспрессии VEGFR2 [43]. Т-лимфоцитарные микровезикулы вызывают дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими IL8 и онкостатина M [40].

Данных о микровезикулах, образуемых НК-клетками, практически нет, однако некоторыми исследователями показано, что экзосомы НК-клеток обладают цитотоксическими свойствами [59], вероятно, их микровезикулы обладают сходными свойствами. Также в настоящее время при помощи метода проточной цитофлюориметрии активно изучается фенотип и количественное содержание микровезикул в периферической крови как в норме, так и при патологиях. Обнаружено, что часть микровезикул, выделенных из периферической крови, экспрессируют маркеры НК-клеток — CD45, CD16, CD56. Показано, что в периферической крови женщин с преэклампсией уровень микрочастиц НК-клеток меньше, чем у здоровых беременных [9]. Изучение микровезикул линейных культур при помощи проточной цитофлюориметрии показало, что НК-клетки линии NK-92 образуют микровезикулы размером от 200 до 1000 нм, часть из них экспрессируют CD95, и интенсивность экспрессии возрастает при предварительном культивировании НК-клеток с TNF α [60].

Заключение

Суммируя приведенные выше данные, описанные в литературе, можно отметить, что внеклеточные везикулы, и в частности микровезикулы, являются весьма перспективным объектом исследования при различных физиологических и патологических процессах.

Научный и медицинский интерес к микровезикулам объясняется потенциальной возможностью их использования в качестве биологических маркеров заболеваний и универсального адресного средства доставки биологически активных веществ. В связи с этим для объединения специалистов в области микровезикул созданы Международное общество внеклеточных микровезикул (www.isev.org), Рабочие группы по стандартизации исследований микровезикул (www.isth.org, isac-net.org), База данных внеклеточных микровезикул (microvesicles.org).

Дополнительная информация

Источник финансирования. Публикация настоящей статьи осуществлена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-00679.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Авторы принимали равноценное участие в подготовке материала, сборе и анализе литературы, написании текста обзора литературы; все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Daubeuf S, Aucher A, Bordier C, et al. Preferential transfer of certain plasma membrane proteins onto T and B cells by trogocytosis. *PLoS One*. 2010;5(1):e8716. doi: 10.1371/journal.pone.0008716.
- Sedgwick AE, D'Souza-Schorey C. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic*. 2018;19(5):319–327. doi: 10.1111/tra.12558.
- Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular vesicles in angiogenesis. *Circ Res*. 2017;120(10):1658–1673. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309681.
- Sokolov DI, Ovchinnikova OM, Korenkov DA, et al. Influence of peripheral blood microparticles of pregnant women with preeclampsia on the phenotype of monocytes. *Transl Res*. 2016;170:112–123. doi: 10.1016/j.trsl.2014.11.009.
- Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ Res*. 2012;110(2):356–369. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.233403.
- György B, Szabó T, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(16):2667–2688. doi: 10.1007/s00018-011-0689-3.
- Distler JH, Huber LC, Gay S, et al. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity*. 2006;39(8):683–690. doi: 10.1080/08916930601061538.
- Halim AT, Ariffin NA, Azlan M. Review: the multiple roles of monocytic microparticles. *Inflammation*. 2016;39(4):1277–1284. doi: 10.1007/s10753-016-0381-8.
- Mikhailova VA, Ovchinnikova OM, Zainulina MS, et al. Detection of microparticles of leukocytic origin in the peripheral blood in normal pregnancy and preeclampsia. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(6):751–756. doi: 10.1007/s10517-014-2659-x.
- Bernimoulin M, Waters EK, Foy M, et al. Differential stimulation of monocytic cells results in distinct populations of microparticles. *J Thromb Haemost*. 2009;7(6):1019–1028. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03434.x.
- Timar CI, Lorincz AM, Csepanyi-Komi R, et al. Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes. *Blood*. 2013;121(3):510–518. doi: 10.1182/blood-2012-05-431114.
- Johnson BL, Kuethe JW, Caldwell CC. Neutrophil derived microvesicles: emerging role of a key mediator to the immune response. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2014;14(3):210–217. doi: 10.2174/1871530314666140722083717.
- van der Pol E, Hoekstra AG, Sturk A, et al. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes. *J Thromb Haemost*. 2010;8(12):2596–2607. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04074.x.
- van der Pol E, Coumans FA, Grootemaat AE, et al. Particle size distribution of exosomes and microvesicles determined by transmission electron microscopy, flow cytometry, nanoparticle tracking analysis, and resistive pulse sensing. *J Thromb Haemost*. 2014;12(7):1182–1192. doi: 10.1111/jth.12602.
- Pugholm LH, Baek R, Sondergaard EK, et al. Phenotyping of leukocytes and leukocyte-derived extracellular vesicles. *J Immunol Res*. 2016;2016:6391264. doi: 10.1155/2016/6391264.
- Gasser O, Schifferli JA. Microparticles released by human neutrophils adhere to erythrocytes in the presence of complement. *Exp Cell Res*. 2005;307(2):381–387. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.03.011.
- Yang JM, Gould SJ. The cis-acting signals that target proteins to exosomes and microvesicles. *Biochem Soc Trans*. 2013;41(1):277–282. doi: 10.1042/BST20120275.

