

Circulating microparticles – new risk factor, or biomarker for cardiovascular diseases?

Cirkulujúce mikropartikuly – nový rizikový faktor alebo biomarker kardiovaskulárnych ochorení?

Dukát A¹, Šimko F²

¹II. interná klinika LFUK a UN Bratislava, Slovenská republika

Dukát A, Šimko F. **Circulating microparticles – new risk factor, or biomarker for cardiovascular diseases?** Cardiology Lett. 2016;25(2):85–90

Abstract. Microparticles represent the complex of vesicular structures originating from plasmatic membranes of endothelial cells, thrombocytes, erythrocytes, mono-cytes or myofibroblasts. They are released from the daughter cells under various physiological and pathological circumstances in the process of cellular activation, apoptosis and/or damage. Among the immediate stimuli of this release are various humoral factors, shear stress and inflammation, but also the physical load. As they carry cellular antigens and receptors from the cellular parts, they may serve for the intercellular transmission of biological signals and information. During the transmission of parts of the mother cells into the specific target cells they activate them and alter them phenotypically.

These biological attributes determine their presence on the physiologic processes of coagulation, angiogenesis and vasoregulation, but also on pathologic situations such as inflammation, hypercoagulation, atherosclerosis, hypertension, thromboembolic disease, diabetes mellitus and heart and renal failures. In addition they have the value of a biomarker of presence of disease, or the prognostic marker in some pathological states. Fig. 3, Ref. 37, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Key words: cardiovascular diseases – biomarkers – microparticles

Dukát A, Šimko F. **Cirkulujúce mikropartikuly – nový rizikový faktor alebo biomarker kardiovaskulárnych ochorení?** Cardiology Lett. 2016;25(2):85–90

Abstrakt. Mikropartikuly predstavujú komplex vezikulárnych štruktúr, ktoré pochádzajú z plazmatických membrán endotelových buniek, trombocytov, erytrocytov, monocytov alebo myofibroblastov. Z dcérskych buniek sa uvoľňujú pri rozličných fyziologických aj patologických situáciách v procese bunkovej aktivácie, apoptózy a/alebo poškodenia. Bezprostredným stimulom uvoľnenia sú rozličné humorálne faktory, napätie ciev, zápal, ale aj fyzická námaha. Keďže sú nosičmi celulárnych antigénov a receptorov, ktoré sú súčasťou buniek, z ktorých pochádzajú, môžu slúžiť aj na intercelulárny prenos biologických signálov a informácií. Pri prenose častí materských buniek do špecifických cieľových buniek ich následne aktivujú a fenotypicky alterujú.

Tieto biologické atribúty determinujú ich účasť na fyziologických dejoch koagulácie, angiogenézy a vazoregulácie, ale aj v patologických situáciách typu zápalu, hyperkoagulácie, aterosklerózy, hypertenzie, tromboembolickej choroby, diabetes mellitus a zlyhania srdca a obličiek. Okrem toho majú pri niektorých patologických stavoch hodnotu biologického markera prítomnosti ochorenia alebo prognostického ukazovateľa. Obr. 3, Lit. 37, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: kardiovaskulárne ochorenia – biomarkery – mikropartikuly

Z ¹II. internej kliniky LFUK a UN Bratislava a ²Ústavu patofyziológie LFUK a III. internej kliniky LFUK a UN Bratislava, Slovenská republika
Do redakcie došlo dňa 3. októbra 2015; prijaté dňa 2. novembra 2015

Adresa pre korešpondenciu: Prof. MUDr. Andrej Dukát, CSc., FRCP, II. interná klinika LFUK a UNB, Nemocnica Staré Mesto, Mickiewiczova 13, 813 69 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: andrej.dukat@sm.unb.sk

