บทความฟื้นวิชา

ไมโครพาติเคิล (Cell-derived Microparticles) : บทบาทด้านสรีรวิทยาและพยาธิวิทยา

ดวงดาว นันทโกมล

ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ไมโครพาติเคิล (cell-derived microparticles) คือ ส่วนของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีขนาดประมาณ 0.1-1.5 ไมครอน สร้างออกมาจากผนังเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของเซลล์ต่างๆ อาทิ เช่น เม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด เม็ดเลือดขาว และเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) ในขณะที่เซลล์ได้รับการกระตุ้นหรือในกระบวนการ apoptosis[1-4] ไมโครพาติเคิลสามารถตรวจพบได้ในกระแสเลือดของคนปกติในระดับต่ำมากประมาณ 81-375 เซลล์ต่อไมโครลิตร[5] และพบระดับไมโครพาติเคิลสูงขึ้นกว่า 10-20 เท่าในผู้ป่วยโรคต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือด[6-10] โรคธาลัสซีเมีย[11] โรคมาลาเรีย[5, 12] โรคเอดส์[13] เป็นต้น อีกทั้งยังพบว่าระดับไมโครพาติเคิลที่สูงขึ้นในโรคเหล่านี้ สัมพันธ์กับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทำงานมากกว่าปกติและกระบวนการอักเสบของหลอดเลือด[10,14] ชนิดของไมโครพาติเคิลในกระแสเลือดของผู้ป่วยแต่ละโรคแตกต่างกันไป เช่น ไมโครพาติเคิลจากเยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelium derived microparticles) สามารถตรวจพบในปริมาณสูงในโรคหลอดเลือดโคโรนารีเฉียบพลัน[15] เบาหวานชนิดที่ 2[16] ความดันโลหิตสูง[17] และ lupus anticoagulant[18] เป็นต้น นอกจากนี้ได้มีการค้นคว้าพบว่าไมโครพาติเคิลจากเยื่อบุผนังหลอดเลือดจะสูงในผู้ป่วยโรคไตระยะสุดท้ายและมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด[19] ส่วนไมโครพาติเคิลจากเม็ดเลือดขาว (leukocyte derived microparticles) ตรวจพบในปริมาณสูงใน เบาหวานชนิดที่ 2[16] โรคเอดส์[13] ภยันตรายรุนแรง[20] ภาวะ sepsis[21] และ preeclampsia[22] ด้วยสาเหตุดังกล่าวทำให้การตรวจวัดปริมาณและการตรวจแยกชนิดของไมโครพาติเคิล จึงมีความสำคัญในด้านการศึกษาเข้าใจกระบวนการเกิดพยาธิสภาพของโรค (pathogenesis) หรืออาจนำมาซึ่งการพัฒนาด้านการรักษาโรคที่มีสาเหตุจากการทำงานที่ผิดปกติไปของไมโครพาติเคิลในลำดับต่อไป

ได้รับต้นฉบับ 26 กุมภาพันธ์ 2553 ให้ลงตีพิมพ์ 16 มีนาคม 2553

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางสาวดวงดาว นันทโกมล ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

e-mail: nantadao@gmail.com

คำจำกัดความและโครงสร้างของไมโครพาติเคิล

ไมโครพาติเคิลหรือส่วนของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีขนาดประมาณ 0.1-1.5 ไมครอนที่เกิดจากเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด หรือ เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด ลักษณะรูปร่างของไมโครพาติเคิลมีความหลากหลายไม่แน่นอน มีทั้งรูปร่างกลม รี ที่มีขนาดเล็กกว่าเกล็ดเลือด ไมโครพาติเคิลถูกสร้างขึ้นมาขณะที่เซลล์ถูกกระตุ้นหรือก่อนเซลล์เกิด apoptosis[12, 23, 24]

ส่วนประกอบของไมโครพาติเคิลประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดและโปรตีน โดยฟอสโฟลิปิดที่เป็นส่วนประกอบหลักคือ phosphatidylserine และส่วนประกอบที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของไมโครพาติเคิลคือโปรตีนจากผิวเซลล์ต้นกำเนิด (cellular origin) ที่แตกต่างกันไป เช่น CD14 ตรวจพบบนไมโครพาติเคิลที่สร้างจากโมโนไซต์ (monocyte derived microparticles) glycophorin A หรือ CD235 ตรวจพบบนไมโครพาติเคิลที่สร้างจากเม็ดเลือดแดง (red cell derived microparticles)[25] CD42a CD42b CD41 CD61[4, 14, 26, 27] ตรวจพบบนไมโครพาติเคิลที่เกิดจากเกล็ดเลือด (platelet derived microparticles) และ CD51 CD105 [12] ตรวจพบบนไมโครพาติเคิลที่เกิดจากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell derived microparticles) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไมโครพาติเคิลที่เกิดจากเกล็ดเลือดยังประกอบไปด้วย glycoprotein หลายชนิด เช่น platelet-activating factor[28] β-amyloid precursor protein[29] Ca^{2+}-dependent protease calpain[30, 31] arachidonic acid[32] และ ฟอสโฟลิปิดอีกหลายตัว[33,34] ซึ่งล้วนแล้วแต่เกี่ยวข้องกับหน้าที่ของไมโครพาติเคิลทั้งสิ้น และลักษณะสำคัญที่ทำให้สามารถแยก ไมโครพาติเคิลออกจากเซลล์ต้นกำเนิดได้คือ ขนาดของไมโครพาติเคิลจะเล็กกว่าเซลล์ต้นกำเนิด คือ 0.1-1.5 ไมโครเมตร นอกจากนี้ไมโครพาติเคิลจะไม่มีส่วนของ protein cytoskeleton และไม่มีส่วนของ

nucleic acid ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ใช้แยกจาก apoptotic body[14]