18. Dalli J, Montero-Melendez T, Norling LV, et al. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties. *Mol Cell Proteomics*. 2013;12(8):2205–2219. doi: 10.1074/mcp.M113.028589.
19. Pluskota E, Woody NM, Szpak D, et al. Expression, activation, and function of integrin alphaMbeta2 (Mac-1) on neutrophil-derived microparticles. *Blood*. 2008;112(6):2327–2335. doi: 10.1182/blood-2007-12-127183.
20. Gasser O, Schifferli JA. Activated polymorphonuclear neutrophils disseminate anti-inflammatory microparticles by ectocytosis. *Blood*. 2004;104(8):2543–2548. doi: 10.1182/blood-2004-01-0361.
21. Pliyev BK, Kalintseva MV, Abdulaeva SV, et al. Neutrophil microparticles modulate cytokine production by natural killer cells. *Cytokine*. 2014;65(2):126–129. doi: 10.1016/j.cyto.2013.11.010.
22. Eken C, Gasser O, Zenhausem G, et al. Polymorphonuclear neutrophil-derived ectosomes interfere with the maturation of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol*. 2008;180(2):817–824. doi: 10.4049/jimmunol.180.2.817.
23. Dalli J, Norling LV, Renshaw D, et al. Annexin I mediates the rapid anti-inflammatory effects of neutrophil-derived microparticles. *Blood*. 2008;112(6):2512–2519. doi: 10.1182/blood-2008-02-140533.
24. Torgersen C, Moser P, Luckner G, et al. Macroscopic postmortem findings in 235 surgical intensive care patients with sepsis. *Anesth Analg*. 2009;108(6):1841–1847. doi: 10.1213/ane.0b013e318195e11d.
25. Egorina EM, Sovershaev MA, Olsen JO, Osterud B. Granulocytes do not express but acquire monocyte-derived tissue factor in whole blood: evidence for a direct transfer. *Blood*. 2008;111(3):1208–1216. doi: 10.1182/blood-2007-08-107698.
26. Aharon A, Tamari T, Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2008;100(5):878–885. doi: 10.1160/th07-11-0691.
27. Leroyer AS, Rautou PE, Silvestre JS, et al. CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(16):1302–1311. doi: 10.1016/j.jacc.2008.07.032.
28. Mastronardi ML, Mostefai HA, Soleti R, et al. Microparticles from apoptotic monocytes enhance nitrosative stress in human endothelial cells. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011;25(6):653–660. doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00898.x.
29. Essayagh S, Xuereb JM, Terrisse AD, et al. Microparticles from apoptotic monocytes induce transient platelet recruitment and tissue factor expression by cultured human vascular endothelial cells via a redox-sensitive mechanism. *Thromb Haemost*. 2007;98(4):831–837. doi: 10.1160/th07-02-0082.
30. Wen B, Combes V, Bonheure A, et al. Endotoxin-induced monocyte microparticles have contrasting effects on endothelial inflammatory responses. *PLoS One*. 2014;9(3):e91597. doi: 10.1371/journal.pone.0091597.
31. Sarkar A, Mitra S, Mehta S, et al. Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PLoS One*. 2009;4(9):e7140. doi: 10.1371/journal.pone.0007140.
32. Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, Lopez JA. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*. 2005;106(5):1604–1611. doi: 10.1182/blood-2004-03-1095.
33. Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 2002;16(8):539–547. doi: 10.1038/sj.jhh.1001447.
34. Ogata N, Nomura S, Shouzu A, et al. Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;73(3):241–248. doi: 10.1016/j.diabres.2006.01.014.
35. Kornek M, Lynch M, Mehta SH, et al. Circulating microparticles as disease-specific biomarkers of severity of inflammation in patients with hepatitis C or nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2012;143(2):448–458. doi: 10.1053/j.gastro.2012.04.031.
36. Pankoui Mfonkeu JB, Gouado I, Fotso Kuete H, et al. Elevated cell-specific microparticles are a biological marker for cerebral dysfunctions in human severe malaria. *PLoS One*. 2010;5(10):e13415. doi: 10.1371/journal.pone.0013415.
