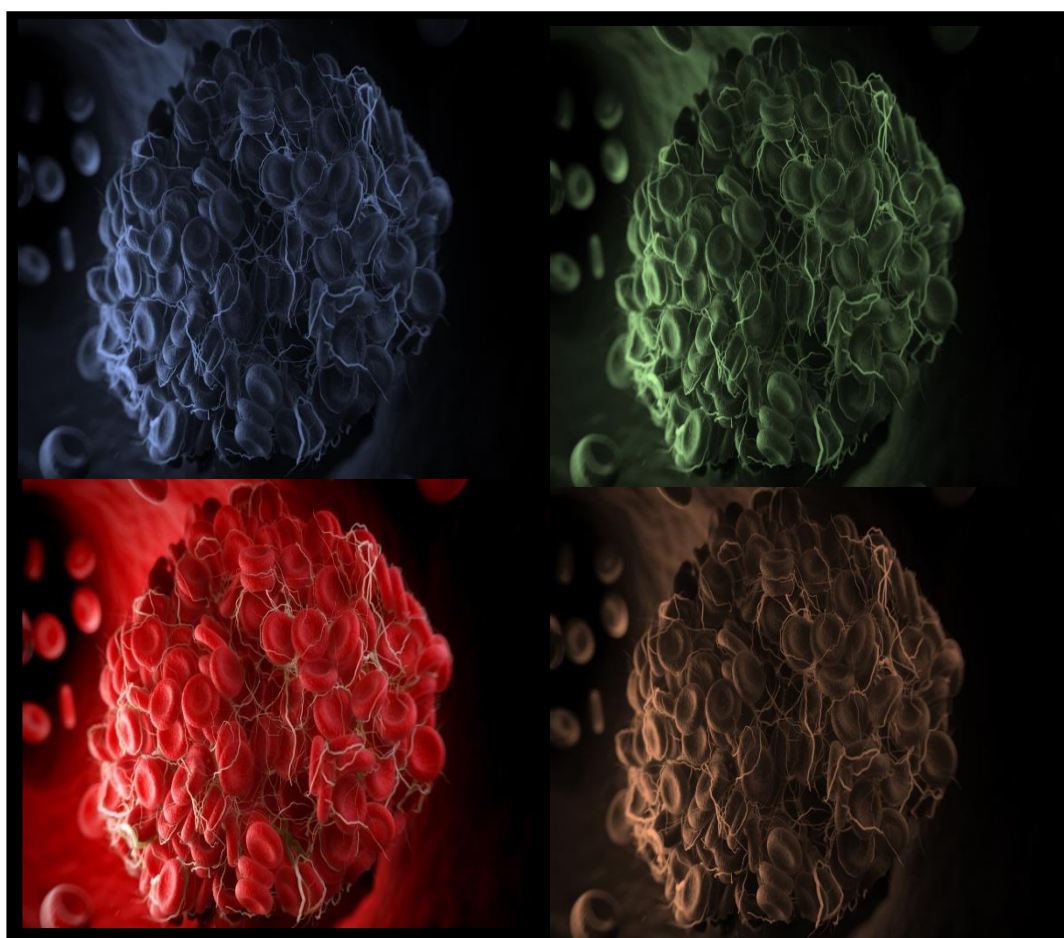




**ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ
ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΝΕΞΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑ
ΗΠΑΤΟΣ**



**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ :
ΠΟΥΛΕΡΕΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2018

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	VII
2. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ - ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ.....	1
2.1 Σχηματισμός Αιμοπεταλιακού Θρόμβου	1
2.2 Καταρράκτης της Πήξης και Διάδοση του Θρόμβου	5
2.2.1 Ενδογενής οδός	6
2.2.2 Εξωγενής οδός.....	7
2.2.3 Κοινή οδός.....	8
2.3 Μηχανισμοί Ελέγχου και Τερματισμός της Αιμόστασης.....	9
2.4 Διάλυση του Θρόμβου και Ινοδύλυση	10
3. ΗΠΑΡ	13
3.1 Ήπαρ και Αιμόσταση.....	14
3.2 Καρκίνος του Ήπατος.....	15
3.2.1 Δείκτες όρου για την διάγνωση του HCC	15
3.2.2 Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και Επιδημιολογία.....	16
3.2.3 Καρκίνος Ήπατος και Σταδιοποίησή του	17
4. ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ	21
4.1 Δημιουργία Μικροκυστιδίων	22
4.1.1 Φαινόμενο flip-flop και παραγωγή Μικροκυστιδίων	23
4.2 Ταξινόμηση και Ονοματολογία.....	27
4.3 Δομή των εξωκυττάρων κυστιδίων	29
4.3.1 Δομή και Συστατικά των Αιμοπεταλιακών Μικροκυστιδίων.....	31
5. ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΚΑΙ ΠΗΞΗ	32
5.1 Προ-πηκτική λειτουργία Μικροκυστιδίων	34
5.1.1 Φωσφατιδυλοσερίνη PS και Μικροκυστίδια	34
5.1.2 Ιστικός Παράγοντας και Μικροκυστίδια	35
5.2 Σχέσεις Αιμόστασης, Θρόμβωσης και Μικροκυστιδίων	37

5.3	Κλινικές Περιπτώσεις και Μικροκυστίδια.....	38
6.	ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΚΑΙ Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΙΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ .	42
6.1	Συσχετισμοί Μικροκυστιδίων στην ανάπτυξη του Όγκου ..	42
6.1.1	Μικροκυστίδια και Μετάσταση του Όγκου	44
6.2	Έμμεσες επιδράσεις Μικροκυστιδίων και Κακοήθειας	48
6.3	Αιμοπετάλια και microRNAs	48
6.3.1	Κλινική Σημασία Αιμοπεταλιακών Μικροκυστιδίων και MicroRNAs	49
7.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	51

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ήπαρ είναι το κύριο όργανο παραγωγής συστατικών που σχετίζονται με την διαδικασία της πήξης. Κατ' επέκταση μια κακοήθεια στο συγκεκριμένο όργανο θα είχε σοβαρές επιπτώσεις στην παθοφυσιολογία της πήξης. Μια ηπατική κακοήθεια έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει και προκαλεί διαταραχές στην αιμόσταση καθώς ακόμα και ότι η δράση των αιμοπεταλίων παίζει σημαντικό ρόλο στις κακοήθειες. Το αίμα περιέχει μικροκυστίδια τα οποία προέρχονται από πληθώρα κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των αιμοπεταλίων, των μονοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων . Επίσης και τα καρκινικά κύτταρα με την σειρά τους απελευθερώνουν μικροκυστίδια στην κυκλοφορία . Τα μικροκυστίδια σχηματίζονται από μεμβρανικές πτυχές οι οποίες απελευθερώνονται από την κυτταρική μεμβράνη μέσω πρωτεολυτικών διαδικασιών. Όλα τα μικροκυστίδια έχουν προπηκτική δράση επειδή προσφέρουν επιπλέον κυτταρική επιφάνεια για την δημιουργία συστατικών του καταρράκτη της πήξης. Όπως είναι γνωστό, τα αιμοπετάλια έχουν πολύ σημαντική θέση στην αιμοσταστική διαδικασία, ενώ ακόμα παίρνουν μέρος και σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες όπως η αγγειογένεση και η μετάσταση των όγκων. Τα μικροσωματίδια είναι κυστίδια της πλασματικής μεμβράνης που δημιουργούνται, είτε κατά την ενεργοποίηση των κυττάρων από τα οποία προέρχονται, είτε από την απόπτωση αυτών. Τα μικροκυστίδια που προέρχονται από τα αιμοπετάλια, τα οποία αποτελούν και την πλειοψηφία των μικροκυστιδίων στον άνθρωπο, εκφράζουν και μπορούν να μεταφέρουν λειτουργικούς υποδοχείς, να διεγείρουν την απελευθέρωση κυτοκινών, να ενεργοποιούν ενδοκυτταρικές διαδικασίες, να προάγουν την αγγειογένεση και τέλος ακόμα και να συμβάλουν στην μετάσταση κακοηθειών. Η παρούσα εργασία θα αναφερθεί στον τρόπο δημιουργίας των μικροκυστιδίων καθώς και στην επιδρασή τους στις αιμοστατικές διαδικασίες και στα καρκινικά κύτταρα.

ABSTRACT

Liver is the main organ that produces ingredients associated with the coagulation. For that reason a malignancy in the particular organ would have serious implications for the pathophysiology of coagulation. Hepatocellular carcinoma has been proven to cause haemostasis disorders and also platelets play an important role in heparocellular carcinoma. Blood contains microparticles which derive from various cells, including platelets, monocytes and endothelial cells. In addition, cancer cells in turn release microparticles in the circulation. The microparticles are formed by membrane pleats which are released from the cell membrane via proteolytic procedures. All microparticles have a procoagulant effect because they provide additional cell surface for the formation of coagulation cascade components. As it is well known, platelets have a significant role in the hemostatic process, and they are also involved in various biological processes such as angiogenesis and tumor metastasis. The microparticles are vesicles of the cell membrane created either by the activation of the cells from which they originate or by their apoptosis. Platelet-derived microparticles, which form the majority of microparticles in humans, express and are able to transfer functional receptors, stimulate cytokine release, activate intracellular processes, promote angiogenesis, and even contribute to tumor metastasis. This paper discusses the formation of microparticles and their impact on hemostatic processes and cancer cells.

2. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ - ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

Η αιμόσταση είναι η διαδικασία σχηματισμού θρόμβων στο σημείο βλάβης του αγγείου. Όταν διαταραχθεί το τοίχωμα ενός αιμοφόρου αγγείου, η αιμοστατική ανταπόκριση πρέπει να είναι γρήγορη, εντοπισμένη και προσεκτικά ρυθμισμένη. Μη φυσιολογική αιμορραγία και θρόμβωση μπορεί να συμβεί λόγω έλλειψης ορισμένων συστατικών που χρησιμοποιούνται κατά τη διαδικασία της πήξης ή λόγω δυσλειτουργιών των συστατικών αυτών.

Αν και η πήξη είναι μια διαδικασία δυναμική και ακραίως πολυπαραγοντική μπορούμε να την χωρίσουμε σε διάφορες φάσεις:

1. Ενδοθηλιακός τραυματισμός και σχηματισμός του αιμοπεταλιακού θρόμβου.
2. Ενίσχυση της διαδικασίας πήξης από τον καταρράκτη της πήξης.
3. Τερματισμός της διαδικασίας της πήξης από αντιθρομβωτικούς μηχανισμούς.
4. Απομάκρυνση του θρόμβου μέσω ινοδολυτικών διαδικασιών.

2.1 Σχηματισμός Αιμοπεταλιακού Θρόμβου

Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται στο σημείο τραυματισμού του αγγείου με σκοπό τον σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου, γεγονός που αποτελεί την άμεση ανταπόκριση του οργανισμού για την διακοπή της αιμορραγίας. Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου οδηγεί στη έκθεση του κυκλοφορούντος αίματος στα υποενδοθηλιακά στοιχεία, από τα οποία φυσιολογικά προστατευόταν και στην περαιτέρω ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με σκοπό την πρόσληψη περισσότερων αιμοπεταλίων στο σημείο του τραυματισμού, καθώς και άλλων κυττάρων του αίματος και προπηκτικών παραγόντων.

Η λειτουργική ανταπόκριση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων αποτελείται από τέσσερις διαφορετικές φάσεις.

- **Προσκόλληση αιμοπεταλίων.** Μετά την ενεργοποίηση τα αιμοπετάλια υφίστανται σημαντικές αλλαγές σχήματος, σχηματίζοντας επιμήκη ψευδοπόδια, τα οποία αυξάνουν την ικανότητά τους για συγκόλληση. Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων διεγείρεται κυρίως από την ένωση του συμπλόκου GPIIb/IX/V με