กลไกการสร้างไมโครพาติเคิลและการควบคุมสมดุลฟอสโฟไลปิดของเยื่อหุ้มเซลล์

โครงสร้างของเยื่อหุ้มผนังเซลล์ประกอบด้วยโปรตีนและ lipid bilayer ซึ่งปกติการจัดเรียงตัว และการกระจายตัวของฟอสโฟลิปิดบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์เป็นลักษณะไม่สมมาตร (asymmetric distribution) คือ phosphatidylserine และ phosphatidylethanolamine ส่วนใหญ่จะอยู่ด้านในของเยื่อหุ้มเซลล์ (inner leaflet) ส่วน sphingomyelin และ phosphatidylcholine จะเรียงตัวอยู่ด้านนอก (outer leaflet)[35,36] การเคลื่อนไหวของฟอสโฟลิปิดแบบสลับที่กันของฟอสโฟลิปิดที่อยู่ระหว่างผนังเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกกับฟอสโฟลิปิดที่อยู่ผนังชั้นในเรียกการเคลื่อนไหวแบบนี้ว่า “flip-flop” การเรียงตัวแบบไม่สมมาตรนี้เป็นคุณสมบัติของเซลล์เม็ดเลือดปกติที่ต้องรักษาไว้ เนื่องจากฟอสโฟลิปิดชนิด phosphatidylserine ถ้าปรากฏที่ผนังชั้นนอกจะสามารถกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดได้อีกทั้งยังเป็น recognition site สำหรับ macrophage เพื่อจับกินและทำลายก่อนถึงอายุขัย ในภาวะปกติการเรียงตัวของฟอสโฟลิปิดจะเป็นเช่นนี้ด้วยการทำงานของเอนไซม์ flippase[35,36] ในภาวะที่เซลล์ถูกกระตุ้นหรือก่อนเซลล์เกิด apoptosis ระดับแคลเซียมในเซลล์ที่สูงขึ้นซึ่งจะมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ flippase แต่จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ floppase และ scramblase มีผลส่ง phosphatidylserine ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก ทำให้เกิดภาวะ phosphatidylserine มากเกินไป เซลล์รักษาการกระจายตัวของฟอสโฟลิปิดให้เป็นปกติคือแบบไม่สมมาตร ด้วยการปล่อย phosphatidylserine ส่วนเกินเป็นไมโครพาติเคิล[35,37] ล่องลอยอยู่ในกระแสโลหิต กระบวนการปลดปล่อยชิ้นส่วน phosphatidylserine ส่วนเกินบนผนังเยื่อหุ้มเซลล์นี้เรียกว่า “cell membrane vesiculation” ซึ่งถือว่าเป็นกลไกพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือดปกติที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าจากภายนอกแต่สำหรับเม็ดเลือดแดงตัวแก่จะพบว่ามี phosphatidylserine มาปรากฏอยู่ที่ผนังชั้นนอกเป็นปริมาณมากจนไม่สามารถปลดปล่อยออกไปได้ทันทั้งหมดทำให้เม็ดเลือดขาวหรือ macrophage สามารถมาจับกินและทำลายเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุได้ในที่สุด จากการศึกษาวิจัยพบว่าการกระจายตัวแบบไม่สมมาตรของฟอสโฟลิปิดถูกควบคุมโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ต่อไปนี้

Flippase (aminophospholipid translocase) เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะในการขนส่ง phosphatidylserine และ phosphatidylethanolamine จากเยื่อหุ้มเซลล์ส่วนนอก (outer membrane) เข้าสู่ในเซลล์ (inner membrane) เป็นเอนไซม์ที่ต้องอาศัย ATP ในการทำงาน และถูกยับยั้งเมื่อปริมาณแคลเซียมในเซลล์ (intracellular calcium) เพิ่มสูงขึ้น[38,39]

Floppase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ตรงกันข้ามกับเอนไซม์ flippase คือ ขนส่งฟอสโฟลิปิด (aminophospholipid และ cholinephospholipid) จากส่วนในของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ออกสู่ส่วนนอก ทำงานโดยอาศัย ATP เช่นกัน ในภาวะปกติ floppase แต่จะเริ่มทำงานก็ต่อเมื่อภายในเซลล์มีระดับแคลเซียมที่สูงขึ้นและถูกค้นพบครั้งแรกในเม็ดเลือดแดง[40, 41]

Scramblase การทำงานของ scramblase ไม่ต้องอาศัย ATP แต่จะอาศัยระดับแคลเซียมที่สูงขึ้น ภายในเซลล์ (Ca^{2+}-dependent mechanism) เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของ scramblase[42] ส่งผลให้มีการขนส่งฟอสโฟลิปิดออกสู่ภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์[43]

บทบาทของไมโครพาติเคิลในด้านสรีรวิทยา

จากรายงานการวิจัยพบว่ากระบวนการการส่ง phosphatidylserine ออกสู่ผิวเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก (phosphatidylserine externalization) และกระบวนการเกิดไมโครพาติเคิล (cell membrane vesiculation) นั้นมีความจำเป็นในกระบวนการเกิดการแข็งตัวของเลือดในภาวะปกติ เนื่องจากความบกพร่องในคุณสมบัติดังกล่าวนำมาสู่ความผิดปกติของระบบการแข็งตัวของเลือดในโรค Scott syndrome[44] ซึ่งเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม ผู้ป่วยมีปัญหาเลือดออกตามร่างกาย พบความผิดปกติที่ระบบการห้ามเลือด ซึ่งเกิดจากผนังเยื่อหุ้มเซลล์ไม่สามารถส่ง phosphatidylserine จากส่วนในออกมายังส่วนนอกของผิวเยื่อหุ้มเซลล์ได้ และไม่มีการสร้างไมโครพาติเคิลออกมาทำงานร่วมกับปัจจัยการแข็งตัวของเลือด[45] หลักฐานงานวิจัยโดย Bevers[46] และคณะในหลอดทดลองพบว่า เมื่อนำเม็ดเลือดของผู้ป่วยโรค Scott syndrome มากระตุ้นด้วยสาร calcium ionophore (A23187) ซึ่งปกติสารนี้จะใช้ในการเปิด calcium channel ของเซลล์ในคนปกติและจะทำให้มีกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ scramblase และ flippase เพื่อให้มีการขนส่ง phosphatidylserine และผลิตเป็นไมโครพาติเคิล แต่เซลล์ของผู้ป่วยโรค Scott syndrome ไม่สามารถส่งออก phosphatidylserine บนผิวเซลล์และไม่มีการสร้างไมโครพาติเคิลได้[46] จากความรู้ทางโรคทางพันธุกรรม Scott syndrome ชนิดนี้ ถึงแม้จะพบได้น้อยมากและพบเฉพาะในชาวต่างประเทศ เมื่อศึกษาถึงสาเหตุของอาการที่มีเลือดออกผิดปกติและผลการวิจัยทางห้องปฏิบัติการสามารถยืนยันได้ว่าเซลล์ของผู้ป่วยเหล่านี้ไม่สามารถสร้างไมโครพาติเคิลได้ ทำให้อธิบายถึงความสำคัญของไมโครพาติเคิลร่วมในกระบวนการเกิดการแข็งตัวของเลือดในภาวะปกติ เพื่อรักษาความสมดุลของระบบการห้ามเลือด (homeostatic