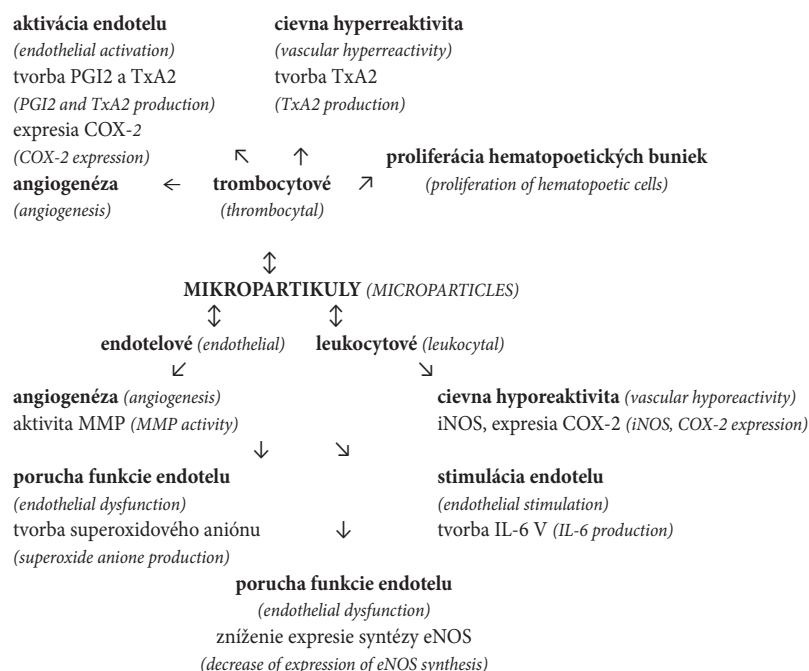
**Obrázok 1** Predpokladané mechanizmy pôsobenia mikropartikul na cievny systém

Figure 1 Supposed mechanisms of microparticle action on the vascular system

PGI₂ – prostacyklín (prostacycline), TxA₂ – tromboxán A₂, COX-2 – cyklooxygenáza 2 (cyclooxygenase 2), MMP – metaloproteíny (metalloproteins), IL-6 – interleukín 6 (interleukine 6), NOS – nitroxid syntáza (nitric oxide synthase)

Základom modernej epidemiológie, patofyziologických, ale aj klinických úvah v oblasti kardiovaskulárnych ochorení je desaťročia trvajúca longitudálna prospektívna štúdia The Framingham Heart Study, ktorá kontinuálne sleduje obyvateľov mestečka Framingham už od roku 1949. Odvtedy výsledky prospektívneho sledovania (dnes už tretej generácie) priniesli celý rad zásadných údajov a pojmov, medzi ktoré patrí aj obsahovo nie úplne vyhranený pojem „rizikový faktor“. Napriek tomu, že o cirkulujúcich mikropartikulách (MP) jestvujú literárne údaje viac ako desaťročie, len asi pred tromi rokmi Framinghamská štúdia poukázala aj na možnosť chápania MP ako potenciálneho nového rizikového faktora indikujúceho proces aterosklerózy (aterotrombózy) (1).

Definícia, patomechanizmy a potenciálne biologické implikácie mikropartikul

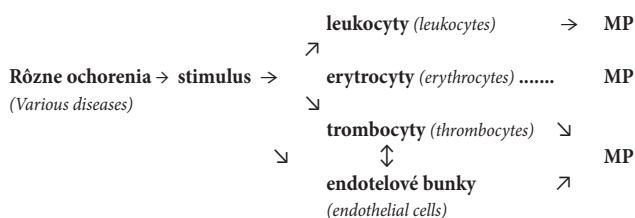
Endotel je pravdepodobne jedným z najpertraktovanejších pojmov kardiovaskulárnej medicíny ostatných rokov. Nielen preto, že patrí vzhľadom na hmotnosť k najväčším orgánom a tvorí výstelku ciev všetkých orgánov, ale je to tkanivo s najvariabilnejšími funkciami, vrátane vazoregulačnej, hemostázy a angiogénny regulujúcej a endokrinné a parakrinnej funkcie. Práve vďaka proproliferácnému pôsobeniu lokálne pôsobiacich