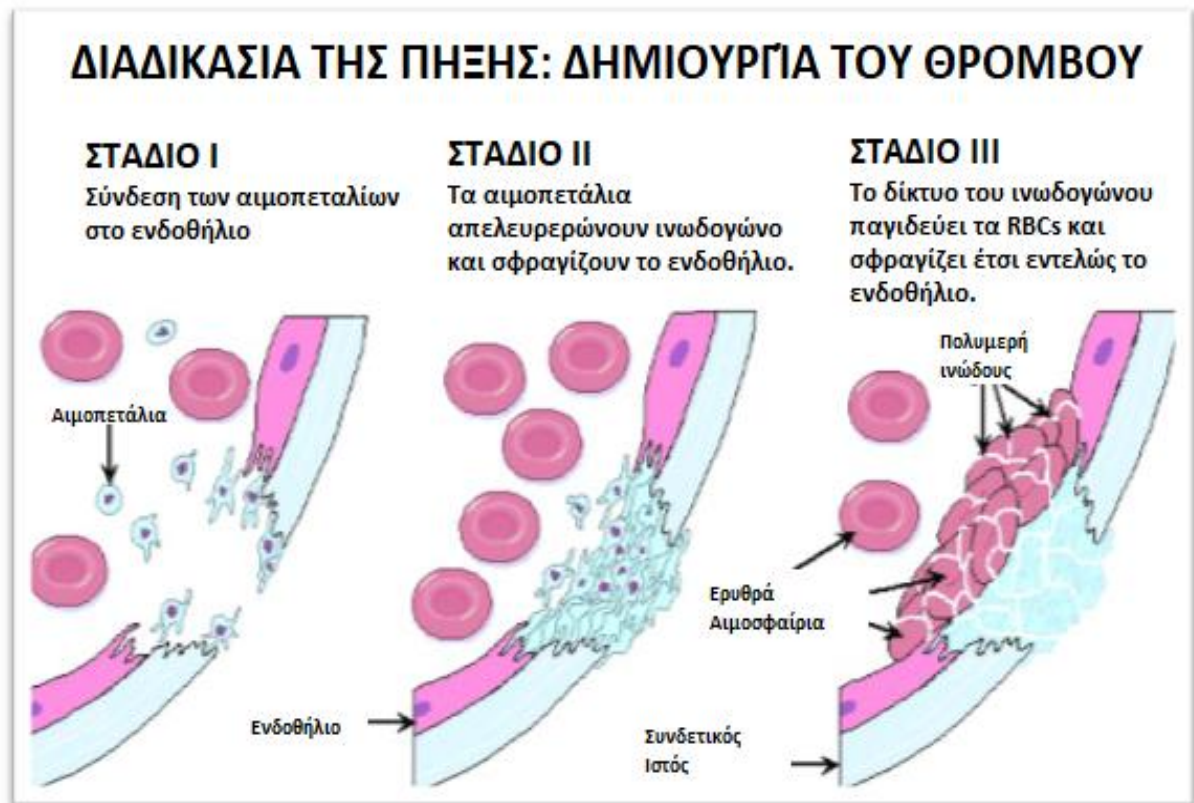
τον παράγοντα VonWillebrand στον υπό-ενδοθηλιακό χώρο των κυττάρων^[1]. Ανεπάρκειες είτε σε κάποιο από τα στοιχεία του συμπλόκου είτε στον παράγοντα VonWillebrand οδηγεί σε συγγενείς αιμορραγικές διαταραχές όπως, η νόσος Bernard-Soulier και η νόσος VonWillebrand^[2]. Επιπλέον υπάρχουν και άλλες αλληλεπιδράσεις που συμβάλουν στην αιμοπεταλιακή συγκόλληση. Ένα παράδειγμα αυτών είναι η σύνδεση του υποδοχέα κολλαγόνου των αιμοπεταλίων GPIa/IIa με τα ινίδια κολλαγόνου που βρίσκονται στα εξωκυτταρικό χώρο^[3].

- **Συσσωμάτωση αιμοπεταλίων.** Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων έχει ως αποτέλεσμα τόσο την έκθεση όσο και την διαμόρφωση των υποδοχέων GPIIb/IIIa στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, οδηγώντας στην σύνδεση τόσο του ακινητοποιημένου παράγοντα VonWillebrand όσο και του ινωδογόνου. ^[4-6] Το GPIIb/IIIa αποτελεί επίσης μέλος της υπεροικογένειας των ιντεγκρίνων. Το GPIIb/IIIa σύμπλοκο είναι το πιο άφθονο σύμπλοκο στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, με περίπου 80.000 σύμπλοκα ανά αιμοπετάλιο. Ωστόσο, δε συνδέεται με τον ινωδογόνο ως έχει αλλά μετά την διέγερση των αιμοπεταλίων, υφίσταται μεταβολή της διαμόρφωσής του και μετατρέπεται από υποδοχέα χαμηλής συγγένειας με το ινωδογόνο σε υποδοχέα υψηλής συγγένειας με το ινωδογόνο, μια διαδικασία που αναφέρεται ως “insideout” σηματοδότηση. Επιπλέον στην μεσολάβηση της αιμοπεταλιακής συσσωμάτωσης, όταν το σύμπλοκο GPIIb/IIIa συνδέεται με τον ακινητοποιημένο VonWillebrand, το κυτοσολικό τμήμα του ενεργοποιημένου συμπλόκου GPIIb/IIIa συνδέεται με τον κυτταροσκελετό των αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα την εξάπλωση των αιμοπεταλίων και την συστολή του θρόμβου, φαινόμενο το οποίο ονομάζεται “outside-in” ιντεγκρινική σηματοδότηση. Έτσι το σύμπλοκο GPIIb/IIIa συνδέει με έναν αμφίδρομο τρόπο τις αλληλεπιδράσεις υποδοχέα-συνδέτη, που εμφανίζονται στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης, με τα κυτοσολικά συμβάντα.^[7,8] Η σημασία του συμπλόκου GPIIb/IIIa απεικονίζεται από τη διαταραχή αιμορραγίας στην θρομβασθένεια Glanzmann, η οποία χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις στο γονίδιο είτε για της άλφα IIb είτε της υπομονάδας βήτα-3, καθώς και από την κλινική χρησιμότητα των ανταγωνιστών GPIIb/IIIa στην θεραπεία της στεφανιαίας νόσου. ^[9]

- **Έκκριση αιμοπεταλίων.** Τα αιμοπετάλια περιέχουν δύο ειδών κοκκία, τα άλφα κοκκία και τα πυκνά κοκκία. Τα άλφα κοκκία περιέχουν πολλές πρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένων, του ινωδογόνου, του παράγοντα VonWillebrand, της θρομβοσπονδίνης, τον αιμοπεταλιακό αυξητικό παράγοντα, τον αιμοπεταλιακό παράγοντα 4 (PF4) και την P-σελεκτίνη. Τα πυκνά κοκκία περιέχουν ADP, ATP, ιονισμένο ασβέστιο, ισταμίνη και σεροτονίνη. Τα αιμοπετάλια εκκρίνουν μια ποικιλία ουσιών από τα κοκκία τους κατά την διέγερση των κυττάρων. Το ADP και η σεροτονίνη διεγείρουν και προσλαμβάνουν επιπλέον αιμοπετάλια.^[10] Η σεροτονίνη που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια συνήθως προκαλεί αγγειοδιαστολή ωστόσο παρουσία κατεστραμμένου ή τραυματισμένου ενδοθηλίου έχει παρατηρηθεί ότι η ίδια ουσία προκαλεί αγγειοσυστολή. Επιπλέον τα ενεργοποιημένα με ADP αιμοπετάλια αυξάνουν την επιφανειακή έκφραση του ενδοκυτταρικού μορίου προσκόλλησης(ICAM) στα ενδοθηλιακά κύτταρα.^[11] Η ινονεκτίνη και η θρομβοσπονδίνη είναι συγκολλητικές πρωτεΐνες οι οποίες μπορούν να ενισχύουν και σταθεροποιούν τα συσσωματώματα των αιμοπεταλίων. Το ινωδογόνο παράγεται από τα άλφα κοκκία τα οποία αποτελούν πηγή ινωδογόνου σε θέσεις ενδοθηλιακής βλάβης, εκτός από αυτήν που υπάρχει στο πλάσμα.^[12] Μια άλλη ουσία είναι η θρομβοξάνη A2. Η θρομβοξάνη A2 είναι μια ουσία που μεταβολίζει την προσταγλανδίνη προάγοντας την αγγειοσυστολή και την περαιτέρω αιμοπεταλιακή συσσώρευση. Οι αυξητικοί παράγοντες, όπως ο PDGF έχουν ισχυρή μιτογόνο δράση στα κύτταρα του λείων μυών. Η απελευθέρωση του PDGF στο σημείο του τραυματισμού προκαλεί την φυσική αποκατάσταση του ιστού. Η απελευθέρωση της ισομεράσης θειόλης και της πρωτεϊνικής δισουλφιδικής ισομεράσης (PDI) από τα αιμοπετάλια και τα τραυματισμένα κύτταρα του τοιχώματος του αγγείου χρησιμεύει στην ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και στην ενίσχυση της δημιουργίας ινώδους και του σχηματισμού θρόμβων σε περιοχές αγγειακής βλάβης ^[13,14].

Προπηκτική δράση. Η προπηκτική δράση των αιμοπεταλίων είναι μια σημαντική πτυχή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και περιλαμβάνει και την έκθεση στα προπηκτικά φωσφολιπίδια αλλά και την επακόλουθη συναρμολόγηση των ενζυμικών συμπλόκων στον καταρράκτη της πήξης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων.^[15] Τα

συγκεκριμένα σύμπλοκα είναι η επιβεβαίωση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της ενεργοποίησης του καταρράκτη της πήξης.



ΕΙΚΟΝΑ 1: ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟ ΘΡΟΜΒΟΥ. (Πηγή: <http://www.wonderwhizkids.com/>)

2.2 Καταρράκτης της Πήξης και Διάδοση του Θρόμβου

Το κεντρικό χαρακτηριστικό του καταρράκτη της πήξης είναι η διαδοχική ενεργοποίηση μια σειράς από προένζυμα και αδρανών πρόδρομων πρωτεϊνών, σε ενεργά ένζυμα με αποτέλεσμα την σταδιακή ενίσχυση της απόκρισης. Ένα παράδειγμα της παραπάνω διαδικασίας είναι η δημιουργία ενός μικρού αριθμού μορίων του ενεργοποιημένου παράγοντα VII τα οποία ενεργοποιούν πολλά μόρια του παράγοντα X, τα οποία με την σειρά τους δημιουργούν ακόμα μεγαλύτερους αριθμούς μορίων θρομβίνης τα οποία μετατρέπουν στο τέλος το ινωδογόνο σε ινώδες. Η λειτουργία των δραστικών ενζύμων διευκολύνεται αισθητά από τον σχηματισμό μακρομοριακών συμπλόκων όπως η δεκάση, η οποία ενεργοποιεί τον παράγοντα X και την προθρομβινάση, η οποία με την σειρά της παράγει την θρομβίνη μέσω της προθρομβίνης.

Όλες οι προπηκτικές ουσίες συντίθενται στο ήπαρ εκτός από τον παράγοντα von Willebrand (VWF), ο οποίος συντίθεται σε μεγακαρυοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα και τον παράγοντα VIII, ο οποίος παράγεται σε ενδοθηλιακά κύτταρα στο ήπαρ καθώς και σε άλλους ιστούς όπως λεμφικά και νεφρικά σπειράματα ^[16-18]. Παραδοσιακά ο καταρράκτης της πήξης απεικονίζεται, αποτελούμενος από μια ενδογενή και μια εξωγενή οδό. Αυτή η προοπτική της πήξης δεν είναι και η πιο ρεαλιστική, παρόλα αυτά είναι πολύ χρήσιμη για την ερμηνεία των invitro δοκιμασιών της πήξης.

Έχει πλέον διαπιστωθεί ότι η παραγωγή ή η έκθεση του ιστικού παράγοντα στο σημείο βλάβης του ιστού και η αλληλεπίδρασή του με τον ενεργοποιημένο παράγοντα VII είναι το πρωταρχικό γεγονός έναρξης της διαδικασίας της πήξης.^[19] Η μικρή αρχική ποσότητα θρομβίνης που παράγεται στην συνέχεια, ενεργοποιεί τον παράγοντα IX με έναν τρόπο ανάδρασης, οδηγώντας στην ενίσχυσή της παραγωγής θρομβίνης. Οι τυποποιημένες εξετάσεις της πήξης, οι οποίες συνήθως ανιχνεύουν τον αρχικό σχηματισμό του ινώδους, μετρούν κατά κύριο λόγο την αρχική φάση της πήξης και όχι την διαδικασία διάδοσής της. Η φάση εκκίνησης ενεργοποιείται κυρίως από την ενεργοποίηση του παράγοντα X μέσω του συμπλόκου του ενεργοποιημένου παράγοντα VII και του ιστικού παράγοντα, δημιουργώντας μια μικρή ποσότητα θρομβίνης, η οποία ενεργοποιεί τον παράγοντα V, VIII, XI και τα αιμοπετάλια, εκθέτοντας ανιονικά

φωσφολιπίδια στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων για να μπορέσουν να στηρίξουν με την σειρά τους την δημιουργία των διαφόρων ενζυμικών συμπλόκων (ενδογενής δεκάση και προθρομβινάση).^[20] Έτσι μια μικρή αρχική ποσότητα θρομβίνης εκκινεί τον καταράκτη της πήξης και ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια τα οποία ύστερα ενισχύουν πολλαπλασιαστικά την παραγωγή θρομβίνης. Τουλάχιστον δύο τύποι κυττάρων παίζουν ρόλο στις αρχικές φάσεις δημιουργίας θρομβίνης και είναι οι εξής:

1. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια στον αρχικό θρόμβο των αιμοπεταλίων που προσκολλώνται στο ενδοθήλιο παρέχουν μια φωσφολιπιδική επιφάνεια η οποία προάγει την δημιουργία ενζυμικών συμπλόκων που συναντάμε στον καταράκτη της πήξης.
2. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο σημείο του τραυματισμού παρέχουν μια θέση σύνδεσης για τους παράγοντες της πήξης και άλλες προπηκτικές διαδικασίες.