system) นอกจากนี้ไมโครพาติเคิลจะร่วมทำงานในระบบการแข็งตัวของเลือดได้เนื่องจาก phosphatidylserine ที่ปรากฏอยู่บนผิวของไมโครพาติเคิลจากเกล็ดเลือดและจากเยื่อหุ้มเซลล์มีที่จับสำหรับ clotting factors IXa, VIIIa, Va และ prothrombin ความผิดปกติดังกล่าวนี้ได้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของไมโครพาติเคิลในระบบการห้ามเลือด[47] และ ไมโครพาติเคิลจากเยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell derived microparticles) สามารถตรวจพบ von Wilibrand factor (vWF)[48] และ E-selectin[9] ด้วยเช่นกัน และสามารถส่งเสริมให้เกิด platelet aggregation มีรายงานว่า vWF ที่จับกับไมโครพาติเคิลของ endothelial cell (endothelium derived microparticles) สามารถจับกับ vWF receptor ได้ดีกว่า vWF อิสระในกระแสเลือด

บทบาทของไมโครพาติเคิลในด้านพยาธิวิทยา

มีรายงานการพบปริมาณไมโครพาติเคิลเพิ่มขึ้นในโรคต่างๆ มากมาย แม้ว่าจะมีการศึกษากลไกการเกิดไมโครพาติเคิลและหน้าที่ของไมโครพาติเคิลกันอย่างกว้างขวางแต่ปัจจุบันยังไม่เป็นที่ทราบอย่างชัดเจน จากการศึกษาที่ผ่านมาเชื่อว่าไมโครพาติเคิลมีบทบาทในกระบวนการอักเสบ (inflammation) และตรวจพบระดับไมโครพาติเคิลที่มีปริมาณสูงในผู้ป่วยที่มีภาวะแทรกซ้อนของระบบแข็งตัวของเลือดที่ทำงานมากผิดปกติ (hypercoagulation)[3,12,14,23,35,49,50] ไมโครพาติเคิลมีบทบาทในด้านพยาธิวิทยาทั้งทางตรงและทางอ้อม ไมโครพาติเคิลทำหน้าที่ขนส่งส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์จากเซลล์ต้นกำเนิดไปยังเซลล์อื่นๆ เช่น ตรวจพบว่ามีการ transfer โมเลกุลที่เป็น chemokine receptor หรือ CCR5 จากไมโครพาติเคิลที่สร้างจาก CCR5+Chinese hamster ovary cells และ mononuclear cells ไปยัง CCR5-deficient mononuclear cells ได้[51] ซึ่งกลไกยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัดว่าอาจเป็นเพื่อการสื่อสารระหว่างเซลล์ (intercellular communication) หรือเป็นการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบ เป็นต้น และนอกจากนี้ ไมโครพาติเคิลยังทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นทั้งทางตรงและทางอ้อมให้เกิดการอักเสบ การแข็งตัวของเลือด หรือการทำงานของหลอดเลือด ซึ่งทั้งกระบวนการอักเสบการแข็งตัวของเลือด ซึ่งรายละเอียดมีดังต่อไปนี้

1. ไมโครพาติเคิลกับกระบวนการอักเสบ (microparticles in inflammation)

การศึกษาในหลอดทดลองพบว่าไมโครพาติเคิลมีคุณสมบัติสามารถกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ (proinflammatory activity) ซึ่งก่อให้เกิดพยาธิสภาพตามมาได้ โดยไมโครพาติเคิลจะเป็นตัวส่งเสริมให้เม็ดเลือดขาวเข้าไปเกาะและกลิ้งไปตามผนังหลอดเลือด (rolling of WBC) และกระตุ้นการหลั่งไซโตไคน์จากเม็ดเลือดขาวกระตุ้นการอักเสบ[23] ในทางอ้อมไมโครพาติเคิลสามารถจะชักนำให้เกิดกระบวนการอักเสบผ่านการกระตุ้นการทำงานของระบบคอมพลีเมนท์ ซึ่งจะกระตุ้นทาง classical pathway โดย C1q จะจับกับไมโครพาติเคิลที่ถูกปลดปล่อยออกมาจาก apoptosis cells[52] C1q ที่จับกับไมโครพาติเคิลจะกระตุ้นคอมพลีเมนท์ทาง classical pathway ดังจะเห็นได้จากพบ C3 และ C4 บนผิวของไมโครพาติเคิล เมื่อทำการทดลองในร่างกายให้ผลที่สอดคล้องกัน คือ ตรวจพบไมโครพาติเคิลที่จับกับ C1q ในพลาสมาซึ่ง ส่วนประกอบของ classical pathway จะชักนำให้เกิดการกระตุ้นการอักเสบได้