neuhumorálnych faktorov, ako angiotenzín II, endotelín alebo aldosterón, endotel má za patologických podmienok podiel na štrukturálnej remodelácii nielen cievnej muskulatúry ležiacej pod endotelom, ale aj na regulácii a alterácii štruktúry a funkcie iných orgánov (2 – 4). Pozorovania z ostatných rokov naznačujú, že endotel je aj jedným z najdôležitejších tkanív, ktoré majú vplyv na uvoľňovanie tzv. mikropartikul (MP) do cirkulačného systému (5, 6).

Cirkulujúce endotelálne mikropartikuly (CEM) predstavujú komplex vezikulárnych štruktúr, ktoré pochádzajú z plazmatických membrán endotelových buniek, pričom sa uvoľňujú v procese endotelovej aktivácie, apoptózy a/alebo poškodenia. Jestvuje množstvo štúdií indikujúcich, že CEM určitým spôsobom súvisia s endotelálnou dysfunkciou v zmysle straty ich normálnych vlastností s relatívnou dominanciou prozápalových, protrombotických a prokoagulačných reakcií a oslabenia vazodilatácie (7, 8).

Mikropartikuly sa môžu uvoľňovať aj z mnohých iných buniek, ako je endotel – z erytrocytov, monocytov a predovšetkým z trombocytov (9, 10) a napokon aj z myofibroblastov (11). Pritom asi 70 – 90 % cirkulujúcich MP pochádza z trombocytov a len 5 – 15 % z endotelu (10).

Biologický význam MP nie je napriek početným literárnym údajom dostatočne vyjasnený. Pôvodná predstava, že ide o celulárnu drvinu, teda o určitý biologický odpad bez zrejmej



Obrázok 2 Schematický obraz vzniku mikropartikul

Figure 2 Schematic picture of the origin of microparticles

MP – mikropartikuly (microparticles)

funkčnej hodnoty, bola na základe nedávnych štúdií podstatne modifikovaná. Už len skutočnosť, že mikropartikuly sú nosičmi celulárnych antigénov a receptorov, ktoré sú súčasťou buniek, z ktorých MP pochádzajú, svedčí o možnosti, že môžu slúžiť na intercelulárny prenos biologických signálov a informácií (12). Predpokladá sa, že MP prenášajú časti materských buniek do špecifických cieľových buniek s ich následnou aktiváciou a funkčnou a morfológickou modifikáciou (10). Okrem toho sú MP nosičmi viacerých koagulačných faktorov, z ktorých dominuje tkanivový faktor (13).

Tieto biologické atribúty MP determinujú ich účasť na fyziologických dejoch, ako sú koagulácia, angiogenéza a vazoregulácia, ale aj v patologických situáciách typu zápalu, hyperkoagulácie, ischemie alebo aterosklerózy (12). Cirkulujúce endotelálne MP sa spájajú so závažnými kardiovaskulárnymi patológiami, ako sú zlyhanie srdca, závažná hypertenzia (14 – 16), preeklampsia, progresia aterosklerotického plaku, arytmie alebo zápalové ochorenia ciev, chronická renálna insuficiencia, metabolický syndróm, obezita, diabetes mellitus, pľúcna embolizácia (17, 18). Na **obrázku 1** je schematické znázornenie predpokladaného pôsobenia mikropartikul na cievny systém a **obrázok 2** zobrazuje ich vznik.

Mikrovezikuly z buniek možno schematicky rozdeliť do troch skupín, ktoré sa odlišujú aj svojou veľkosťou. Najmenšie predstavujú exozómy (CD 63, TSG 101), ktoré môžeme veľkosťou prirovnať k vírusom (40 – 100 nm), stredne veľké – veľkosťou porovnateľné s baktériami (0,1 – 1 µm) a veľké (apoptotické telieska) porovnateľné s trombocyty (1 – 4 µm).