2.2.1 Ενδογενής οδός

Η αρχική φάση της ενδογενούς οδού της πήξης αποτελείται από διάφορες πρωτεΐνες πλάσματος συμπεριλαμβανομένων του παράγοντα XII, της προκαλικρεΐνης, και του κινινογόνου υψηλού μοριακού βάρους. Αυτοί οι παράγοντες ενεργοποιούνται με την επαφή τους σε μια αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, διαδικασία που δίνει στην ενδογενή οδό το όνομα “οδός ενεργοποίησης μέσω επαφής”. Η επαφή αυτή με την αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια οδηγεί στην ενεργοποίηση του παράγοντα XII, ο οποίος σε συνδυασμό με το κινινογόνο υψηλού μοριακού βάρους (HMWK) ενεργοποιεί τον παράγοντα XI, ο οποίος με την σειρά του ενεργοποιεί τον παράγοντα IX. Στην συνέχεια ο παράγοντας IX δημιουργώντας ένα σύμπλοκο με τον ενεργοποιημένο παράγοντα VIII(ενδογενή-δεκάση) ενεργοποιεί τον παράγοντα X. Ο παράγοντας VIII ενεργοποιείται από τον ενεργοποιημένο παράγοντα X καθώς και από την θρομβίνη.^[21,22]

Επομένως, υπάρχει μια σταδιακή αύξηση του ενεργοποιημένου παράγοντα VIII όσο αυξάνεται η παραγωγή του ενεργοποιημένου παράγοντα X και της θρομβίνης. Η θρομβίνη ακόμα αυξάνει την δημιουργία του παράγοντα IX μέσω της ενεργοποίησης του παράγοντα XI.^[23-26] Ο παράγοντας XIIa με την σειρά του μετατρέπει την προκαλικρεΐνη πλάσματος σε καλλικρεΐνη πλάσματος, η οποία απελευθερώνει την βραδυκίνη από

τοΗΜWK. Η βραδυκινίνη είναι ένα μείζον φλεγμονώδες πεπτίδιο το οποίο επάγει τον πόνο και την αγγειοδιαστολή.

2.2.2 Εξωγενής οδός

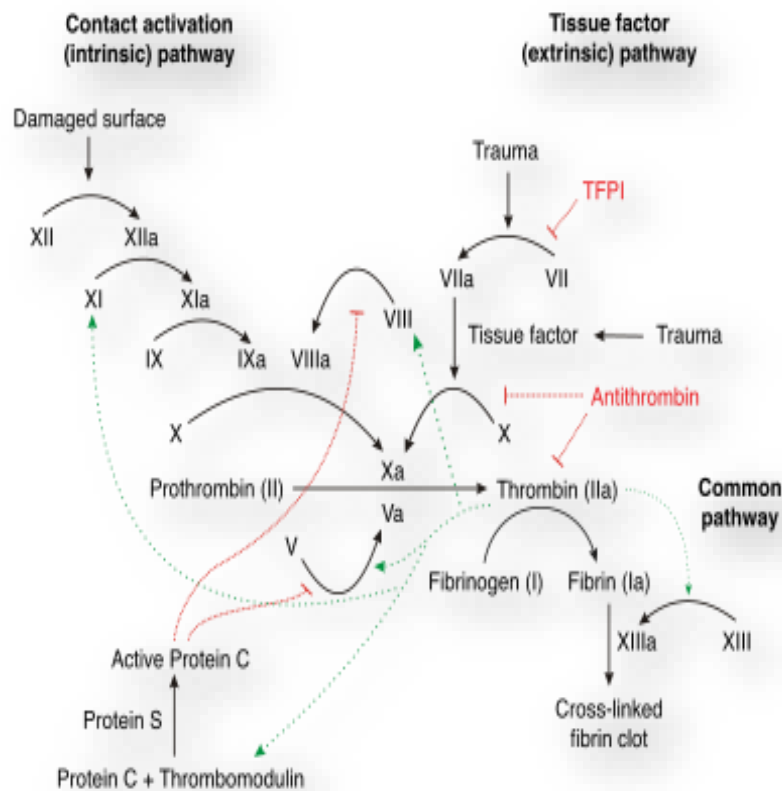
Η βλάβη του κυτταρικού τοιχώματος οδηγεί στην έκφραση του ιστικού παράγοντα, μια γλυκοπρωτεϊνικής μεμβράνης.^[27]Ο ιστικός παράγοντας δεν εκφράζεται φυσιολογικά σε ενδοθηλιακά κύτταρα ή μονοκύτταρα αλλά εκφράζεται σε επιφάνειες του δέρματος, οργάνων καθώς και κακοήθη κύτταρα. Φυσιολογικά ο ιστικός παράγοντας εμφανίζεται στην κυκλοφορία μόνο μετά από έναν τραυματισμό του αγγείου.^[28]Η πλειονότητα του ιστικού παράγοντα βρίσκεται σε ανενεργή μορφή. Ύστερα από κυτταρική λύση αλλά και *in vitro* μέσω διέγερσης με ινοφόρο ασβέστιο, ο ιστικός παράγοντας ενεργοποιείται. Στο αίμα κυκλοφορεί συνδεδεμένος στην μεμβράνη μικροκυστιδίων καθώς και σε διαλυτή μορφή.^[29,30] Αυτά τα μικροκυστίδια προερχόμενα από μονοκύτταρα και μακροφάγα είναι ικανά να συντήκονται μεταξύ τους και να ξεκινούν την διαδικασία της πήξης στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια.^[31]

Ο ιστικός παράγοντας χρησιμεύει ως συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση του παράγοντα VII. Το σύμπλοκο ιστικού παράγοντα και VII ενεργοποιεί τον παράγοντα X και IX.^[32, 33] Η ενεργοποίηση του παράγοντα X που λαμβάνει μέρος στον πεπτιδικό δεσμό Arg52-Ile53, στην βαριά αλυσίδα του παράγοντα X, οδηγεί στην δημιουργία της πρωτεάση σερίνης Χα.^[34]Ο ενεργοποιημένος παράγοντας IX σε σύμπλοκο με τον παράγοντα VIIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα X.^[35] Αυτή η διπλή οδός ενεργοποίησης του παράγοντα X είναι απαραίτητη λόγω της περιορισμένης ποσότητας ιστικού παράγοντα που παράγεται *in vivo* και της παρουσίας του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI), ο οποίος, όταν σχηματίζει σύμπλοκο με τον παράγοντα Χα, αναστέλλει το σύμπλοκο TF/FVIIa. Έτσι, η παρατεταμένη παραγωγή θρομβίνης εξαρτάται από την ενεργοποίηση του παράγοντα IX και του συμπαράγοντα αυτού, δηλαδή τον παράγοντα VIII. Αυτή η διαδικασία ενισχύεται επειδή ο παράγοντας VIII ενεργοποιείται και από τον παράγοντα Χα και από τη θρομβίνη^[36,22] και τον παράγοντα Ixa με επαγόμενη από τη θρομβίνη ενεργοποίηση του παράγοντα XI^[23-26]. Ως αποτέλεσμα, παρατηρείται

προοδευτική αύξηση της ενεργοποίησης των παραγόντων VIII και IX καθώς σχηματίζεται ο Xa και η θρομβίνη.

2.2.3 Κοινή οδός

Μετά την ενεργοποίηση του παράγοντα X ο παράγοντας Va απελευθερωμένος από τα κοκκία των αιμοπεταλίων κατά την ενεργοποίησή τους διασπάται από την θρομβίνη και μετατρέπεται σε ενεργοποιημένο παράγοντα V , ο οποίος με την σειρά του δεσμεύει τον ενεργοποιημένο παράγοντα X ^[37-40]. Ο παράγοντας V που προέρχεται από τα αιμοπετάλια φαίνεται να είναι πιο σημαντικός στην δημιουργία του συμπλόκου της προθρομβινάσης από τον κυκλοφορούμενο παράγοντα V . Η σύνδεση του Va και του Xa σχηματίζει το σύμπλοκο της προθρομβινάσης το οποίο μετατρέπει ένα μόριο προθρομβίνης σε ένα μόριο θρομβίνης. Στην συνέχεια η θρομβίνη μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες που υφίσταται πολυμερισμό^[41-43]. Ύστερα ο ενεργοποιημένος παράγοντας $XIII$ σταθεροποιεί τα ινίδια που έχουν προκύψει καθώς επίσης ελέγχει και το μέγεθος του θρόμβου αφού ελέγχει τον όγκο των ερυθρών αιμοσφαιρίων που παγιδεύονται μέσα σε αυτόν. Ο σχηματισμός του παράγοντα $XIIIa$ προάγεται από την σύνδεση της θρομβίνης, του ινώδους και του παράγοντα $XIII$.^[44-46]



ΕΙΚΟΝΑ 2: ΚΑΤΑΡΡΑΚΤΗΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ (Πηγή:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coagulation_full.svg)

2.3 Μηχανισμοί Ελέγχου και Τερματισμός της Αιμόστασης

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και του καταρράκτη της πήξης, προκαλούν μια αιμοστατική απόκριση που είναι ταχεία και εντοπισμένη στο σημείο βλάβης. Λόγο της έντονης λειτουργίας της, εάν δεν ελεγχθεί μπορεί να οδηγήσει σε θρόμβωση, αγγειακή φλεγμονή και βλάβη των ιστών. Αυτό δεν συμβαίνει καθώς η πήξη ρυθμίζεται από μια σειρά μηχανισμών όπως: η αραίωση των προπηκτικών παραγόντων στο αίμα, η απομάκρυνση των ενεργοποιημένων παραγόντων διαμέσου του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος κυρίως στο ήπαρ και ο έλεγχος των ενεργοποιημένων προπηκτικών ουσιών και αιμοπεταλίων από φυσικούς αντιθρομβωτικούς μηχανισμούς.^[47]

Οι φυσιολογικοί ενδογενείς αναστολείς των οδών της πήξης είναι:

- **Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI-Tissue Factor Pathway Inhibitor).** Ο TFPI κυκλοφορεί στο πλάσμα σε πολύ μικρές ποσότητες σε αντίθεση με την αντιθρομβίνη.^[48] Ο TFPI είναι ένας αναστολέας της πρωτεάσης.

Μπορεί και αναστέλλει την ενεργοποίηση του παράγοντα X με δύο τρόπους, πρώτον αναστέλλει απευθείας τον ενεργοποιημένο παράγοντα X και δεύτερον σχηματίζει σύμπλοκο με τον Xa(TFPI-Xa) το οποίο αναστέλλει το σύμπλοκο ιστικού παράγοντα και του ενεργοποιημένου παράγοντα VII.Ρυθμίζει έτσι τον μηχανισμό ενεργοποίησης της εξωγενούς οδού.^[49,51]

- **Ο Αναστολέας της C1 εστεράσης (C1-inh).**Ο C1-inh είναι μέλος της οικογένειας αναστολέων πρωτεάσης της σερίνης (SERPIN) και συντίθεται στο ήπαρ. Ο C1-inh αναστέλλει τον FXIIa και την PK καθώς επίσης και τις πρωτεάσες συμπληρώματος C1r, C1s και FXIa.

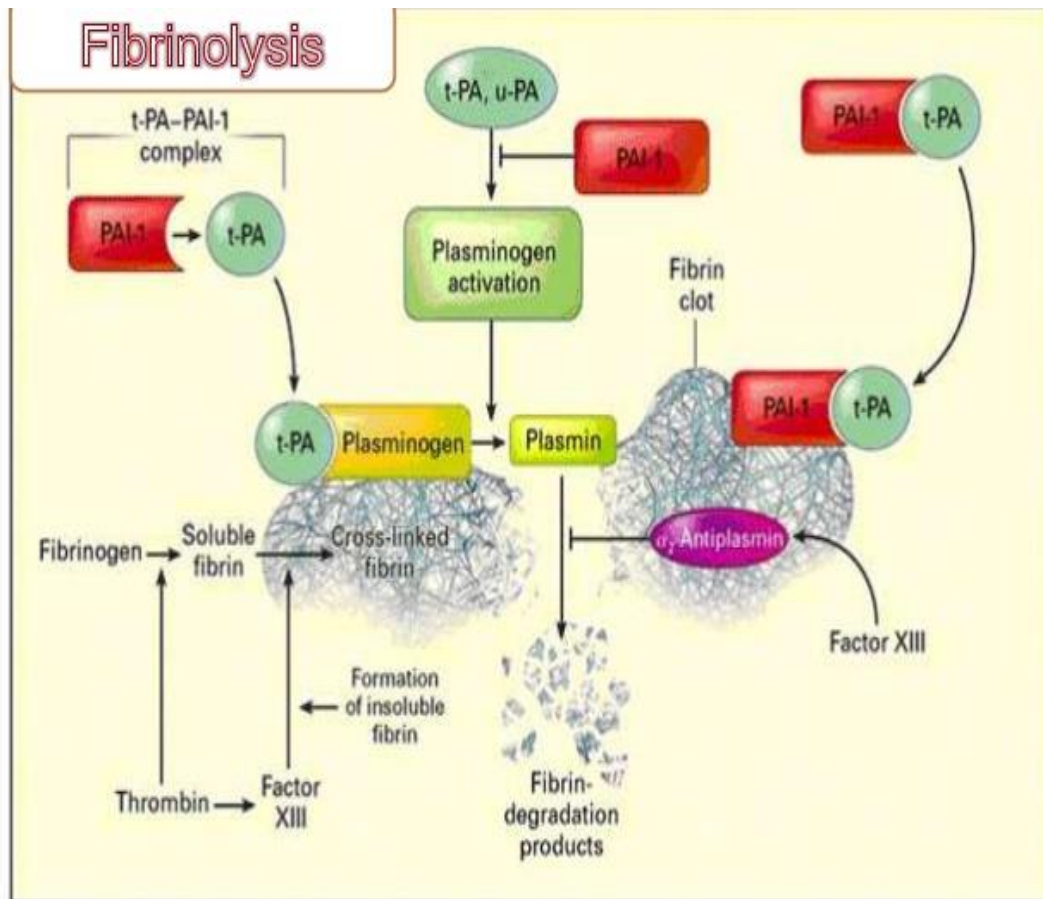
Η ρύθμιση του τερματισμού της διαδικασίας της πήξης περιλαμβάνει την αντιθρομβίνη, έναν αναστολέα της πρωτεάσης της σερίνης που δρα και απενεργοποιεί τα περισσότερα ένζυμα του καταρράκτη της πήξης και ειδικότερα την θρομβίνη, τον παράγοντα Xa, τον παράγοντα IXa καθώς επίσης και τους παράγοντες XIIa και XIa σχηματίζοντας σύμπλοκα με αυτούς. Ακόμα στην παύση της διαδικασίας της πήξης λαμβάνουν μέρος και η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C(APC) που σε συνεργασία με την πρωτεΐνη S απενεργοποιούν του παράγοντες Va και VIIIa, κατά συνέπεια και το σύμπλοκο της προθρομβινάσης και της ενδογενούς δεκάσης. Επιπλέον, η προστακυκλίνη, η θρομβοξάνη και το νιτρικό νάτριο ρυθμίζουν την αγγειακή και αιμοπεταλιακή αντιδραστικότητα.