37. Takeshita J, Mohler ER, Krishnamoorthy P, et al. Endothelial cell-, platelet-, and monocyte/macrophage-derived microparticles are elevated in psoriasis beyond cardiometabolic risk factors. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000507. doi: 10.1161/JAHA.113.000507.
38. Baka Z, Senolt L, Vencovsky J, et al. Increased serum concentration of immune cell derived microparticles in polymyositis/dermatomyositis. *Immunol Lett*. 2010;128(2):124–130. doi: 10.1016/j.imlet.2009.12.018.
39. Nagahama M, Nomura S, Kanazawa S, et al. Significance of anti-oxidized LDL antibody and monocyte-derived microparticles in anti-phospholipid antibody syndrome. *Autoimmunity*. 2003;36(3):125–131. doi: 10.1080/0891693031000079257.
40. Shefler I, Salamon P, Reshef T, et al. T cell-induced mast cell activation: a role for microparticles released from activated T cells. *J Immunol*. 2010;185(7):4206–4212. doi: 10.4049/jimmunol.1000409.
41. Tesse A, Martinez MC, Hugel B, et al. Upregulation of proinflammatory proteins through NF-kappaB pathway by shed membrane microparticles results in vascular hyporeactivity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(12):2522–2527. doi: 10.1161/01.ATV.0000189298.62240.5d.
42. Soleti R, Benameur T, Porro C, et al. Microparticles harboring Sonic Hedgehog promote angiogenesis through the upregulation of adhesion proteins and proangiogenic factors. *Carcinogenesis*. 2009;30(4):580–588. doi: 10.1093/carcin/bgp030.
43. Yang C, Mwaikambo BR, Zhu T, et al. Lymphocytic microparticles inhibit angiogenesis by stimulating oxidative stress and negatively regulating VEGF-induced pathways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(2):R467–476. doi: 10.1152/ajpregu.00432.2007.
44. Handunnetti S, Polliack A, Tam CS. Microvesicles in chronic lymphocytic leukemia: ready for prime time in the clinic? *Leuk Lymphoma*. 2017;58(6):1281–1282. doi: 10.1080/10428194.2017.1298756.
45. Gasser O, Hess C, Miot S, et al. Characterisation and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils. *Exp Cell Res*. 2003;285(2):243–257. doi: 10.1016/s0014-4827(03)00055-7.
46. Lacy P. A new way of trapping bugs: neutrophil microvesicles. *Blood*. 2013;121(3):420–421. doi: 10.1182/blood-2012-11-467803.
47. Hong Y, Eleftheriou D, Hussain AA, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies stimulate release of neutrophil microparticles. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(1):49–62. doi: 10.1681/ASN.2011030298.
48. Lim K, Sumagin R, Hyun YM. Extravasating neutrophil-derived microparticles preserve vascular barrier function in inflamed tissue. *Immune Netw*. 2013;13(3):102–106. doi: 10.4101/in.2013.13.3.102.
49. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*. 2010;116(16):e74–80. doi: 10.1182/blood-2010-02-258558.
50. Meziani F, Delabranche X, Asfar P, Toti F. Bench-to-bedside review: circulating microparticles — a new player in sepsis? *Crit Care*. 2010;14(5):236. doi: 10.1186/cc9231.
51. Mayr M, Grainger D, Mayr U, et al. Proteomics, metabolomics, and immunomics on microparticles derived from human atherosclerotic plaques. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2(4):379–388. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.108.842849.
52. Bardelli C, Amoroso A, Federici Canova D, et al. Autocrine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPARgamma ligands. *Br J Pharmacol*. 2012;165(3):716–728. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01593.x.
53. Neri T, Armani C, Pegoli A, et al. Role of NF-kappaB and PPAR-gamma in lung inflammation induced by monocyte-derived microparticles. *Eur Respir J*. 2011;37(6):1494–1502. doi: 10.1183/09031936.00023310.