Tvorba mikropartikul je len čiastočne vyjasnený problém. Ako stimuly uvoľnenia MP z rodičovskej bunky po rozličných stimuloch sa uplatňujú zápalové cytokíny, voľné radikály, vrátane oxidovaného cholesterolu s nízkou hustotou (LDL), lipopolysacharidy, uremické toxíny, plazminogén aktivátor inhibitor 1, (PAI-1), trombín, vysoko senzitívny C-reaktívny proteín (CRP), šmykové napätie (shear stress) a iné. Bezprostredným mediátorom tohto informačného systému intercelulárnej komunikácie môže byť proteínová súčasť plazmy alebo mikrozomálna ribonukleová kyselina (mRNA) materskej bunky, membránový alebo intracelulárny

komponent. Ich pôsobenie na cieľové bunky môže viesť ku modifikácii fenotypu, uvoľňovaniu cytokínov, regulácii funkcie proteínov a regulácii génov (19). Spoločným miestom, kde sa stretávajú rôzne cesty pôsobenia mikropartikul je endotelálna nitridoxid syntáza (eNOS) s následnou alteráciou tvorby nitridoxidu (NO) a redukciou jeho vazodilatačných a antiagregačných účinkov (6).

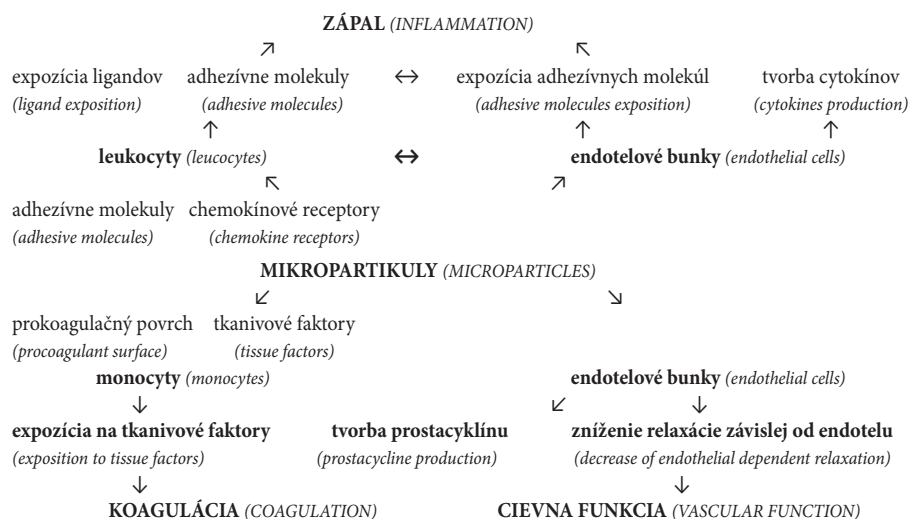
O trombocytárnych MP, pochádzajúcich z megakaryocytov a trombocytov, je podstatne menej informácií. Súvisí to s ich malými rozmermi, v dôsledku čoho ich prietoková cytometria, slúžiaca na detekciu MP, sa častokrát nedokáže zachytiť (neidentifikuje MP < 500 nm), a tým získané údaje počtu trombocytárnych MP sú výrazne podhodnotené. Ako nosiče tkanivového faktora kooperujú s inými MP na prokoagulačných stavoch typu koronárnych syndrómov, hoci sa priamo v aterosklerotickom plaku nevyskytujú (20). Či podiel MP na zvýšenej trombogenéze je k danému procesu len vo vzťahu spolupútnika alebo v kauzálnom vzťahu, nie je doposiaľ vyjasnené (20).