2.4 Διάλυση του Θρόμβου και Ινοδύλυση

Για να αποκατασταθεί φυσιολογικά το αγγείο που υπέστη τον τραυματισμό και κατά συνέπεια και την διαδικασία της αιμόστασης, ο θρόμβος πρέπει να απομακρυνθεί μέσω ενός πρωτεολυτικού ενζύμου, την πλασμίνη, σε συνδυασμό με την επούλωση της πληγής και την αναδιαμόρφωση του ιστού.

Το πλασμινογόνο, το πρόδρομο μόριο της πλασμίνης, συνδέεται με τον ινώδες και τον ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA). Αυτό το τριμερές σύμπλοκο οδηγεί στην μετατροπή του προενζύμου του πλασμινογόνου στην ενεργή πρωτεολυτική πλασμίνη.^[52,53] Η πλασμίνη έχει την ικανότητα να διασπά το ινωδογόνο και μια σειρά από πρωτεΐνες του πλάσματος και παράγοντες της πήξης.^[54] Συγκεκριμένα, διασπά το

πολυμερισμένο ινωδογόνο σε πολλαπλές θέσεις και απελευθερώνει προϊόντα αποικοδομήσεως ινικής (FDPs). Ένα από τα σημαντικότερα FDP είναι τα D-Dimers, τα οποία αποτελούνται από δύο D περιοχές από γειτονικά μονομερή ινώδους που έχουν διασυνδεθεί με τον ενεργοποιημένο παράγοντα XIII. Η πλασμίνη διασπά επίσης τον παράγοντα XIIIa, αλλά όχι τον παράγοντα XIII, οδηγώντας σε μειωμένη διασταύρωση ινώδους και παράγοντα XIIIa.^[55] Τέλος το σύστημα του πλασμινογόνου/ενεργοποιητή του πλασμινογόνου είναι πολύπλοκο και συμβαίνει παράλληλα με την διαδικασία της πήξης. ^[56] Η δραστηριότητα πλασμίνης ρυθμίζεται από αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα που εκκρίνουν και ενεργοποιητές του πλασμινογόνου και αναστολείς των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (PAI-1 και PAI-2).

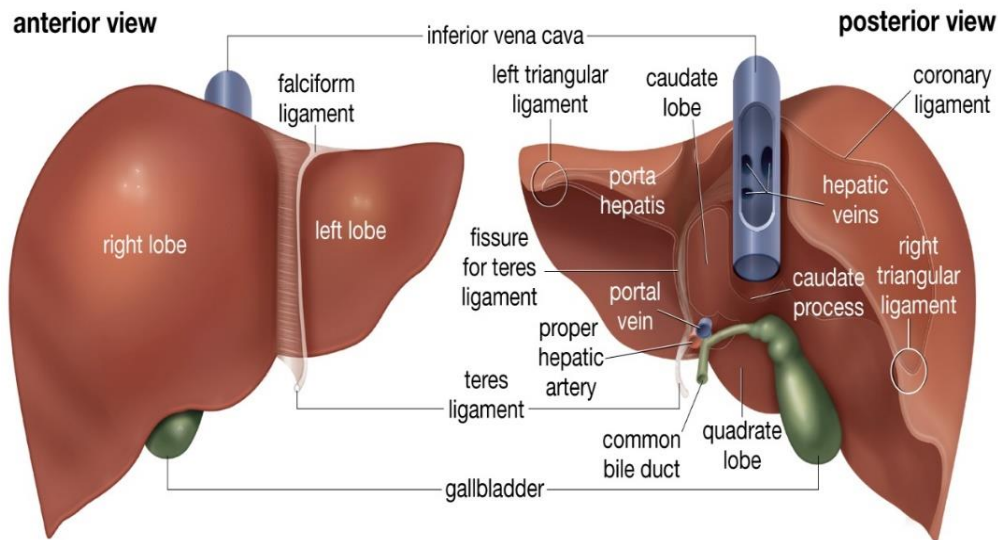


ΕΙΚΟΝΑ 3: ΗΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΤΗΣΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ. Η ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ ΞΕΚΙΝΑΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΡΑ Η ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΡΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΜΕΤΑΤΡΕΠΟΥΝ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΩΝΟ ΣΕ ΠΛΑΣΜΙΝΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΙΝΩΔΟΓΩΝΟΥ. ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΩΝΟ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΕΙ ΤΟΝ ΙΝΩΔΕΣ ΤΟΥ ΘΡΟΜΒΟΥ. ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΑ ΓΙΑ ΝΑ ΑΠΟΦΘΕΧΘΕΙ Η ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΜΕΡΟΣ ΑΝΑΣΤΑΛΤΕΣ ΤΗΣ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ ΟΠΩΣ Η Α2 ΑΝΤΙΠΛΑΣΜΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΡΑΙ-1. ΤΟ ΡΑΙ-1 ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΙ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΣΤΟ ΙΝΩΔΕΣ ΚΑΙ ΝΑ ΑΝΑΣΤΕΛΕΙ ΤΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΗΣ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ (ΤΡΑ ΚΑΙ ΥΡΑ).
(Πηγή: Kohler HP & Grant PJ., 2000, *N Engl J Med*, Jun 15;342(24):1792-801)

3. ΗΠΑΡ

Το ήπαρ είναι ένα από τα πιο σημαντικά όργανα του ανθρώπινου οργανισμού. Οι λειτουργίες του εκτείνονται σε ένα ευρύ φάσμα και περιλαμβάνουν την αποτοξίνωση του οργανισμού, την παραγωγή βιοχημικών ουσιών απαραίτητων για την πέψη των τροφών καθώς και την σύνθεση διαφόρων πρωτεϊνών. Φυσιολογικά το ανθρώπινο ήπαρ ζυγίζει περίπου 1,4 με 1,6 κιλά και αποτελεί το 2% του ανθρώπινου βάρους. Το σχήμα του ήπατος παρομοιάζεται με σφήνα με την κορυφή προς τα αριστερά και την βάση της με φορά προς τα δεξιά. Το ήπαρ χωρίζεται σε 3 χείλη(δεξιό, πρόσθιο και αριστερό) και 3 επιφάνειες (οπίσθια, κάτω και άνω). Στην κάτω επιφάνεια διακρίνονται οι πύλες μέσω των οποίων εισέρχονται η ηπατική αρτηρία και η πυλαία φλέβα ενώ από εκεί εξέρχεται και ο χοληδόχος πόρος. Επιπλέον στο δεξιό λοβό στην κάτω επιφάνεια βρίσκεται η χοληδόχος κύστη με τον κυστικό βόθρο καθώς επίσης και εντυπώματα που σχηματίζονται από την επαφή με τα γύρω σπλάχνα και την πίεση που ασκούν αυτά στο ήπαρ. ^[57]Το ήπαρ είναι ένα από τα πιο σημαντικά όργανα του ανθρώπινου σώματος και αυτό γιατί εκεί λαμβάνουν μέρος η πλειονότητα των βιοχημικών διεργασιών σύνθεσης και μεταβολισμού των ουσιών. Υπεύθυνα για τις λειτουργίες αυτές είναι τα ηπατοκύτταρα. Πιο συγκεκριμένα το ήπαρ είναι υπεύθυνο :

- Για την απομάκρυνση της αμμωνίας, της χολερυθρίνης και άλλων τοξινών από το αίμα.
- Για την ρύθμιση της σύνθεσης του αίματος, όπως την ποσότητα των σακχάρων, του λίπους και των πρωτεϊνών που εισέρχονται στην κυκλοφορία.
- Για τον μεταβολισμό των ουσιών που προέρχονται από τις τροφές καθώς επίσης και για τον μεταβολισμό του αλκοόλ και των φαρμάκων.
- Για την αποθήκευση διαφόρων θρεπτικών ουσιών και βιταμινών όπως της βιταμίνης Α, και του σιδήρου.
- Για την σύνθεση της πλειονότητας των παραγόντων της πήξης καθώς και πρωτεϊνών που την αναστέλλουν όπως η πρωτεΐνη C, S και η αντιθρομβίνη.



© 2010 Encyclopædia Britannica, Inc.

ΕΙΚΟΝΑ 4: ΑΝΑΤΟΜΙΚΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ.
(Πηγή: www.arizonatransplant.com)

3.1 Ήπαρ και Αιμόσταση

Το ήπαρ είναι ο κύριος τόπος σύνθεσης της πλειονότητας των παραγόντων της πήξης και των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στο ινωδολυτικό σύστημα. Αυτές περιλαμβάνουν όλες τις πρωτεΐνες πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ (παράγοντες II, VII, IX, X, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S και πρωτεΐνη Z) όπως και τον παράγοντα V, XIII, ινωδογόνο, αντιθρομβίνη, α2-PI και πλασμινογόνο. Εξάιρεση αποτελούν ο παράγοντας VonWillebrand, το tPA, το TPF1, το uPA και η θρομβομοντουλίνη. Ο παράγοντας VonWillebrand, το tPA, το TPF1 και η θρομβομοντουλίνη συντίθενται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ το uPA εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα, τα νεφρικά επιθηλιακά κύτταρα και από μερικά καρκινικά κύτταρα. ^[58] Η βιταμίνη Κ είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη η οποία απαιτείται για να επιτευχθούν τα σωστά επίπεδα των προπηκτικών παραγόντων και των αντιπηκτικών πρωτεϊνών. Οι συγκεκριμένοι παράγοντες χρειάζονται την βιταμίνη Κ ως συμπαράγοντα για την μετα-ριβοσωματική τροποποίησή τους. Όλοι οι παράγοντες που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ έχουν στην αμινοτελική τους περιοχή γλουταμινικό οξύ το οποίο πρέπει να μετατραπεί σε κατάλοιπα γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος. Αυτή η διαδικασία είναι πολύ σημαντική

καθώς είναι αυτή που επιτρέπει τα ιόντα ασβεστίου να συνδεθούν με τις πρωτεΐνες και κατά συνέπεια να δημιουργηθούν τα απαραίτητα για την αιμόσταση σύμπλοκα.^[59] Τέλος το ήπαρ παίζει σημαντικό ρόλο και στην ρύθμιση της λήξης της αιμόστασης καθώς μέσω του ηπατικού δικτυοενδοθηλιακού συστήματος αφαιρούνται ορισμένοι παράγοντες της πήξης και της ινοδύλωσης.^[60]

3.2 Καρκίνος του Ήπατος

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC) είναι ένας πρωτογενής όγκος του ήπατος που αναπτύσσεται συνήθως στη βάση της χρόνιας ηπατικής νόσου και πιο συγκεκριμένα σε ασθενείς με κίρρωση, χρόνια ηπατίτιδα Β και ηπατίτιδα C. Η διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου είναι δύσκολη και συνήθως απαιτεί τη χρήση ενός ή και περισσότερων απεικονιστικών τρόπων. Ιδανικά η διάγνωση πρέπει να γίνει όταν ο όγκος είναι μικρότερος από 2 εκατοστά έτσι ώστε να μπορούν να προσφερθούν όλες οι πιθανές θεραπευτικές επιλογές. Ιστορικά η διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος συχνά γινόταν με καθυστέρηση λόγω της έλλειψης συμπτωμάτων και της απροθυμίας πολλών γιατρών πρωτοβάθμιας περίθαλψης παρακολουθούν στενά ασθενείς υψηλού κινδύνου.^[61,62] Ως αποτέλεσμα, ορισμένοι ασθενείς είχαν ανίατη ασθένεια κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Ωστόσο, είναι καθησυχαστικό ότι οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται μετά το 2006 είναι πιο πιθανό να έχουν εντοπισμένη νόσο και βελτίωση των ποσοστών επιβίωσης.^[63]

3.2.1 Δείκτες όρου για την διάγνωση του HCC

Ο πιο χρησιμοποιούμενος δείκτης για το HCC (Hepatocellular carcinoma) είναι η συγκέντρωση της άλφα εμβρυοπρωτεΐνης (AFP). Ωστόσο, ο ρόλος της AFP εξελίσσεται καθώς βελτιώνεται η ακρίβεια της απεικόνισης. Η AFP είναι μια γλυκοπρωτεΐνη η οποία παράγεται κανονικά κατά τη διάρκεια της κύησης από το εμβρυϊκό ήπαρ και η συγκέντρωσή της στον ορό μπορεί να αυξηθεί σε ασθενείς με HCC. Τα επίπεδα της AFP στον ορό δεν συσχετίζονται καλά με άλλα κλινικά χαρακτηριστικά του HCC, όπως το μέγεθος του όγκου, το στάδιο ή την πρόγνωση. Όλοι οι όγκοι δεν εκκρίνουν AFP και οι συγκεντρώσεις στον ορό είναι φυσιολογικές σχεδόν στο 40% των μικρών HCC^[64]. Επιπρόσθετα, σε δύο μελέτες που περιλάμβαναν περισσότερους από 1.800 ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο και χρησιμοποιώντας ως κατώφλι της AFP τις τιμές 10 έως 20 mg/L,

η AFP παρουσίασε ως μέθοδος ανίχνευσης του HCC ευαισθησία περίπου 60% και ειδικότητα περίπου 80%.^[65,66] Η αύξηση στον ορό της AFP σε ασθενή υψηλού κινδύνου για εμφάνιση HCC πρέπει να ελέγχεται περαιτέρω.