ตัวรับที่จำเพาะบน endothelial cell จะมีความจำเพาะต่อการจับของ ligand บนเม็ดเลือดขาว ทำให้เม็ดเลือดขาวเข้ามายึดเกาะบริเวณผนังหลอดเลือดในกระบวนการอักเสบเพื่อจับกินสิ่งแปลกปลอม นอกจากนี้ยังพบว่าไมโครพาติเคิลจากเม็ดเลือดขาว (white blood cell derived microparticles) สามารถพบ ligand ได้บนไมโครพาติเคิลที่หลุดมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาวต้นกำเนิดได้เช่นกัน[3] ไมโครพาติเคิลที่มาจากเกล็ดเลือด (platelet derived microparticles) สามารถกระตุ้นให้เกิดการอักเสบในระยะแรกๆ ได้ Barry และ Coworkers[53] ได้แสดงให้เห็นว่าไมโครพาติเคิลที่หลุดออกมาจากเกล็ดเลือดสามารถขนส่ง arachidonic acid ให้กับ endothelial cell ส่งผลให้สร้าง CD54 หรือ Inter-Cellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-I) บน endothelial cell มากขึ้นซึ่งทำให้โมโนซัยต์ (monocyte) สามารถเข้าไปเกาะได้มากขึ้น เมื่อเม็ดเลือดขาวเกาะที่ผนังของหลอดเลือดแล้วจะแทรกตัวเข้าไปยังชั้น intima จากนั้นจะหลั่งไซโตไคน์ และ growth factor เพื่อส่งเสริมการแทรกตัว (cell migration) และเพิ่มจำนวน (proliferation) ในผนังหลอดเลือด และเกิดการสร้าง plaque ตามมา การที่ endothelial cell หลั่งไซโตไคน์ออกมาแล้วทำให้เม็ดเลือดขาวเข้าไปเกาะบริเวณผนังหลอดเลือดสามารถถูกชักนำโดยไมโครพาติเคิล[54, 55] การศึกษานี้ได้อธิบายถึงปฏิกิริยาระหว่าง endothelial cell กับเม็ดเลือดขาวที่เกิดขึ้นโดยมีไมโครพาติเคิลเป็นตัวชักนำ

ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงของ endothelial cell และการสร้างไมโครพาติเคิลจากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell derived microparticles) พบในโรคมาลาเรีย จากการศึกษาในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมาลาเรียจากประเทศแอฟริกาพบว่าระดับไมโครพาติเคิลจากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดสูงขึ้นในผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงและมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง (cerebral malaria)[56] สอดคล้องกับการตรวจพบระดับ TNF-α ที่สูงขึ้น[57] TNF-α สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างตัวกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดและ ไมโครพาติเคิล

ออกมาจาก endothelial cell ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองได้[23]

2. ไมโครพาติเคิลกับการแข็งตัวของเลือด

จากการทดสอบในหลอดทดลองพบว่าไมโครพาติเคิลสามารถกระตุ้นการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดได้ การทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดไม่เพียงต้องการแต่ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด และ Ca^{2+} หากแต่ยังต้องการผนังเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีฟอสโฟลิปิดซึ่งเป็นประจุลบ ได้แก่ phosphatidylserine อีกด้วย[10,23] phosphatidylserine ร่วมการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดโดยร่วมในการสร้าง tenase (Factor IXa/VIIIa complex) และ prothrombinase complex (Factor Xa/Va complex) ส่งผลให้การแข็งตัวของเลือดเป็นไปอย่างสมบูรณ์ อีกทั้งไมโครพาติเคิลจากเม็ดเลือดขาวที่มี tissue factor สามารถร่วมกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดผ่านทาง extrinsic pathway[58,59] หลักฐานทางหลอดทดลองสนับสนุนว่าไมโครพาติเคิลสามารถกระตุ้นให้เกิด thrombin generation จากข้อมูลข้างต้นเป็นตัวอย่างความสัมพันธ์โดยตรงของไมโครพาติเคิลที่มีต่อระบบการทำงานปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulation system) นอกจากนี้ไมโครพาติเคิลสามารถกระตุ้นให้ระบบการแข็งตัวของเลือดทำงานทางอ้อมอีกด้วย ยกตัวอย่างเช่น P-selectin ที่พบบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์เกล็ดเลือดเมื่อจับกับ P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL1) สามารถกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ tissue factorบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ของโมโนไซต์ได้[60] เช่นเดียวกับคุณสมบัติของ P-selectin ที่อยู่บนผิวของไมโครพาติเคิลที่ถูกสร้างจากเกล็ดเลือดจะไปกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ tissue factor บนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ของโมโนไซต์เช่นกัน

มีรายงานการศึกษาว่าระดับไมโครพาติเคิลสูงขึ้นมากในผู้ป่วยโรคต่างๆ มากมายทั้งในกลุ่มโรคติดเชื้อ และ โรคไม่ติดเชื้อ ในแต่ละโรคที่พบระดับไมโครพาติเคิลสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้น (hypercoagulation) ยกตัวอย่างเช่น idiopathic thrombocytopenia[61] paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[62] lupus anticoagulant[23] acute coronary syndromes[63] และ cancer[64] เป็นต้น มีการศึกษาวิจัยในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยในโรคที่มีภาวะแทรกซ้อนการทำงานของปัจจัยแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้นกว่าปกติ พบว่าเมื่อย้อมดูการติดสีฟลูออเรสเซนต์ต่อโมเลกุล tissue factor บนผิวเซลล์ไมโครพาติเคิล จะพบการปรากฏของ tissue factor อยู่บนผิวไมโครพาติเคิล ซึ่งไม่พบบนไมโครพาติเคิลของคนปกติ เช่น ในเลือดที่เกิดจากการผ่าตัดเปิดหัวใจ[59] เลือดจากผู้ป่วย disseminated intravascular coagulation (DIC)[65] และ น้ำไขข้อจากโรคข้ออักเสบ[66] การแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้น เป็นภาวะหนึ่งที่พบได้ในโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งมีรายงานว่าปริมาณของไมโครพาติเคิลสูงขึ้นสัมพันธ์กับผู้ป่วยมีปัญหาปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทำงานมากผิดปกติ[67, 68] ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าไมโครพาติเคิลอาจจะมีส่วนในกระบวนการก่อให้เกิดการแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้นในโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้ยังพบว่าการสร้างไมโครพาติเคิลลดลงในกลุ่มผู้ป่วยที่มีปัญหาเลือดออกตามระบบ (bleeding disorders) เช่น Glanzmann's thrombasthenia ซึ่งขาด glycoprotein IIb/IIIa บนเกล็ดเลือด[69] นอกจากนี้ Glanzmann's disease จะมีการปลดปล่อยไมโครพาติเคิลลดลงและมีการแสดงออกของreceptor ต่อ factor Va ต่ำลง