Ambivalentný charakter mikropartikul v realizovaných štúdiách

Mikropartikuly a patologické implikácie

Na vzťah mikropartikul a kardiovaskulárnych ochorení (hypertenzie), či komorbidít (diabetes mellitus) upozornili niektoré selektívne klinické sledovania (6, 15). Asociácie však boli nájdené aj pri viacerých kardiovaskulárnych rizikových faktoroch (dyslipidémia, liečbou nekontrolovaná artériová hypertenzia a diabetes mellitus 1. aj 2. typu) (21, 22). Na otázku, ako je to v celkovej populácii vzhľadom na endotelové poškodenie a kardiovaskulárne riziko, ukázalo sledovanie základnej Framinghamskej kohorty (Framingham Heart Study Offspring Co-hort) 844 osôb bez anamnézy prítomnosti kardiovaskulárneho ochorenia, pričom však 59 % pacientov malo hypertenziu, 12 % diabetes mellitus, 48 % metabolický syndróm, 8 % bolo fajčiarov s priemerným rizikovým skóre 8,5. Prietokovou cytometriou boli sledované tri subpopulácie mikropartikul – CD144+ (VE-Cadherín), CD62e+ (VE E selektín) a CD31+ (PECAM). Štúdia ukázala bezprostrednú súvislosť s viacerými rizikovými faktormi v populácii asymptomatických osôb, osobitne však s hladinou triacylglycerolov a prítomným metabolickým syndrómom. Potvrdila teda nepriaznivý vplyv uvedených abnormalít na cievny endotel a ich prokoagulačný a prozápalový potenciál v kardiovaskulárnej homeostáze (1).

Liečba atorvastatínom trvajúca osem týždňov u 19-tich pacientov s periférnym artériovým ochorením významne znížila počet cirkulujúcich mikropartikul podskupiny CD144+ (23). Pri sledovaní vplyvu rôznej dávky atorvastatínu (10 mg vs. 40 mg) počas dvanástich mesiacov došlo v oboch sledovaných skupinách (po 48 pacientov) k významnej redukcii



Obrázok 3 Miesta pôsobenia mikropartikul v patofyziológii cievneho systému

Figure 3 Sites of microparticle action in the pathophysiology of the vascular system

počtu cirkulujúcich mikropartikul, pričom stupeň redukcie závisel od použitej dávky (24). Zvýšená hladina cirkulujúcich mikropartikul bola detekovaná u pacientov s akútnym koronárnym syndrómom, pričom typ a množstvo MP záviseli od stupňa závažnosti koronárnej choroby srdca (25).

Vo včasnej fáze aterosklerotickej (AS) lézie endotelálne mikropartikuly indukujú, alebo akcelerujú endotelovú dysfunkciu inhibíciou eNOS s následnou zvýšenou migráciou a adhéziou leukocytov k endotelu. V rozvinutom plaku MP z hladkých svalových buniek zvyšujú apoptózu penových buniek a neovaskularizáciu plaku. V nestabilnom plaku MP stimulujú hromadenie tkanivového faktora a P-selektín glykoproteín ligandu 1 (PSGL), čo zvyšuje lokálnu trombo-genicitu v prípade erózie, či ruptúry (26).

Mikropartikuly a potenciálne protektívne implikácie

Nedávne sledovania však priniesli prekvapujúco odlišné výsledky, ako bola horeuvedená koncepcia endotelálnych mikropartikul (EMP) ako regulátora cievneho poškodenia a zápalu. Zdá sa pravdepodobné, že MP môžu zohrávať úlohu nielen v patogenéze vzniku ochorení, ale aj pri obranných, respektíve adaptačných reakciách (27).