Ένας άλλος δείκτης είναι τα MicroRNAs. Η έκφραση των MicroRNAs στο πλάσμα έχει επίσης μελετηθεί ως πιθανός δείκτης για το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Μια μελέτη που έγινε σε 934 συμμετέχοντες συμπεριλαμβανομένων υγιών και ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β, κίρρωση ήπατος ή ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα που σχετιζόταν με ηπατίτιδα Β έδειξε ότι με την χρήση ενός πάνελ MicroRNAs μπορούσαν να αναγνωριστούν με ακρίβεια ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ανεξαρτήτως σταδίου με ευαισθησία και ειδικότητα που άγγιζαν το 82% και 84% αντίστοιχα. Το συγκεκριμένο πάνελ μπόρεσε επίσης να διαφοροποιήσει ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ανάμεσα σε υγιή άτομα, ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β και ασθενείς με κίρρωση του ήπατος.^[67,68,69]

Τέλος διάφοροι δείκτες ορού για το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα έχουν χρησιμοποιηθεί μεμονωμένοι ή σε συνδυασμό με την AFP με σκοπό την διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Κάποιοι δείκτες από αυτούς είναι η γάμμα-καρβοξυπροθρομβίνη, η AFP-L3 και η γλυπικάνη-3 η οποία είναι μια πρωτεογλυκάνη θειικής ηπαράνης της κυτταρικής επιφάνειας. Μελέτες που εξετάζουν τον συνδυασμό των ειδικών για τον όγκο πρωτεϊνών που βρίσκονται στην κυκλοφορία και μεταλλάξεων στο DNA δίνουν απτά στοιχεία ότι στο μέλλον θα μπορεί να γίνεται έγκαιρη ανίχνευση των χειρουργικά ανιχνεύσιμων καρκίνων.^[70]

3.2.2 Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και Επιδημιολογία

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ευθύνεται περίπου για 800.000 θανάτους παγκοσμίως σε ετήσια βάση και είναι η τέταρτη κύρια αιτία θανάτου στον κόσμο.^[71] Ο καρκίνος του ήπατος σε ενήλικες άντρες είναι ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος και στις ενήλικες γυναίκες ο ένατος στην σειρά διαγνωσμένος καρκίνος παγκοσμίως.^[72] Έχουν εντοπιστεί διάφοροι σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Αυτοί περιλαμβάνουν την ηπατίτιδα Β, την χρόνια ηπατίτιδα C, την κληρονομική αιμοχρωμάτωση και την κίρρωση του ήπατος.^[73] Σε μία ανάλυση 770.000 περιστατικών HCC που εμφανίστηκαν παγκοσμίως το 2012, πάνω από το 50%

των περιπτώσεων αποδόθηκε σε χρόνια ηπατίτιδα Β και το 20% των περιπτώσεων αποδόθηκε σε λοίμωξη από ηπατίτιδα C. Η παρακολούθηση του HCC ενδείκνυται για πολλούς ασθενείς με διαταραχές που θεωρούνται αυξημένου κινδύνου.^[74] Σε ένα από τα πιο σημαντικά κέντρα των Ηνωμένων Πολιτειών, οι συχνότεροι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου ήταν η ηπατίτιδα C, η χρήση αλκοόλ και η μη αλκοολική λιπώδης ηπατική νόσος.^[75] Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι καρκίνος του ήπατος μπορεί να εμφανιστεί και σε ασθενείς χωρίς γνωστούς παράγοντες κινδύνου.^[76]

3.2.3 Καρκίνος Ήπατος και Σταδιοποίησή του

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα είναι ένας άκρως επιθετικός καρκίνος, διαπιστώνεται συνήθως καθυστερημένα και ο μέσος όρος επιβίωσης μετά την διάγνωση κυμαίνεται από 6 έως και 20 μήνες.^[77] Οι διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές για τον καρκίνο του ήπατος υπαγορεύονται από το στάδιο του καρκίνου και την έκταση της υποκείμενης ηπατικής νόσου.

Έχουν προταθεί πολλά συστήματα για την πρόβλεψη της πρόγνωσης του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, κανένα από αυτά όμως δεν έχει υιοθετηθεί παγκόσμιος.^[78-84] Όλα αυτά τα συστήματα ενσωματώνουν 4 βασικά κριτήρια που έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες επιβίωσης. Τα τέσσερα κριτήρια είναι:

- Η σοβαρότητα της υποκείμενης ηπατικής νόσου
- Η επέκταση του όγκου σε γειτονικές δομές
- Το μέγεθος του όγκου και
- Η παρουσία μεταστάσεων.

Ορισμένα συστήματα προγνωστικών σταδίων ενσωματώνουν επίσης και την κατάσταση απόδοσης. Τα τέσσερα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα συστήματα είναι τα:

- 1 Το TNM
- 2 Το σύστημα Okuda
- 3 Το σύστημα BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) και
- 4 Το σύστημα CLIP (Cancer of the Liver Italian Program).

TNM σταδιοποίηση

Η τρέχουσα έκδοση της TNM σταδιοποίησης του 2017 επιφέρει διάφορες αλλαγές στην ταξινόμηση του πρωτοπαθούς όγκου (T) σε σχέση με την έκδοση του 2010.^[85]

Η T1 κατηγορία έχει υποδιαιρεθεί σε δύο υποκατηγορίες T1a(μεμονωμένοι όγκοι μικρότεροι των 2 εκατοστών και T1b(μεμονωμένοι όγκοι χωρίς αγγειακή εισβολή μεγαλύτερη των 2 εκατοστών). Επιπλέον η T2 κατηγορία περιλαμβάνει τώρα έναν μεμονωμένο όγκο με αγγειακή διήθηση μεγαλύτερη των 2 εκατοστών ή πολλαπλούς όγκους εκ των οποίων κανείς να μην ξεπερνά τα 5 εκατοστά. Ακόμα η προηγούμενη κατηγορία T3a(ασθενείς με πολλαπλούς όγκους εκ των οποίων ένας ήταν πάνω από 5 εκατοστά) τώρα κατατάσσεται εκ νέου ως T3 κατηγορία. Όγκοι που θεωρούνταν T3b(μεμονωμένοι ή πολλαπλοί όγκοι οποιουδήποτε μεγέθους που εμπλέκονται στην πυελική φλέβα) τώρα θεωρούνται T4 όπως είναι οι όγκοι με άμεση εισβολή σε γειτονικά όργανα εκτός από τη χοληδόχο κύστη ή με διάτρηση του σπλαγχνικού περιτόναιου.

Το διαγνωστικό προγνωστικό δυναμικό της υποδιαίρεσης πρωτοπαθών όγκων ανάλογα με το μέγεθος και τη μικροαγγειακή εισβολή στη νέα ταξινόμηση TNM 2017 έχει επικυρωθεί σε ασθενείς που υποβάλλονται σε εκτομή. Αν και η παρουσία κίρρωσης ή ιστολογικής ποιότητας δεν χρησιμοποιείται για την εκχώρηση του τελικού σταδίου του όγκου, η βαθμολόγηση της ίνωσης του υποκείμενου ήπατος συμπεριλαμβάνεται ως κλινικά σημαντικός προγνωστικός παράγοντας όπως είναι το επίπεδο της άλφα-φετοπρωτεΐνης (AFP), η παρουσία ή απουσία κίρρωσης και η βαθμολόγηση MELD (Model for End Stage Hepatic Disease) . Το σύστημα σταδιοποίησης TNM είναι το μόνο που εφαρμόζεται σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί είτε σε ηπατική εκτομή είτε σε μεταμόσχευση για HCC ^[86-92]

Ωστόσο, για ασθενείς με σοβαρή υποκείμενη ηπατική νόσο, αυτή είναι που κυριαρχεί στην πρόγνωση. Η σημασία της υποκείμενης κίρρωσης αποδείχθηκε σε μια μελέτη από το Χονγκ Κονγκ, η οποία περιγράφει την επιβίωση σύμφωνα με το στάδιο TNM και το μέγεθος του όγκου σε ασθενείς με και χωρίς κίρρωση που σχετίζεται με την ηπατίτιδα Β ^[93]. Η πενταετής επιβίωση ήταν παρόμοια σε αυτούς με και χωρίς κίρρωση που είχαν μεμονωμένους όγκους <5cm (61 έναντι 62%). Από την άλλη πλευρά, η πενταετής επιβίωση ήταν χειρότερη σε κίρρωτικούς ασθενείς με όγκους>5 cm (28 έναντι

40%). Σε αυτούς τους ασθενείς, τα συστήματα Okuda και CLIP είναι πιο χρήσιμα από το σύστημα σταδιοποίησης TNM για την πρόγνωση του όγκου.

Σύστημα Okuda

Σε αντίθεση με την ταξινόμηση TNM, το προγνωστικό σύστημα ταξινόμησης που προτείνεται από το Okuda περιλαμβάνει το μέγεθος του όγκου και τρία χαρακτηριστικά αξιολόγησης της σοβαρότητας της κίρρωσης (την ποσότητα ασκίτη, τα επίπεδα αλβουμίνης ορού και χολερυθρίνης). Σύμφωνα με μία μελέτη, η επιβίωση ήταν 8, 2 και 0,7 μήνες για ασθενείς χωρίς θεραπεία σε στάδια Okuda, I, II και III, αντίστοιχα. Το σύστημα Okuda δεν σταδιοποιεί τους ασθενείς με βάση την αγγειακή εισβολή ή την παρουσία ή απουσία οζιδικών μεταστάσεων. Επειδή οι περισσότεροι ασθενείς που ελέγχονται σύμφωνα με αυτό το σύστημα δεν είναι υποψήφιοι για αφαίρεση τμήματος του ήπατος, είναι ένα καθαρά κλινικό σύστημα σταδιοποίησης.^[78]

Βαθμολόγηση CLIP

Η βαθμολογηση CLIP είναι το πιο πρόσφατα αναπτυγμένο προγνωστικό σύστημα βαθμολόγησης για ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Συνδυάζει χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με τον όγκο (όπως η μακροσκοπική μορφολογία όγκου, τα επίπεδα της AFP (Alpha-Fetal Protein) στον ορό και η παρουσία ή η απουσία φλεβικής θρόμβωσης) με ένα δείκτη της σοβαρότητας της κίρρωσης για τον προσδιορισμό της προγνωστικής βαθμολόγησης που κυμαίνεται από 0 έως 6.

Πολλές μελέτες από ποικίλες γεωγραφικές περιοχές έχουν δείξει ότι το CLIP έχει καλύτερη απόδοση στην πρόβλεψη της επιβίωσης σε σύγκριση με τις προηγούμενες εκδόσεις των συστημάτων TNM, Okuda ή Child-Pugh, ιδιαίτερα μεταξύ των ασθενών που υποβάλλονται σε μη χειρουργική θεραπεία.^[79,60,94-97] Σε μια μελέτη οι μέσοι ρυθμοί επιβίωσης των ασθενών με βαθμολογία CLIP 0, 1, 2, 3, 4, 5 και 6 ήταν 31, 27, 13, 8, 2 και 2 μήνες, αντίστοιχα. Μερικές ομάδες ερευνούν εάν η πρόγνωση με την βαθμολογία CLIP μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη παραγόντων ορού όπως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας και ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας-1.

BCLC σταδιοποίηση

Η BCLC σταδιοποίηση περιλαμβάνει τέσσερα στάδια που βασίζονται στην έκταση της πρωτογενούς αλλοίωσης, της κατάστασης απόδοσης, της παρουσίας συνιστάμενων συμπτωμάτων, της αγγειακής εισβολής και της εξωηπατικής εξάπλωσης.^[82] Αυτό το σύστημα έχει επικριθεί λόγω της αλγοριθμικής προσέγγισης του και όχι των ασθενών.^[98,99] Αν και σε τουλάχιστον δύο συγκριτικές μελέτες υπερέβησαν τα άλλα προγνωστικά μοντέλα σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε χειρουργική θεραπεία [100,101], αρκετές μεγαλύτερες συγκριτικές μελέτες έδειξαν ότι άλλα προγνωστικά συστήματα βαθμολόγησης υπερέβησαν το σύστημα BCLC.^[92,102] Ενώ τέλος άλλοι ερευνητές έδειξαν ότι η θεραπεία εκτός των κατευθυντήριων γραμμών του συστήματος BCLC επηρεάζει τα αποτελέσματα και ότι η χρησιμότητά του είναι περιορισμένη σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργική θεραπεία ^[103].