54. Aleman MM, Gardiner C, Harrison P, Wolberg AS. Differential contributions of monocyte- and platelet-derived microparticles towards thrombin generation and fibrin formation and stability. *J Thromb Haemost.* 2011;9(11):2251–2261. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04488.x.
55. Hoyer FF, Giesen MK, Nunes Franca C, et al. Monocytic microparticles promote atherogenesis by modulating inflammatory cells in mice. *J Cell Mol Med.* 2012;16(11):2777–2788. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01595.x.
56. Distler JH, Jungel A, Huber LC, et al. The induction of matrix metalloproteinase and cytokine expression in synovial fibroblasts stimulated with immune cell microparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(8):2892–2897. doi: 10.1073/pnas.0409781102.
57. Ярилин А.А. *Иммунология*. Учебник. — М.: ГЭОТРА-Медиа; 2010. — 752 с. [Yarilin AA. *Immunologiya*. Uchebnik. Moscow: GEOTRA-Media; 2010. 752 p. (In Russ).]
58. Agouni A, Mostefai HA, Porro C, et al. Sonic hedgehog carried by microparticles corrects endothelial injury through nitric oxide release. *FASEB J.* 2007;21(11):2735–2741. doi: 10.1096/fj.07-8079com.
59. Lugini L, Cecchetti S, Huber V, et al. Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes. *J Immunol.* 2012;189(6):2833–2842. doi: 10.4049/jimmunol.1101988.
60. Михайлова В.А., Белякова К.Л., Вязьмина Л.П., и др. Определение микровезикул, образуемых НК-клетками, методом проточной цитофлуориметрии // *Медицинская иммунология*. — 2018. — Т.20. — №2 — С. 251–254. [Mikhailova VA, Belyakova KL, Vyazmina LP, et al. Evaluation of microvesicles formed by natural killer (NK) cells using flow cytometry. *Medical Immunology (Russia)*. 2018;20(2):251–254. (In Russ).] doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-251-254.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Соколов Дмитрий Игоревич**, д.б.н. [*Dmitriy I. Sokolov*, D.Sc (biology)]; **адрес**: 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3 [address: 3, Mendeleevskaya line, 199034 Saint-Petersburg, Russia]; **e-mail**: falcojuggler@yandex.ru, **SPIN-код**: 3746-0000, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0002-5749-2531>

Маркова Ксения Львовна [*Kseniia L. Markova*]; **e-mail**: kseniyabelyakova129@gmail.com, **SPIN-код**: 4917-8153, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-2748-3543>

Коган Игорь Юрьевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Igor U. Kogan*, Professor]; **e-mail**: ikogan@mail.ru, **SPIN-код**: 6572-6450, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

Шевелева Анастасия Романовна [*Anastasia R. Sheveleva*]; **e-mail**: anastasiasheveleva075@gmail.com, **SPIN-код**: 1741-9092, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-2126-880X>

Михайлова Валентина Анатольевна, к.б.н. [*Valentina A. Mikhailova*, PhD]; **e-mail**: mva_spb@mail.ru, **SPIN-код**: 1749-5100, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-1328-8157>

Сергей Алексеевич Сельков, д.м.н., профессор [*Sergey A. Selkov*, MD, Professor]; **e-mail**: selkovsa@mail.ru, **SPIN-код**: 7665-0594, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-1560-7529>