V experimente na myšiach sa ukázal protektívny vplyv EMP na endotel a endotelové regeneračné bunky pred apoptózou, pretože spätné vychytávanie (uptake) EMP v cieľových bunkách vedie k prevencii apoptózy (28). EMP urýchľujú endotelovú regeneráciu na modeli izolovaných ciev (29). Sledoval sa aj vplyv telesnej záťaže dobrovoľníkov na uvoľňovanie mikropartikul. Počas dynamickej záťaže došlo k zvýšeniu mikropartikul uvoľnených z erytrocytov, trombocytov a endotelových buniek, ako aj ich prokoagulačnej aktivity, a to do jednej hodiny po záťaži

s následným rýchlym vychytním (klírensom) (30). Na záťaž však zvýšením MP nereagovali pacienti s prítomným cievnyim ochorením, ale len tí s normálnym výsledkom koronarografie. V tomto prípade teda zvýšenie MP skôr vylučuje a nie indikuje patologický nález (31). Na **obrázku 3** sú znázorené možné miesta pôsobenia mikropartikul v cievnom systéme.

Nevyhnutne teda treba rozlišovať úlohu mikropartikul v homeostáze buniek za fyziologického stavu, keď sa MP podieľajú na kontrole homeostázy v zmysle regulácie trombózy, zápalu a funkcie endotelu a pri patologických podmienkach, keď sa EMP podieľajú na vývoji hyperkoagulability, prozápalového stavu a endotelovej dysfunkcie.

Cirkulujúce mikropartikuly ako možný biomarker pre kardiovaskulárnu prevenciu

Na základe literárnych údajov možno uvažovať o piatich oblastiach kardiovaskulárnej prevencie, kde by MP mohli mať validitu prognostického faktora: EMP a funkcia endotelu, EMP a artériová tuhosť, MP a prozápalový stav (hs CRP), MP a koronárne kalcifikácie, MP z trombocytov a reaktivita trombocytov.

Mikropartikuly ako biomarker v primárnej prevencii

Vzhľadom na výskyt aterosklerotických príhod máme doklady o asociácii hladín MP s rizikovými faktormi artériovej hypertenzie (aj podľa stupňa závažnosti hypertenzie) a diabetes mellitus (významnejšie pri diabetes mellitus 1. typu), avšak pre klinické použitie nemáme ešte dostatočné množstvo údajov. Na druhej strane hladina MP viažucich sa na tkanivové faktory u pacientov s karcinómom korelovala so vznikom závažných tromboembolických príhod a MP by sa mohli

reálne využívať na predikciu a prevenciu tromboembolických príhod u pacientov s karcinómom (32).

Mikropartikuly ako biomarker v sekundárnej prevencii

Na základe údajov z registra GRACE je zrejmé, že u pacientov po akútnom koronárnom syndróme korelovala prognóza mortality a infarktu myokardu s hladinou MP (tretí tertíl) s relatívnym rizikom RR: 3,14 ($p = 0,004$). Pri úmrtí z kardiovaskulárnych príčin bolo RR: 5,97 ($p = 0,0002$) (33).

So zvyšujúcou sa závažnosťou koronárnej choroby srdca sa lineárne zvyšovali hladiny CD144+ EMP (od pacientov s nízkym rizikovým skóre, cez osoby s viacerými rizikovými faktormi, stabilnou angínou pectoris až po akútne koronárne príhody), v zmysle významnej korelácie medzi EPM a kumulatívnou incidenciou závažných kardiovaskulárnych príhod (kombinovaný ukazovateľ) počas 60-tich mesiacov sledovania (34).

U pacientov s infarktomyokardu bez elevácie ST segmentu (NSTEMI) hladina EP (CD144+) korelovala s potrebou hospitalizácie pre zlyhanie srdca po zohľadnení veku, ejekčná frakcia ľavej komory srdca (LVEF) a body mass index (BMI) s HR: 1,39 (95 % CI: 1,03 – 1,89) ($p = 0,034$) (35).

U pacientov s pľúcnou hypertenziou a pravostranným srdcovým zlyhaním sa ukázala korelácia MP (CD62) a MP (CD144) s incidenciou kombinovaného faktora mortality plus hospitalizácie pre pravostranné srdcové zlyhanie počas sledovania 400 dní (36).