Οι ασθενείς πρώιμου σταδίου A είναι ασυμπτωματικοί και έχουν όγκους που είναι κατάλληλοι για ριζικές θεραπείες. Οι ασθενείς με ενδιάμεση φάση B είναι ασυμπτωματικοί και έχουν πολυεστιακό ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Ακόμα οι ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο C έχουν συμπτωματικούς όγκους, αγγειακή εισβολή ή και εξωηπατική εξάπλωση, αλλά έχουν διατηρήσει τη λειτουργία του ήπατος σύμφωνα με την ταξινόμηση Child-Pugh Turcotte. Οι ασθενείς σταδίου D έχουν είτε όγκους σταδίου III κατά το σύστημα Okuda, είτε κίρρωση. Οι ασθενείς σταδίου B και C δεν είναι ικανοί υποψήφιοι για εκτομή, αλλά μπορεί να είναι υποψήφιοι για παρηγορητική θεραπεία ή τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές. Οι ασθενείς με όγκους σταδίου D έχουν εξαιρετικά κακή πρόγνωση και η θεραπεία πρέπει να κατευθύνεται προς τον έλεγχο των συμπτωμάτων.

4. ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ

Τα μικροσωματίδια ή αλλιώς μικροκυστίδια είναι κυστίδια τα οποία προέρχονται από κυτταρικές μεμβράνες και ποικίλουν μεταξύ άλλων στο μέγεθος, από 0,2 έως 2,0 μm. Εμφανίζονται κυρίως μέσω διαδικασιών ενεργοποίησης της κυτταρικής μεμβράνης καθώς και μέσω της διαδικασίας απόπτωσης. Τα μικροκυστίδια τα οποία έχουν μελετηθεί πιο διεξοδικά είναι αυτά που προέρχονται από τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα ωστόσο παρόμοια κυστίδια προκύπτουν και από τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα κοκκιοκύτταρα.

Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια αρχικά μελετήθηκαν λόγω της προπηκτικής τους δράσης. Πρόσφατες μελέτες έχουν διερευνήσει την συμμετοχή τους στην παθοφυσιολογία της αιμόστασης και πιο συγκεκριμένα στις αγγειακές διαταραχές. Οι Chargaff και συν. το 1949 πρώτος αναγνώρισε ότι το πλάσμα ελεύθερο αιμοπεταλίων περιέχει έναν παράγοντα ο οποίος μπορεί να επιταχύνει την δημιουργία της θρομβίνης.^[104] Αργότερα το 1967 ο Wolf παρατήρησε την παρουσία κυτταρικών μεμβρανών, πλούσιων σε σουδανοφιλικά λιπίδια (λιπίδια που βάφονται εύκολα με την χρώση Sudan) σε πλάσμα ελεύθερο αιμοπεταλίων από υπερφυγοκέντρηση, ικανών να δημιουργήσουν θρομβίνη.^[105] Κατάφερε να παρουσιάσει μια γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων, που τότε είχε ονομάσει "plateletdust" (αιμοπεταλιακή σκόνη) και τον αρχικό αριθμό των αιμοπεταλίων στα δείγματα αίματος. Παρατήρησε ότι υψηλά επίπεδα αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων εμφανίζονται σε ασθενείς με υψηλό αριθμό αιμοπεταλίων και χαμηλά επίπεδα αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων σε ασθενείς με θρομβοκυτταροπενία. Με την χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ήταν δυνατόν να επιβεβαιωθεί ότι αυτά τα μικροκυστίδια προέρχονταν από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια.

Το 1999 οι Combes και συν. περιέγραψαν μικροκυστίδια προερχόμενα από ενδοθηλιακά κύτταρα ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας, που είχαν διεγερθεί από TNFα.^[106] Αυτά τα μικροκυστίδια ήταν ανιχνεύσιμα τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε ασθενείς με προπηκτικές διαταραχές πήξης. Η ομάδα του Combes έδειξε μέσω ηλεκτρονικού μικροσκοπίου τον σχηματισμό κυψελίδων στην μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων που προαναφέρθηκαν, οδηγώντας έτσι στην απελευθέρωση αυξημένου αριθμού

μικροκυστιδίων. Τα συγκεκριμένα μικροκυστίδια εξέφραζαν τα ίδια αντιγόνα τα οποία εξέφραζε και η αντίστοιχη κυτταρική επιφάνεια από την οποία προέρχονταν, τόσο σε συνθήκες ηρεμίας όσο και μετά από ερέθισμα. Ακόμα το 1994 ο Sattakai συν. περιέγραψαν κυκλοφορούμενα μικροκυστίδια προερχόμενα από μονοκύτταρα. [107] Παρατήρησαν ότι μπορούσαν να δημιουργήσουν μικροκυστίδια προερχόμενα από μονοκύτταρα ύστερα από διέγερση μονοκυττάρων με λιποπολυσακχαρίτες.

Όπως στα αιμοπετάλια, στα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα έτσι και οι μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων δημιουργούν μικροκυστίδια ως αντίδραση στην εισροή κατιόντων Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα. Η εισροή κατιόντων Ca^{2+} συμβαίνει στα ερυθρά αιμοσφαίρια ως απόκριση του MAC (membrane attack complex) ή αλλιώς TCC (terminal complement complex) και σε συνδυασμό με μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της δρεπανοκυττάρωσης και των κληρονομικών σφαιροκυτταρώσεων. [110,111] Ο σχηματισμός μικροκυστιδίων που προέρχονται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια συμβαίνει και φυσιολογικά στα ερυθρά αιμοσφαίρια λόγω της ωρίμανσης και γήρανσης τους.

4.1 Δημιουργία Μικροκυστιδίων

Η σύσταση και η θέση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης είναι πολύ συγκεκριμένη και είναι ως εξής, η φωσφατιδυλοχολίνη (PC) και η σφιγγομυελίνη (SM) βρίσκονται στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη (PS) και η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE) ανευρίσκονται στην εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης. Η διατήρηση αυτής της ασυμμετρίας είναι βασική και επιτυγχάνεται μέσω μιας σύνθετης διαμεμβρανικής ενζυμικής ισορροπίας. Έλλειψη της φωσφολιπιδικής ασυμμετρίας προκύπτει κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, την απόπτωση και την νέκρωση και έχει ως αποτέλεσμα την έκθεση της φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου. Αυτό οδηγεί με την σειρά του σε μια προθρομβωτική κατάσταση [112-114], ενώ ακόμα η παρουσία της φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης προάγει την απομάκρυνση των αποπτωτικών κυττάρων και των κυτταρικών θραυσμάτων από τα μακροφάγα. [115]

4.1.1 Φαινόμενο flip-flop και παραγωγή Μικροκυστιδίων

Στη ρύθμιση της φωσφολιπιδικής ασυμμετρίας της κυτταρικής μεμβράνης λαμβάνουν μέρος πέντε ένζυμα τα οποία εμπλέκονται επίσης και στη δημιουργία των μικροκυστιδίων. Τα ένζυμα αυτά είναι η γκελσολίνη που είναι παρούσα μόνο στα αιμοπετάλια, η αμινοφωσφολιπιδική τρανσλοκάση, η φλοπάση, σκραμπλάση και η καλπαΐνη. Τα παραπάνω ένζυμα διατηρούν την ασυμμετρία της μεμβράνης και επιτρέπουν στα φωσφολιπίδια να κινούνται στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης ενώ, την ίδια στιγμή τα αμινοφωσφολιπίδια μετακινούνται στη εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης. Όταν η συγκέντρωση του ασβεστίου αυξηθεί ενδοκυτταρικά, όπως για παράδειγμα κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η σταθερή κατάσταση που περιγράψαμε μεταβάλλεται με αποτέλεσμα την έκφραση της φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης. ^[116-118]

Γκελσολίνη

Η γκελσολίνη είναι ειδική για την δημιουργία των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων. Έχει την δυνατότητα να αφαιρεί τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στα άκρα των νηματίων της ινικής του κυτταροσκελετού των αιμοπεταλίων, όταν η συγκέντρωση του ασβεστίου αυξηθεί στο εσωτερικό του κυττάρου. Η αφαίρεση των πρωτεϊνών αυτών επιτρέπει στην ακτίνη να αναδιοργανωθεί και έτσι να ξεκινήσει η διαδικασία της αιμοπεταλιακής συστολής, διαδικασία που προκαλεί την απόσυρση και την ενίσχυση του θρόμβου. ^[119]

Αμινοφωσφολιπιδική τρανσλοκάση

Η αμινοφωσφολιπιδική τρανσλοκάση είναι ένα ATP-εξαρτώμενο ένζυμο. Η δράση της είναι ειδική για την μεταφορά της φωσφατιδυλοαιθανολαμίνης και της φωσφατιδυλοσερίνης από την εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης στην εσωτερική. Ένα μόριο ATP είναι απαραίτητο για την μεταφορά ενός μορίου φωσφατιδυλοσερίνης.^[120] Η δράση της αμινοφωσφολιπιδικής τρανσλοκάσης αναστέλλεται από τα αυξημένα επίπεδα του κυτταροπλασματικού ασβεστίου.

Φλοπάση

Η φλοπάση είναι επίσης ένα ATP-εξαρτώμενο ένζυμο το οποίο μεταφέρει λιπίδια από το εσωτερικό του κυττάρου στο εξωτερικό. Η δράση της δεν είναι ειδική για τα αμινοφωσφολιπίδια καθώς δεν έχει κατανοηθεί πλήρως. Παρόλα αυτά θεωρείται ότι λειτουργεί σε συνδυασμό με την αμινοφωσφολιπιδική τρανσλοκάση. ^[118]

Λιπιδική σκραμπλάση

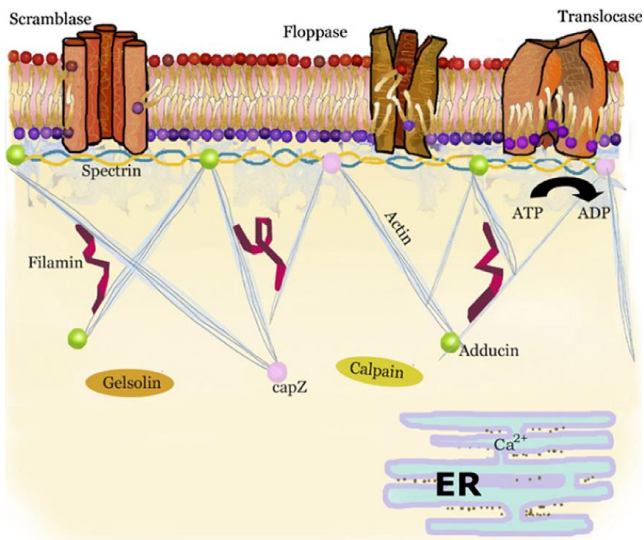
Η λιπιδική σκραμπλάση βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη. Η δράση της επιτρέπει στα φωσφολιπίδια να μετακινούνται δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης. ^[121] Σε αυξημένα επίπεδα κυτταροπλασματικού ασβεστίου αναστέλλεται η δράση της αμινοφωσφολιπιδικής τρανσλοκάσης και ενεργοποιείται η λιπιδική σκραμπλάση. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε έλλειψη της φωσφολιπιδικής ασυμμετρίας και στη σταθερή έκφραση της φωσφατιδυλοσερίνης στην κυτταρική μεμβράνη. Το σύνδρομο Scott είναι μια υπολειπόμενη αυτοσωμική ασθένεια κατά την οποία παρουσιάζεται η ανικανότητα παραγωγής του ενζύμου σκραμπλάση. Αυτό οδηγεί με την σειρά του στη μειωμένη έκφραση της φωσφατιδυλοσερίνης και στη μειωμένη παραγωγή μικροκυστιδίων. Ως συνέπεια των παραπάνω, η ικανότητα ενεργοποίησης του παράγοντα X και της προθρομβίνης διαταράσσεται με αποτέλεσμα την εμφάνιση σοβαρής αιμορραγίας.