การตรวจวัดปริมาณไมโครพาติเคิลด้วยโฟลวไซโตมีทรี (flow cytometry)

จากการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการรายงานว่าไมโครพาติเคิลสามารถตรวจพบได้ในคนปกติในระดับที่ต่ำมาก แต่ระดับไมโครพาติเคิลจะถูกผลิตขึ้นสูงมากในผู้ป่วยโรคต่างๆ ดังนั้นทำให้การตรวจวัดระดับไมโครพาติเคิลในผู้ป่วยโรคต่างๆ ได้มีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นตัวทำนายความรุนแรงของโรค และเข้าใจถึงกลไกการเกิดโรค ปัจจุบันเทคนิคมาตรฐานที่ใช้ในการรายงานปริมาณสุทธิของระดับไมโครพาติเคิลคือ bead-based method (Trucount™ tube) โดยการทำงานของเครื่องโฟลวไซโตมิเตอร์ หลักการคืออาศัยการทำงานของ Trucount™ tube ที่บรรจุเม็ด bead ที่รู้จำนวนที่แน่นอน เมื่อใส่ตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัดลงไปทำให้สามารถคำนวณเซลล์ในตัวอย่างดังกล่าวเทียบกับจำนวน bead ที่บริษัทให้มาได้

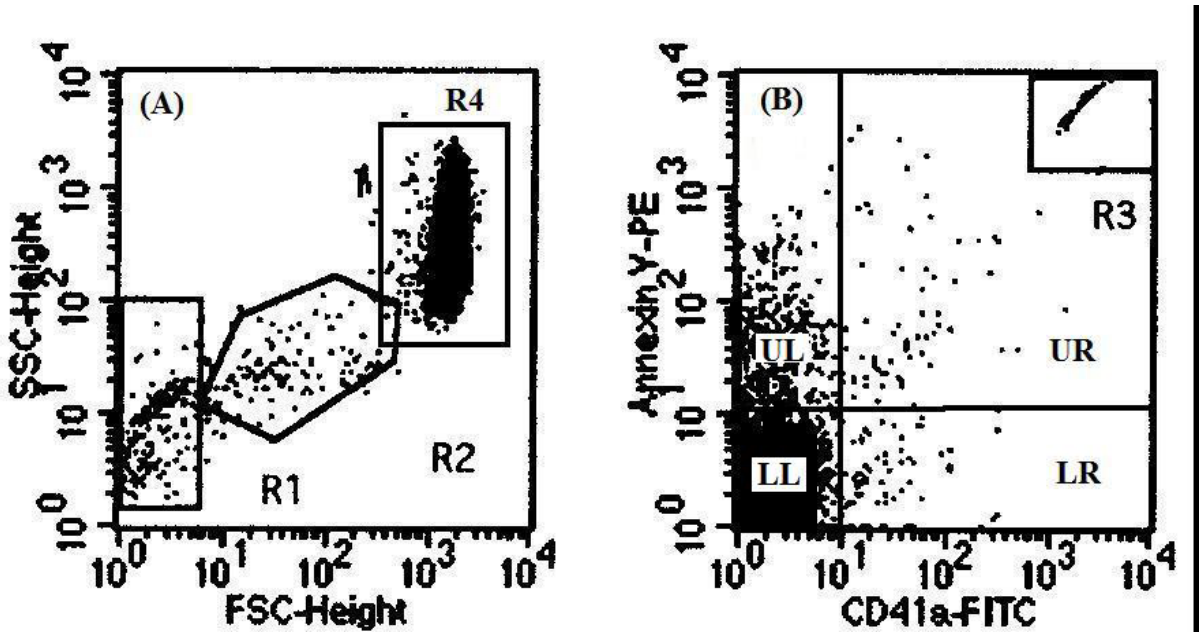
ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการวัดปริมาณไมโครพาติเคิลอาจวัดได้จากตัวอย่างเลือดครบส่วน (whole blood) [25] หรือจากพลาสมา (platelet poor plasma) [5] สารกันเลือดแข็งที่นิยมใช้ในคือ 0.32% trisodium citrate และในการย้อมไมโครพาติเคิล สารที่จับจำเพาะต่อ phosphatidylserine คือ annexin V ซึ่งจับกันโดยอาศัยแคลเซียม (calcium dependent binding) ฉะนั้นบัฟเฟอร์ที่ใช้ใน

สูตรคำนวณหาค่าสุทธิของเซลล์จาก Trucount™ tube =

$$\frac{\text{Number of events in region containing cells X Number of bead count per test}}{\text{Number of events in absolute count bead region X tested volume}}$$

การวัดปริมาณไมโครพาติเคิลจึงต้องมีส่วนผสมของแคลเซียมอยู่ด้วย เรียกบัฟเฟอร์นี้ว่า binding buffer ในตัวอย่างเลือดครบส่วนเมื่อทำการย้อมไมโครพาติเคิลด้วย annexin V แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์จะได้ลักษณะการแสดงผลดังภาพที่ 1 จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป CellQuest™ พบว่าไมโครพาติเคิลจากเกล็ดเลือด (platelet-derived microparticles) เมื่อแยกตามขนาดด้วย forward scatter (FSC) (แกน X) และ size scatter (SSC) (แกน Y) กลุ่มประชากรของไมโครพาติเคิลคือเซลล์ที่ปรากฏอยู่ในช่อง R1 และ R2 ส่วนเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า (FSC สูงกว่า) อยู่ในช่อง R4 ในภาพที่ 1A จากนั้นเซลล์ที่ปรากฏอยู่ในช่อง R1 และ R2 จากภาพที่ 1A จะถูกวิเคราะห์หาจำนวนไมโครพาติเคิลตามภาพที่ 1B ซึ่งย้อมสี annexin V-PE (แกน Y) และ marker สำหรับเกล็ดเลือดคือ anti-CD41a-FITC (แกน X) จากภาพที่ 1B แสดงการวิเคราะห์แบบ two-parameter quadrant analysis พบว่าไมโครพาติเคิลที่ย้อมติดโมโนโคลทั้งสองสีของ anti-CD41a-FITC และ annexin V-PE จะตกอยู่ที่ upper right quadrant (UR) ซึ่งจะถือว่าเซลล์ที่อยู่ในช่อง quadrant นี้คือ ไมโครพาติเคิลจากเกล็ดเลือดทั้งหมด (platelet derived microparticles) ในส่วนของเม็ดบีดจาก Trucount™ tube ซึ่งจะติดสีสว่าง (bright) กว่าทำให้สามารถนับแยกจากไมโครพาติเคิลคือจะปรากฏอยู่ในช่อง R3 นอกจากนี้ก็ยังมีเซลล์ที่ติดเพียงสีเดียวของไม่ว่าจะเป็น anti-CD41a-FITC ในช่อง lower right quadrant (LR) และ annexin V-PE ในช่อง upper left quadrant (LR) จะไม่ถือว่าเป็นไมโครพาติเคิลจากเกล็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ และเซลล์ที่อยู่ในช่อง lower left quadrant (LL) คือเซลล์ที่ย้อมไม่ติดสีใดเลยคือเป็นเศษเซลล์ (cell debris) เพราะฉะนั้นนิยามของไมโครพาติเคิลที่มาจากเกล็ดเลือดคือจะต้องมีขนาดไม่เกิน 1.5 ไมครอนและต้องย้อมติดสีของ annexin V (แสดงว่ามี phosphatidylserine) และ cellular marker ซึ่งในที่นี้คือ CD41a จากเกล็ดเลือด เป็นต้น