U pacientov v koncovom štádiu obličkového zlyhania (na dialýze) korelovala hladina MP (CD31+) s dĺžkou intervalu bez závažnej príhody a mortality (kardiovaskulárnej i celkovej) s HR: 1,30 (95 % CI: 1,10 – 1,50) ($p = 0,0033$) počas 70-mesačného sledovania (37).

Možno teda konštatovať, že ako prognostický biomarker sa MP osvedčili pri koronárnej chorobe srdca, pravostrannom a ľavostrannom srdcovom zlyhavaní a pri koncovom štádiu renálnej insuficiencie.

Záver

Mikropartikuly predstavujú komplex vezikulárnych štruktúr, ktoré pochádzajú z plazmatických membrán endotelových buniek, trombocytov, erytrocytov, monocytov alebo myofibroblastov. Z dcérskych buniek sa uvoľňujú za rozličných fyziologických, aj patologických situácií v procese bunkovej aktivácie, apoptózy a/alebo poškodenia. Bezprostredným stimulom uvoľnenia sú rozličné humorálne faktory, napätie cievy, zápal, ale aj fyzická námaha.

Biologický význam MP nie je dostatočne vyjasnený. V žiadnom prípade sa nepovažujú za biologický odpad bez zrejmej funkčnej hodnoty. Pretože mikropartikuly sú nosičmi celulárnych antigénov a receptorov, ktoré sú

súčasťou buniek, z ktorých MP pochádzajú, môžu slúžiť na intercelulárny prenos biologických signálov a informácií. Zdá sa, že prenášajú časti materských buniek do špecifických cieľových buniek s ich následnou aktiváciou a fenotypickou alteráciou.

Tieto biologické atribúty MP determinujú ich účasť na fyziologických dejoch ako koagulácie, angiogenézy a vazoregulácie, ale aj v patologických situáciách typu zápalu, hyperkoagulácie, aterosklerózy, hypertenzie, tromboembolickej choroby, diabetes mellitus a zlyhania srdca a obličiek. Samotná koincidencia ich zvýšeného výskytu však ešte nie je dokladom kauzálnej súvislosti s uvedenými patologickými dejmi v zmysle podieľaní sa na ich patogenéze alebo endogénnej protekcie alebo adaptácii, pričom potenciálnu kauzalitu možno len veľmi ťažko dokázať. Okrem toho MP majú pri niektorých patologických stavoch hodnotu biologického markera prítomnosti ochorenia alebo prognostického ukazovateľa. Len veľké klinické štúdie so sofistikovanou technikou detekcie a špecifikáciou typu MP môžu rozhodnúť, či sa budú v blízkej budúcnosti využívať na zlepšenie diagnostiky a terapie pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami.

Literatúra

1. Amabile N, Cheng S, Rtenard JM, et al. Association of circulating endothelial microparticles with cardiometabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Eur Heart J* 2014;doi:10.1093/eurheartj/ehu153
2. Šimko F, Pecháňová O. Recent trends in hypertension treatment: perspectives from animal studies. *J Hypertens* 2009;S6:1-4.
3. Pecháňová O, Šimko F. The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance. *Physiol Res* 2007;56:7-16.
4. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. Review. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1983-1992.
5. Meziani F, Tesse A, Andriantsitohaina R, et al. Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacol Reports* 2008;60:75-84.
6. Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, et al. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res* 2009;335:143-151.
7. Boulanger CM, Dignat-George F. Microparticles: an introduction. *Arterio-scler Thromb Vasc Biol* 2011;31:2-3.
8. Kollár J. Cirkulujúce mikropartikuly – príčina alebo konzekvencia kardiovaskulárnych chorôb? *Ateroskleróza* 2009;13:86-104.
9. Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, et al. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemosth* 2001;85:639-646.
10. Mause SF, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circul Res* 2010;107:1047-1057.
11. Moulin VJ, Mayrand D, Messier H, et al. Shedding of microparticles by myofibroblasts as mediator of cellular cross-talk during normal wound healing. *J Cell Physiol* 2010;225:734-740.