Καλπαΐνη

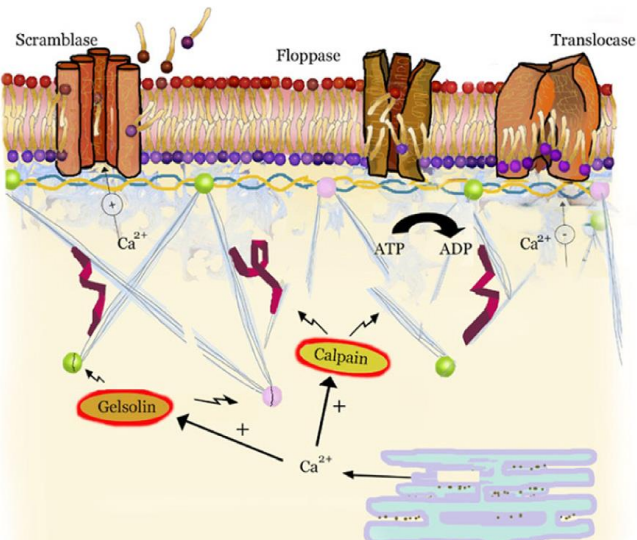
Τα αυξημένα επίπεδα κυτταροπλασματικού ασβεστίου, ενεργοποιούν διάφορα κυτοσολικά ένζυμα συμπεριλαμβανομένης και της καλπαΐνης. Η καλπαΐνη είναι μια πρωτεάση κυστεΐνης της οικογενείας των παπαΐναςών. Κατά την αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση, απόπτωση και νέκρωση, ελευθερώνεται ασβέστιο από το ενδοπλασματικό δίκτυο με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της καλπαΐνης. Η καλπαΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στην δημιουργία των μικροκυστιδίων καθώς έχει την ικανότητα να διασπά τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες διευκολύνοντας έτσι την αποβολή κυστιδίων και την ενεργοποίηση της απόπτωσης. Στην θρομβωτική θρομβοκυτταροπενική πορφύρα (TTP) η παρουσία κυκλοφορούμενης καλπαΐνης στο πλάσμα παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια. ^[122,123]

Εν κατακλείδι, για τον σχηματισμό των μικροκυστιδίων ο κυτταροσκελετός υφίσταται διάφορες σοβαρές μεταβολές. Πιο συγκεκριμένα τα ινίδια ακτίνης στα αιμοπετάλια ή οι συνδέσεις ακτίνης-σπεκτρίνης σε άλλου τύπου κύτταρα διασπώνται. Στα αιμοπετάλια, τα μικροϊνίδια ακτίνης καλύπτονται από τις πρωτεΐνες αντουκίνη και CapZ. Αυτές οι πρωτεΐνες εμποδίζουν τις αλληλεπιδράσεις της ακτίνης και βοηθούν στην διατήρηση της κυτταρικής δομής. Οι πρωτεΐνες αυτές απομακρύνονται από το κυτοσολικό ένζυμο γκελσολίνη, το οποίο ενεργοποιείται από το κυτταροπλασματικό ασβέστιο, κατά την αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση, απόπτωση και νέκρωση και με την σειρά της οδηγεί στην αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού.^[124]

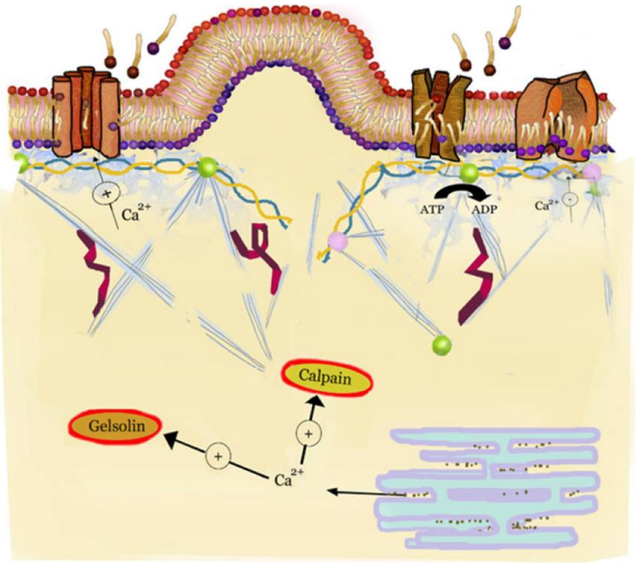
Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια του περιφερικού αίματος εκφράζουν το αντιγόνο CD41, έχουν μικρό χρόνο ημιζωής ενώ έχουν βρεθεί σε σημαντικά ποσοστά ακόμα και σε υγιή άτομα.^[126] Έχει αποδειχθεί ακόμα ότι ορισμένα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι κατά την αποθήκευση αιμοπεταλίων παράγονται αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, διαδικασία που μπορεί να αποφευχθεί με την χορήγηση ουσιών που αναστέλλουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, διαδικασία που δεν επηρεάζει τον αριθμό των αιμοπεταλίων.^[127,128]



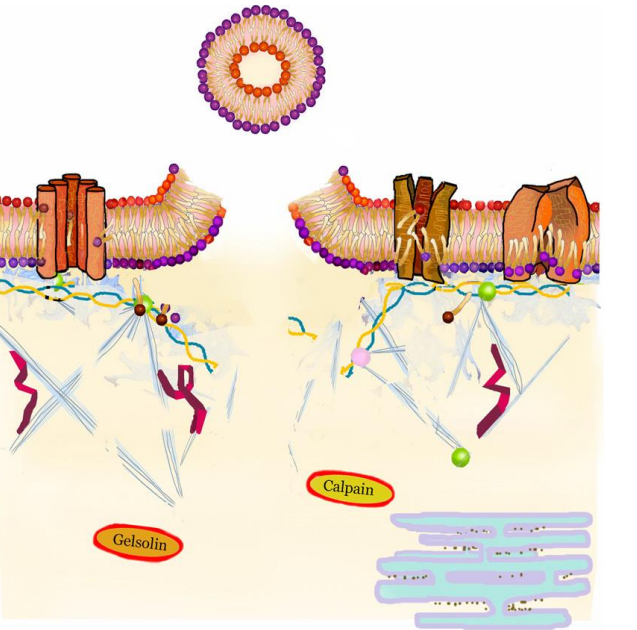
ΕΙΚΟΝΑ 5^Α : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΟΣΚΕΛΕΤΟΥ. ΤΟ ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΟ ΣΤΟΝ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ. Η ΣΚΡΑΜΠΛΑΣΗ ΕΙΝΑΙ ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΕΝΩ Η ΤΡΑΝΣΛΟΚΑΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗ. Η ΤΡΑΝΣΛΟΚΑΣΗ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ PS ΚΑΙ PE ΑΠΟ ΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ. ΕΝΑ ΜΟΡΙΟ ΑΤΡ ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΓΚΑΙΟ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΕΝΟΣ ΜΟΡΙΟΥ PS. Η ΦΛΟΠΑΣΗ ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΑΤΡ ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ Η ΟΠΟΙΑ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΕ ΣΤΗΝ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗΣ ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑΣ.



ΕΙΚΟΝΑ 5^Β : ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ. ΤΟ ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ ΟΔΗΓΩΝΤΑΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΛΠΑΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΚΕΛΣΟΛΙΝΗΣ. Η ΚΑΛΠΑΙΝΗ ΚΟΒΕΙ ΤΑ ΙΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΗΣ ΚΑΙ Η ΓΚΕΛΣΟΛΙΝΗ ΚΟΒΕΙ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΛΥΨΗΣ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΗΣ. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΕΠΙΣΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΣΚΡΑΜΠΛΑΣΗ ΚΑΙ ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΤΡΑΝΣΛΟΚΑΣΗ.



ΕΙΚΟΝΑ 5^Γ : ΚΥΤΤΟΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΡΗΞΗ ΛΟΓΩ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ. Η ΣΠΕΚΤΡΙΝΗ ΚΑΙ Η ΑΚΤΙΝΗ ΔΙΑΣΠΩΝΤΑΙ. ΣΕ ΑΥΤΟ ΤΟ ΣΗΜΕΙΟ Η ΑΓΚΥΡΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟΝ ΚΥΤΤΟΣΚΕΛΕΤΟ ΔΙΑΤΑΡΑΞΕΤΑΙ ΠΡΟΚΑΛΩΝΤΑΣ ΤΗΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗ.



ΕΙΚΟΝΑ 5^Δ : ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΟΥ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΦΕΡΕΙ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΟΣΕΡΙΝΗ.

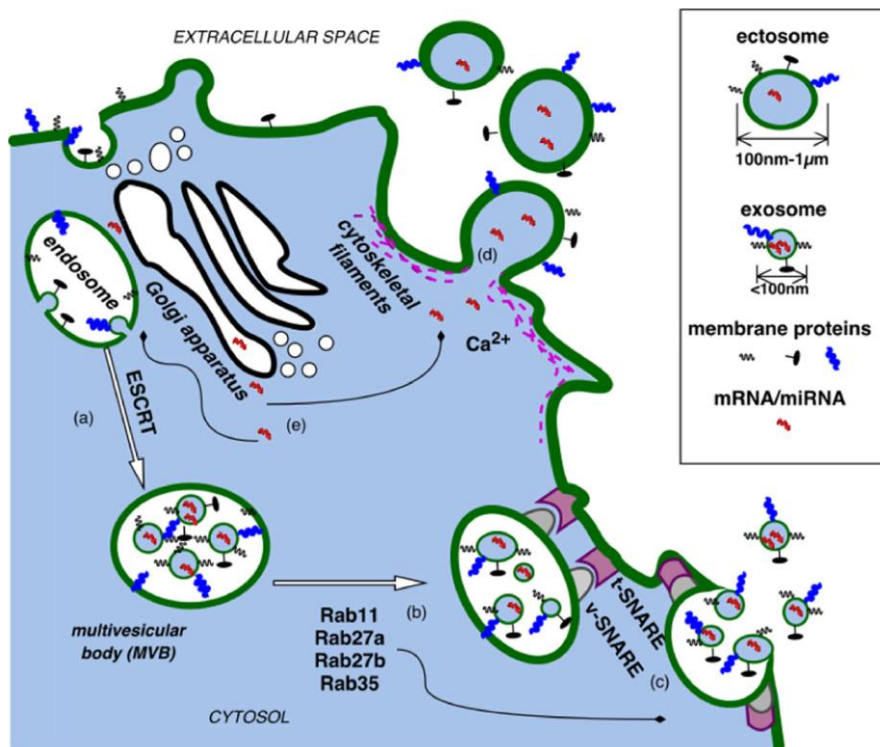
(Πηγή: Piccin et al., 2007, *Blood Rev.* May;21(3):157-71)

4.2 Ταξινόμηση και Ονοματολογία

Τα εξωκυτταρικά κυστίδια όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι μια ετερογενής ομάδα κυρίως σφαιρικών δομών που απελευθερώνονται από ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* και η οποία μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε υποομάδες. ^[129] Η παραγωγή τους αυξάνεται κατά την ενεργοποίηση των κυττάρων, το οξειδωτικό στρες, την υποξία και σε διάφορες άλλες καταστάσεις.^[130,131] Τα εξωκυτταρικά κυστίδια μπορούν να χωριστούν σύμφωνα με το μέγεθος τους, σε εκτοσώματα, ή αλλιώς μικροκυστίδια, που το μέγεθος τους κυμαίνεται ανάμεσα σε 0,1 και 1 μm και τα εξωσώματα που το μέγεθος τους ποικίλει από 30 έως 100 nm. Τα εξωκυτταρικά κυστίδια ωστόσο χωρίζονται συνήθως με βάση την κυτταρική τους προέλευση. Με βάση το παραπάνω κριτήριο κατηγοριοποίησης τα εξωκυτταρικά κυστίδια χωρίζονται σε: τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, τα ερυθροκυτταρικά μικροκυστίδια, τα μικροκυστίδια των ενδοθηλιακών κυττάρων και τα μικροκυστίδια των νεοπλασματικών κυττάρων.^[132] Τα ογκοσώματα είναι ένας άλλος τύπος εξωκυτταρικών σωματιδίων. Αυτά τα σωματίδια είναι αρκετά μεγαλύτερα από τα εκτοσώματα και προέρχονται από μεταναστευτικά καρκινικά κύτταρα.^[133-135]

Τα εξωσώματα είναι σχετικά ομογενή σφαιρικά θραύσματα από το εσωτερικό μεμβρανικό σύστημα του κυττάρου (πολυκυστιδιακά σωματίδια) ^[136,137] και περιέχουν πρωτεΐνες, mRNA, microRNA και λιπίδια.^[129] Τα εξωσώματα που προέρχονται από τα δικτυοερυθροκύτταρα περιεγράφηκαν αρχικά ως εξωκυτταρικά ενδοεντοσωματικά κυστίδια από τον Johnstone το 1987.^[137,138] Περαιτέρω μελέτες που διενεργήθηκαν την δεκαετία του 80 πάνω στα εξωσώματα έδειξαν τον ρόλο τους στις φυσιολογικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης της συμμετοχής τους στην ωρίμανση των ερυθροκυττάρων, μέσω της εξάλειψης ορισμένων υποδοχέων της μεμβράνης.^[138] Τα εξωσώματα προέρχονται από διάφορους τύπους κυττάρων (πχ. αιμοπετάλια, λεμφοκύτταρα, αστροκύτταρα) και μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τις λειτουργίες τους. ^[139-141] Ορισμένα εξωσώματα συμμετέχουν στην εμφάνιση αντιγόνων και στην διέγερση της ανοσολογικής απόκρισης, ενώ άλλα που περιέχουν RNA συμμετέχουν στην ενδοκυτταρική επικοινωνία.^[142,143]

Τα μικροκυστίδια αντίθετα σχηματίζονται κατά την ενεργοποίηση των κυττάρων μέσω αποκοπής τμημάτων της πλασματικής μεμβράνης.^[129,133,137,144] Όλα τα μικροκυστίδια σχηματίζονται από την κυτταρική μεμβράνη, όπως ακριβώς και τα αποπτωτικά σωματίδια που ανήκουν και αυτά στα εξωκυττάρια σωματίδια.^[145,146] Ωστόσο, μπορούν να διακριθούν από τα εκτοσώματα και τα εξωσώματα λόγω της διαφορετικής τους βιογένεσης και δομής. Τα αποπτωτικά σωματίδια είναι 1 με 5 μm σε διάμετρο και σχηματίζονται από την κυστιδιοποίηση της μεμβράνης όταν το κύτταρο υφίσταται απόπτωση, γι' αυτό τον λόγο μπορεί και να περιέχουν πυρηνικά θραύσματα.^[132,147,148,149]



ΕΙΚΟΝΑ 6: ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΞΩΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΕΚΤΟΣΩΜΑΤΩΝ.