เนื่องจากการวัดปริมาณไมโครพาติเคิลจากเลือดครบส่วนต้องทำในทันทีไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้ เพื่อความสะดวกในการวัดปริมาณไมโครพาติเคิลในตัวอย่างเลือดในคราวเดียวกัน จึงได้มีการเตรียมตัวอย่างเลือดให้เป็นพลาสมาแทน โดยทำการปั่นแยกเกล็ดเลือดออก (platelet poor plasma) จากเลือดครบส่วนสองครั้ง ครั้งแรกปั่นเตรียมเป็น platelet poor plasma ที่ความเร็ว



ภาพที่ 1 Flow cytometric analysis ของไมโครพาติเคิลจากเม็ดเลือดแดง (red cell derived microparticles) จากตัวอย่างเลือดครบส่วนของคนปกติ **(รูป A)** แสดงการวิเคราะห์ตามขนาด (forward scatter; FSC) และ granularity (side scatter; SSC) ของเซลล์ ไมโครติเคิลปรากฏอยู่ในช่อง R1 และ R2 แยกจากเม็ดเลือดแดงในช่อง R4 **(รูป B)** แสดงการวิเคราะห์แบบ two-parameter quadrant analysis Upper Right quadrant (UR) คือไมโครพาติเคิลจาก gate R2 และ R1 ที่ย้อมติดสีของ anti-CD41a-FITC และ annexin V-PE Lower Right quadrant (LR) คือเซลล์ที่ย้อมติดเฉพาะ anti-CD41a-FITC Upper Left quadrant (UL) คือเซลล์ที่ย้อมติดเฉพาะ annexin V-PE Lower Left quadrant (LL) คือ เศษเซลล์ (cell debris) ที่ไม่ย้อมติดสี และ ช่อง R3 แสดงกลุ่มเม็ดบีดที่ใช้ในการอ้างอิง (Trucount bead)

รอบ 1,500 g เวลา 15 นาที ตามด้วยการปั่นความเร็วสูงขึ้นเพื่อกำจัดเกล็ดเลือดที่หลงเหลืออยู่ที่ความเร็วรอบ 13,000 g เวลา 2 นาที จากนั้นจะสามารถเก็บตัวอย่างเลือดที่ -30 องศาเซลเซียสไว้เพื่อวิเคราะห์ในคราวเดียวกันได้

สรุป และ ข้อแนะนำในอนาคต

ในอดีตคงไม่มีใครรู้จักไมโครพาติเคิลหรือส่วนของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีขนาดน้อยกว่า 1.5 ไมครอน แต่อาจจะรู้จักในนามของเศษเซลล์หรือ cell debris แต่ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าไมโครพาติเคิลนั้นมีหน้าที่ชัดเจนในด้านกระบวนการแข็งตัวของเลือดและกระบวนการอักเสบ ไมโครพาติเคลสามารถตรวจพบในคนปกติในระดับที่ต่ำมาก แต่ระดับไมโครพาติเคิลจะถูกผลิตขึ้นสูงมากทั้งในผู้ป่วยกลุ่มโรคติดเชื้อ และ โรคไม่ติดเชื้อ ในแต่ละโรคที่พบระดับไมโครพาติเคิลสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้นกว่าปกติ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันทางการแพทย์ยังไม่มีการนำระดับไมโครพาติเคิลหรือการจำแนกชนิดของไมโครพาติเคิลมาใช้ในการประเมินโรครักษาโรค แต่ในอนาคตอาจเป็นไปได้ว่า การตรวจวัดระดับไมโครพาติเคิลในผู้ป่วยโรคต่างๆ อาจจะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นตัวทำนายความรุนแรงของโรคและอาจทำให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดโรค ตลอดจนนำไปสู่การพัฒนาการรักษาในโรคที่มีการผลิตไมโครพาติเคิลที่ผิดปกติโดยเฉพาะในกลุ่มโรคที่มีภาวะแทรกซ้อนจากการมีไมโครพาติเคิลร่วมทำให้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดมีมากกว่าปกติ หรืออาจเป็นไปได้ว่าระดับไมโครพาติเคิลอาจจะถูกนำมาเป็น severity marker ก็เป็นได้ เนื่องในปัจจุบันมีผู้ศึกษาพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดปริมาณไมโครพาติเคิลด้วยเครื่องโฟลวไซโตมิเตอร์ ซึ่งถือว่าเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่มีในโรงพยาบาลทั่วไป การตรวจวัดทำได้ง่ายดังที่กล่าวในข้างต้นทำให้การศึกษาไมโครพาติเคิลน่าจะเป็นไปได้อย่างกว้างขวางในอนาคตอันใกล้