12. Markiewicz M, Richard E, Marks N, et al. Impact of endothelial microparticles on coagulation, inflammation, and angiogenesis in age-related vascular diseases. *J Aging Res* 2013; doi: 10.1155/2013/734509.
13. Yong PJ, Koh CH, Shim WS. Endothelial microparticles: missing link in endothelial dysfunction? *Eur J Prev Cardiol*. 2013 3:496-512.
14. Helbing T, Olivier C, Bode C, et al. Role of microparticles in endothelial dysfunction and arterial hypertension. *World J Cardiol* 2014;6:1135-1139.
15. Boulanger CM. Microparticles, vascular function and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypert* 2010;19:177-180.
16. Preston RA, Jy W, Jimenez JJ, et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension* 2003;41(2):211-217.
17. Ramacciotti E, Hawley A, Wroblewski S, et al. Proteomics of microparticles after deep vein thrombosis. *Thromb Res* 2010; doi:10.1016/j.thromres.2010.01.019.
18. Ling L, Huang H, Zhu L, et al. Evaluation of plasma endothelial microparticles in preeclampsia. *J Int Med Res* 2014;42:42-51.
19. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:27-33.
20. Leroyer AS, Isobe H, Les'eche G, et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:772-777.
21. Shantsila E, Kamphuisen PW, Lip GY. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2010;11:2358-2368.
22. Morel O, Ohlmann P, Morel N, et al. Microparticles and cardiovascular disease. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005;98:226-235.
23. Mobarrez F, Egberg N, Antovic J, et al. Release of endothelial microparticles in vivo during atorvastatin treatment: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Thromb Res* 2012;129:95-97.
24. Almquist T, Jacobson SH, Mobarrez F, et al. Lipid-lowering treatment and inflammatory mediators in diabetes and chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 2014;44:276-284.
25. Kafian S, Mobarrez F, Wallén H, et al. Association between platelet reactivity and circulating platelet-derived microvesicles in patients with acute coronary syndrome. *Platelets* 2015;26:467-473.
26. Wekesa AL, Cross KS, O'Donovan JF, et al. Predicting carotid artery disease and plaque instability from cell-derived microparticles. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2014;48:489-495.
27. Keller S, Ridinger J, Rupp AK, et al. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. *J Transl Med* 2011;doi:10.1186/1479-5876-9-86.
28. Jansen F, Yang X, Hoelscher M, et al. Endothelial microparticle-mediated transfer of MicroRNA-126 promotes vascular endothelial cell repair via SPRED1 and is abrogated in glucose-damaged endothelial microparticles. *Circulation* 2015;doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001720.
29. Jansen F, Yang X, Hoyer FF, et al. Endothelial microparticle uptake in target cells is Annexin I/Phosphatidylserine receptor dependent and prevents apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1925-1935.
30. Durrer C, Robinson E, Wan Z, et al. Differential impact of acute high-intensity exercise on circulating endothelial microparticles and insulin resistance between overweight/obese males and females. *PloS One* 2015;doi:10.1371/journal.pone.0115860.
31. Ayers L, Nieuwland R, Kohler M, et al. Dynamic microvesicle release and clearance within the cardiovascular system: triggers and mechanisms. *Clin Sci* 2015; 129:915-931.
32. Zwicker JI. Unconventional approaches to the prevention of cancer associated thrombosis. *Thromb Res* 2014;133:44-48.
33. Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation* 2001;104:2649-2652.
34. Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, et al. Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:601-608.
35. Nozaki T, Sugiyama S, Sugamura K, et al. Prognostic value of endothelial microparticles in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2010;12:1223-1228.
36. Amabile N, Guignabert C, Montani D, et al. Cellular microparticles in the pathogenesis of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2013;42:272-279.
37. Amabile N, Guérin AP, Tedgui A, et al. Predictive value of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:1873-1880.