กิตติกรรมประกาศ

อาจารย์ ดร. ดวงดาว นันทโกมล ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนวิจัย กองทุนคณะสหเวชศาสตร์ และ ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชน์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. *Combes V, Coltel N, Alibert M, et al. ABCA1 gene deletion protects against cerebral malaria: potential pathogenic role of microparticles in neuropathology. Am J Pathol 2005;166:295-302.*
2. *Simak J, Gelderman MP, Yu H, Wright V, Baird AE. Circulating endothelial microparticles in acute ischemic stroke: a link to severity, lesion volume and outcome. J Thromb Haemost 2006; 4:1296-302.*
3. *Coltel N, Combes V, Wassmer SC, Chimini G, Grau GE. Cell vesiculation and immunopathology: implications in cerebral malaria. Microbes Infect 2006;8:2305-16.*
4. *Pattanapanyasat K, Gonwong S, Chaichompoo P, et al. Activated platelet-derived microparticles in thalassaemia. Br J Haematol 2007;136:462-71.*
5. *Nantakomol D, Chimma P, Day N, et al. Quantitation of cell-derived micropartilces in plasma using flow-rate based calibration. Southeast Asain Journal of Tropical Medicine and Public Health 2008;39:146-53.*
6. *Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. Hypertension 2006;48:180-6.*
7. *Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A, Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? Eur J Clin Invest 2004;34:392-401.*
8. *Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Bidot CJ, Ahn YS. Endothelial microparticles (EMP) as vascular disease markers. Adv Clin Chem 2005;39:131-57.*
9. *Jung KH, Chu K, Lee ST, et al. Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease. Ann Neurol 2009;66:191-9.*
10. *VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A, Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. Cardiovasc Res 2003;59:277-87.*
11. *Pattanapanyasat K, Noulsri E, Fucharoen S, et al. Flow cytometric quantitation of red blood cell vesicles in thalassemia. Cytometry B Clin Cytom 2004;57:23-31.*
12. *Combes V, Taylor TE, Juhan-Vague I, et al. Circulating endothelial microparticles in malawian children with severe falciparum malaria complicated with coma. JAMA 2004;291:2542-4.*
13. *Martin S, Tesse A, Hugel B, et al. Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression. Circulation 2004;109:1653-9.*
14. *Simak J, Gelderman MP. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. Transfus Med Rev 2006;20:1-26.*
15. *Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, Sugamura K, Ohba K, Matsuzawa Y, 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;54:601-8.*
16. *Feng B, Chen Y, Luo Y, Chen M, Li X, Ni Y. Circulating level of microparticles and their correlation with arterial elasticity and endothelium-dependent dilation in patients with type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis 2010;208:264-9.*
17. *Nomura S, Inami N, Shouzu A, Urase F, Maeda Y. Correlation and association between plasma platelet-, monocyte- and endothelial cell-derived microparticles in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. Platelets 2009;20:406-14.*

18. Dignat-George F, Camoin-Jau L, Sabatier F, et al. Endothelial microparticles: a potential contribution to the thrombotic complications of the antiphospholipid syndrome. Thromb Haemost 2004;91:667-73.
19. Boulanger CM, Amabile N, Guerin AP, et al. In vivo shear stress determines circulating levels of endothelial microparticles in end-stage renal disease. Hypertension 2007;49:902-8.
20. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, et al. Increased production of leukocyte microparticles with enhanced expression of adhesion molecules from activated polymorphonuclear leukocytes in severely injured patients. J Trauma 2003;54:114-9; discussion 9-20.
21. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, et al. Activated polymorphonuclear leukocytes enhance production of leukocyte microparticles with increased adhesion molecules in patients with sepsis. J Trauma 2002;52:443-8.
22. Lok CA, Jebbink J, Nieuwland R, et al. Leukocyte activation and circulating leukocyte-derived microparticles in preeclampsia. Am J Reprod Immunol 2009;61:346-59.
23. Combes V, Simon AC, Grau GE, et al. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. J Clin Invest 1999;104:93-102.
24. Greenwalt TJ. The how and why of exocytic vesicles. Transfusion 2006;46:143-52.
25. Nantakomol D, Imwong M, Soontarawirat I, et al. The absolute counting of red cell-derived microparticles with red cell bead by flow rate based assay. Cytometry B Clin Cytom 2009;76:191-8.
26. Jy W, Horstman LL, Arce M, Ahn YS. Clinical significance of platelet microparticles in autoimmune thrombocytopenias. J Lab Clin Med 1992;119:334-45.
27. Pattanapanyasat K, Noulsri E, Fucharoen S, et al. Flow cytometric quantitation of red blood cell vesicles in thalassemia. Cytometry B Clin Cytometry 2004;57:23-31.
28. Mitsios JV, Vini MP, Stengel D, Ninio E, Tselepis AD. Human platelets secrete the plasma type of platelet-activating factor acetylhydrolase primarily associated with microparticles. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26:1907-13.
29. Nomura S, Komiyama Y, Miyake T, et al. Amyloid beta-protein precursor-rich platelet microparticles in thrombotic disease. Thromb Haemost 1994;72:519-22.
30. Pasquet JM, Toti F, Nurden AT, Dachary-Prigent J. Procoagulant activity and active calpain in platelet-derived microparticles. Thromb Res 1996;82:509-22.
31. Pasquet JM, Dachary-Prigent J, Nurden AT. Calcium influx is a determining factor of calpain activation and microparticle formation in platelets. Eur J Biochem 1996;239:647-54.
32. Barry OP, Kazanietz MG, Pratico D, FitzGerald GA. Arachidonic acid in platelet microparticles up-regulates cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin formation via a protein kinase C/mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. J Biol Chem 1999; 274:7545-56.
33. Ramacciotti E, Hawley AE, Wrobleski SK, et al. Proteomics of microparticles after deep venous thrombosis. Thromb Res 2010;125:e269-74.
34. Garcia BA, Smalley DM, Cho H, Shabanowitz J, Ley K, Hunt DF. The platelet microparticle proteome. J Proteome Res 2005;4:1516-21.
35. Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. Cell Mol Life Sci 2005;62: 971-88.
36. Chaurio RA, Janko C, Munoz LE, Frey B, Herrmann M, Gaipl US. Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation. Molecules 2009;14:4892-914.
37. Zwaal RF, Schroit AJ. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. Blood 1997;89:1121-32.
38. Tilly RH, Senden JM, Comfurius P, Bevers EM, Zwaal RF. Increased aminophospholipid translocase activity in human platelets during secretion. Biochim Biophys Acta 1990;1029:188-90.
39. Beleznay Z, Zachowski A, Devaux PF, Navazo MP, Ott P. ATP-dependent aminophospholipid translocation in erythrocyte vesicles: stoichiometry of transport. Biochemistry 1993;32:3146-52.
40. Andrick C, Broring K, Deuticke B, Haest CW. Fast translocation of phosphatidylcholine to the outer membrane leaflet after its synthesis at the inner membrane surface in human erythrocytes. Biochim Biophys Acta 1991;1064:235-41.
41. Bitbol M, Devaux PF. Measurement of Outward Translocation of Phospholipids across Human Erythrocyte Membrane. Proc Natl Acad Sci USA 1988;85:6783-7.
42. Williamson P, Bevers EM, Smeets EF, Comfurius P, Schlegel RA, Zwaal RF. Continuous analysis of the mechanism of activated transbilayer lipid movement in platelets. Biochemistry 1995;34:10448-55.
43. Bevers EM, Galli M. Beta 2-glycoprotein I for binding of anticardiolipin antibodies to cardiolipin. Lancet 1990;336:952-3.
44. Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. Biochim Biophys Acta 2004;1636:119-28.
45. Toti P, Balestri P, Cano M, Galluzzi P, Megha T, Farnetani MA, et al. Celiac disease with cerebral calcium and silica deposits: x-ray spectroscopic findings, an autopsy study. Neurology 1996;46:1088-92.
46. Bevers EM, Wiedmer T, Comfurius P, et al. Defective Ca(2+)-induced microvesiculation and deficient expression of procoagulant activity in erythrocytes from a patient with a bleeding disorder: a study of the red blood cells of Scott syndrome. Blood 1992;79:380-8.
47. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. Blood Rev 2007;21:157-71.
48. Jy W, Jimenez JJ, Mauro LM, et al. Endothelial microparticles induce formation of platelet aggregates via a von Willebrand

factor/ristocetin dependent pathway, rendering them resistant to dissociation. J Thromb Haemost 2005;3:1301-8.

49. *Simak J, Holada K, Risitano AM, Zivny JH, Young NS, Vostal JG. Elevated circulating endothelial membrane microparticles in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol 2004;125:804-13.*
50. *Simak J, Holada K, D'Agnillo F, Janota J, Vostal JG. Cellular prion protein is expressed on endothelial cells and is released during apoptosis on membrane microparticles found in human plasma. Transfusion 2002;42:334-42.*
51. *Mack M, Kleinschmidt A, Bruhl H, et al. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: a mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. Nat Med 2000;6:769-75.*
52. *Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR. Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. Eur J Immunol 2002;32:1726-36.*
53. *Barry OP, Pratico D, Savani RC, FitzGerald GA. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. J Clin Invest 1998;102:136-44.*
54. *Mesri M, Altieri DC. Endothelial cell activation by leukocyte microparticles. J Immunol 1998;161:4382-7.*
55. *Nomura S, Inami N, Iwasaka T, Liu Y. Platelet activation markers, microparticles and soluble adhesion molecules are elevated in patients with arteriosclerosis obliterans: therapeutic effects by cilostazol and potentiation by dipyridamole. Platelets 2004;15:167-72.*
56. *Combes V, Rosenkranz AR, Redard M, et al. Pathogenic role of P-selectin in experimental cerebral malaria: importance of the endothelial compartment. Am J Pathol 2004;164:781-6.*
57. *Lou J, Kubota H, Hotokezaka S, Ludwig FJ, Manske PR. In vivo gene transfer and overexpression of focal adhesion kinase (pp125 FAK) mediated by recombinant adenovirus-induced tendon adhesion formation and epitenon cell change. J Orthop Res 1997;15:911-8.*
58. *Gilbert G, Sims P, Wiedmer T, Furie B, Furie B, Shattil S. Platelet-derived microparticles express high affinity receptors for factor VIII. J Biol Chem 1991;266:17261-8.*
59. *Nieuwland R, Berckmans RJ, Rotteveel-Eijkman RC, et al. Cell-Derived Microparticles Generated in Patients During Cardiopulmonary Bypass Are Highly Procoagulant. Circulation 1997;96:3534-41.*
60. *Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91:8767-71.*
61. *Nomura S, Yanabu M, Soga T, et al. Analysis of idiopathic thrombocytopenic purpura patients with antiglycoprotein IIb/IIIa or Ib autoantibodies. Acta Haematol 1991;86:25-30.*
62. *Hugel B, Socie G, Vu T, et al. Elevated Levels of Circulating Procoagulant Microparticles in Patients With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Aplastic Anemia. Blood 1999;93:3451-6.*
63. *Mallat Z, Hugel B, Ohan J, Leseche G, Freyssinet J-M, Tedgui A. Shed Membrane Microparticles With Procoagulant Potential in Human Atherosclerotic Plaques : A Role for Apoptosis in Plaque Thrombogenicity. Circulation 1999;99:348-53.*
64. *Langer F, Spath B, Haubold K, et al. Tissue factor procoagulant activity of plasma microparticles in patients with cancer-associated disseminated intravascular coagulation. Ann Hematol 2008;87:451-7.*
65. *Nieuwland R, Berckmans RJ, McGregor S, et al. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. Blood 2000;95:930-5.*
66. *Berckmans RJ, Nieuwland R, Tak PP, et al. Cell-derived microparticles in synovial fluid from inflamed arthritic joints support coagulation exclusively via a factor VII-dependent mechanism. Arthritis Rheum 2002;46:2857-66.*
67. *Blann A, Shantsila E, Shantsila A. Microparticles and arterial disease. Semin Thromb Hemost 2009;35:488-96.*
68. *Dursun I, Poyrazoglu HM, Gunduz Z, et al. The relationship between circulating endothelial microparticles and arterial stiffness and atherosclerosis in children with chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant 2009;24:2511-8.*
69. *Gemmell C, Sefton M, Yeo E. Platelet-derived microparticle formation involves glycoprotein IIb- IIIa. Inhibition by RGDS and a Glanzmann's thrombasthenia defect. J Biol Chem 1993;268:14586-9.*