(Πηγή: M. ŻMIGRODZKA, *Tumour Biol.* 2016 NOV; 37(11): 14391–14401.)

Μερικές δημοσιεύσεις αναφέρουν ότι όρος αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια πρέπει να αναφέρεται μόνο για κυστίδια που βρίσκονται σε μέγεθος ανάμεσα από 0,05 και 1 μm. Μεγαλύτερα από τα προαναφερθέντα μπορούν να θεωρηθούν ως αιμοπετάλια ή συναθροίσεις αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων ενώ μικρότερα από αυτά στο εύρος 0,04 με 0,08 μm μπορούν να ταξινομηθούν εσφαλμένα ως εξωσώματα προερχόμενα από

αιμοπεταλιακά κοκκία.^[149, 150] Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια αποτελούν το 70% με 90% όλων των μικροκυστιδίων που βρίσκονται στην κυκλοφορία. Περίπου το 10% προέρχεται από τα κοκκιοκύτταρα και μόνο το 5% από τα μονοκύτταρα, ερυθρά αιμοσφαίρια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ενώ τέλος έρευνες έχουν δείξει ότι τα μεγακαρυοκύτταρα καθώς και τα ανώριμα αιμοπετάλια μπορούν να τα σχηματίσουν μικροκυστίδια.^[151/152]

4.3 Δομή των εξωκυττάρων κυστιδίων

Χαρακτηριστικό γνώρισμα των εξωκυττάρων κυστιδίων είναι η έκφραση πρωτεϊνών επιφανείας, οι οποίες είναι ειδικές για τα κύτταρα από τα οποία προήλθαν.^[153] Οι κύριες πρωτεΐνες που βρίσκονται στα εξωσώματα αποτελούνται από μια ομάδα πρωτεϊνών που ονομάζεται τετρασπανίνες (CD9, CD63, CD81 και CD82), λιποδεσμευτικές πρωτεΐνες, MHC τάξεως I και II (Major Histocompatibility complex-κύριο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας), υπεροξειδάσες θειορεδοξίνης II και αντι-αποπτωτικές πρωτεΐνες (γαλακτίνη 3), καθώς ακόμα και πεπτιδάσες επιφανείας (CD13, CD26).^[154,155] Τα εξωσώματα επίσης περιέχουν πρωτεΐνες όπως η ανεξίνη, η κλαθρίνη, πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSP) και κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες όπως η μυσίνη και η ακτίνη. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί η παρουσία ενζύμων και διαφόρων παραγόντων έναρξης της μετάφρασης (eIF4E-eukaryotic translation initiation factor 4E) και επιμήκυνσης (eEF1-eukaryotic elongation factors). Η παρουσία των πρωτεϊνών αυτών στα εξωσώματα καθώς και οι λειτουργίες τους μας αποδεικνύουν ότι τα εξωσώματα δεν θα πρέπει να θεωρούνται απλώς σαν σφαιρικά θραύσματα των μεμβρανών, αλλά σαν υποκυτταρικά σωματίδια τα οποία σχηματίζονται με συγκεκριμένο και οργανωμένο τρόπο.^[156]

Τα μικροσωματίδια από την άλλη πλευρά είναι λιγότερο ομοιογενές δομές. Όπως και τα εξωσώματα περιέχουν διάφορες πρωτεΐνες που μαρτυρούν την προέλευσή τους πχ. CD41 για τα αιμοπετάλια, CD235 για τα ερυθρά αιμοσφαίρια και CD11 για τα δενδριτικά κύτταρα.^[157,158] Οι μεμβράνες των μικροκυστιδίων είναι φτιαγμένες κυρίως από φωσφολιπίδια τα οποία έχουν παρόμοια σύνθεση με αυτά των γονικών τους κυττάρων.^[159] Ωστόσο τα μικροκυστίδια που προέρχονται από τα B κύτταρα, τα δενδριτικά κύτταρα και τα κύτταρα μελανώματος είναι πιο πλούσια σε σφιγγομυελίνη παρά σε χοληστερόλη ή οποία είναι και πιο χαρακτηριστική στα γονικά κύτταρα.^[160] Η

μεμβράνη των μικροκυστιδίων αντανακλά τα στοιχεία της μεμβράνης από το κύτταρο από το οποίο προέρχεται. Ο George και οι συνεργάτες του ποσοτικοποίησαν πολλές διαφορετικές γλυκοπρωτεΐνες στα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, κάποιες από τις οποίες εμφανίζονταν πολύ συχνά όπως η αIIbβ3, GPIb/ IX/V και η P-σελεκτίνη. Ο Sims και οι συνεργάτες του επίσης ανέφεραν την παρουσία των παραπάνω γλυκοπρωτεϊνών.

Πίνακας 1: Προέλευση των μικροκυστιδίων και τα αντιγόνα τους

Προέλευση	Αντιγόνα
Αιμοπετάλια	CD42a (GPIX)
	CD42b (GPIb)
	CD41 (GPIIb/IIIa, αIIbβ3)
	CD61 (GPIIIa)
	CD62P (P-selectin)
Μονοκύτταρα	CD14 (Endotoxin receptor)
Ενδοθηλιακά κύτταρα	CD31 (PECAM-1)
	CD51 (Vitronectin receptor, ανβ3)
	CD54 (ICAM-1)
	CD62E (E-selection)
	CD105 (Endoglin)
	CD144 (VE-Cadherin)
	CD146 (MeICAM)

Τα μικροκυστίδια όπως και τα εξωσώματα περιέχουν RNA το οποίο μπορεί να μεσολαβήσει στην γενετική επικοινωνία ανάμεσα στα κύτταρα. Για παράδειγμα καρκινικά κύτταρα της παγκρεατικής σειράς απελευθερώνουν μικροκυστίδια τα οποία περιείχαν mRNAs και miRNAs. Οι Valadi και συν. απέδειξαν ότι εξωσώματα προερχόμενα από κυτταρικές σειρές μαστοκυτάρων τόσο ανθρώπινης προέλευσης όσο και ποντικής περιείχαν mRNA και miRNA. Το mRNA που βρισκόταν στα εξωσώματα ήταν λειτουργικό, γεγονός που δηλώνει ότι ήταν ικανό να κωδικοποιήσει πολυπεπτίδια με σκοπό την υποστήριξη τη πρωτεϊνοσύνθεσης. Η παρουσία RNA στα εξωσώματα υποδηλώνει ότι τα παραπάνω μπορούν να δρουν σαν οχήματα επικοινωνίας ανάμεσα στα κύτταρα,

μπορώντας έτσι να διαμορφώνουν και την πρωτεϊνική παραγωγή των κυττάρων-δεκτών.

[161]

4.3.1 Δομή και Συστατικά των Αιμοπεταλιακών Μικροκυστιδίων

Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια όπως είναι λογικό περιέχουν πάνω από 40 γλυκοπρωτεΐνες χαρακτηριστικές των αιμοπεταλίων συμπεριλαμβανομένων και δεικτών επιφανείας όπως: GPIIb/IIIa(CD41) και GPIa/IIa(CD49/CD29) , P-σελεκτίνη, CD62, gp53 (CD63) και υποδοχείς που ανευρίσκονται σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (PAC-1).^[162,163-167] Κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων απελευθερώνονται πολλές βιοδραστικές ουσίες που συνήθως φυλάσσονται στα πυκνά και α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Ο Holme και οι συνεργάτες του έχουν δείξει ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια που σχηματίστηκαν μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το ιονοφόρο ασβέστιο A23187 περιέχουν πολλές πρωτεΐνες οι οποίες είναι χαρακτηριστικές των α-κοκκίων των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, όπως η θρομβοσπονδίνη, ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4 και η β-θρομβοσφαιρίνη.^[162,168] Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, ο οποίος απελευθερώνεται φυσιολογικά υπό την δράση του κολλαγόνου ή της θρομβίνης, έχει βρεθεί να σχετίζεται με τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια σε ποσοστό της τάξεως του 90%.^[162,169] Σε ποντίκια με αιμορροφιλία Α, τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια αυξήθηκαν αφού εκχύθηκε σε αυτά P-σελεκτίνη, ενώ σε ασθενείς που χορηγήθηκε ανασυνδυασμένος ενεργοποιημένος παράγοντας VII(rFVIIa) σημειώθηκε μια προσωρινή αύξηση στην απελευθέρωση των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων.^[170] Επίσης τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια έχουν την ικανότητα να ενώνονται με το ινωδογόνο και συμμετέχουν έτσι στον σχηματισμό του θρόμβου.^[171]

Η πυκνότητα των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων εξαρτάται κυρίως από την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των γλυκοπρωτεϊνών. Η πλειονότητα των γλυκοπρωτεϊνών που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη αποτελούνται από υποδοχείς προσκόλλησης, μεταφορείς μεμβράνης και μεταλλοπρωτεάσες. Οι μεταλλοπρωτεάσες αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα πρωτεολυτικών ενζύμων τα οποία είναι ικανά να αποδομούν συστατικά του εξωκυτταρικού χώρου, προωθώντας έτσι την πρόοδο του καρκίνου, διευκολύνοντας την ανάπτυξη του όγκου, την αγγειογένεση και τη μετάσταση.^[172-176]

Η λειτουργία των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων είναι πολλαπλών κατευθύνσεων και η επίδρασή της εξαρτάται από τα κύτταρα που στοχεύουν. Μπορούν να προκαλέσουν χημειοταξία των μονοκυττάρων, η οποία προκαλεί με την σειρά της την έκφραση του ιστικού παράγοντα (TF) στη επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ επίσης επηρεάζουν την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών και νεοπλασματικών αιμοποιητικών κυττάρων. Τέλος έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στην λοίμωξη από τον ιοHIV. [166,167,177-180]

5. ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΚΑΙ ΠΗΞΗ

Ως αιμόσταση ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία το κυκλοφορούμενο αίμα δημιουργεί θρόμβο, είτε είναι φυσιολογική η δημιουργία του για την αποφυγή της αιμορραγίας είτε είναι παθολογική. Οι διαδικασίες της αιμόστασης μπορούν να διαιεθούν σε αυτές που επιταχύνουν την δημιουργία του θρόμβου και σε αυτές που αντισταθμίζουν την προαναφερθείσα διαδικασία.

Η πιθανή προπηκτική λειτουργία των μικροκυστιδίων πιθανά σχετίζεται με την παρουσία της φωσφατιδυλοσερίνης (PS) στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης, όπως επίσης και με την πιθανή παρουσία του ιστικού παράγοντα (TF). Η φωσφατιδυλοσερίνη που σχετίζεται με τα μικροκυστίδια παρέχει μια καταλυτική επιφάνεια για την συναρμολόγηση των ενζυμικών συμπλόκων της πήξης που ξεκινούν και διατηρούν την πήξη.^[181] Αυτή η λειτουργία φαίνεται να αποτελεί την βάση πάνω στην οποία τα μικροκυστίδια λαμβάνουν μέρος τόσο στην φυσιολογική διαδικασία της πήξης όσο και στην παθολογική.^[182] Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι ένα αιμοπεταλιακό μικροκυστίδιο που έχει δημιουργηθεί *ex vivo*, έχει 50 με 100 φορές περισσότερη προπηκτική δραστηριότητα από ένα ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο. ^[183] Ο ιστικός παράγοντας είναι ο βασικός φυσικός εκκινητής της πήξης καθώς αλληλεπιδρά με τον παράγοντα VII και εκφράζεται από τα περισσότερα κύτταρα των αγγειακών τοιχωμάτων εκτός των ενδοθηλίων.^[184] Εντούτοις, ο ιστικός παράγοντας μπορεί να βρεθεί στην κυκλοφορία του αίματος σε πολύ μικρή ποσότητα, μέσω των μονοκυττάρων που πιστεύεται ότι είναι η κύρια πηγή.^[185] Ενώ η παρουσία του ιστικού παράγοντα σε ορισμένα μικροκυστίδια που προέρχονται από μονοκύτταρα και νεοπλασματικά κύτταρα

έχει επιβεβαιωθεί, η έκφραση ενεργοποιημένου ιστικού παράγοντα από τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια και τα μικροκυστίδια του ενδοθηλίου είναι ακόμα υπό μελέτη.^[186,187] Αν και ένα μικρό κλάσμα το ολικού ιστικού παράγοντα βρίσκεται στο αίμα, ο ιστικός παράγοντα που προέρχεται από τα μικροκυστίδια φαίνεται να είναι λειτουργικά ενεργός και κατ' επέκταση να συμβάλει και στην προπηκτική φύση των μικροκυστιδίων.

Τα πιο πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν επίσης ένα ρόλο για τα μικροκυστίδια, που υποστηρίζουν την πήξη ανεξάρτητα από τον ιστικό παράγοντα και την εξωγενή οδό της πήξης. Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια και τα μικροκυστίδια ερυθρών αιμοσφαιρίων που παράχθηκαν *ex vivo*, έχουν δείξει ότι μπορούν να εκκινούν και να υποστηρίζουν την παραγωγή της θρομβίνης μέσω ενός εξαρτώμενου από τον παράγοντα XII τρόπο, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι προπηκτικές ικανότητες των μικροκυστιδίων καταργούνται όταν ο παράγοντας XII αναστέλλεται.^[188] Παρομοίως τα μικροκυστίδια, που προέρχονται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, στην δρεπανοκυτταρική νόσο και στις τράπεζες αίματος έχει αποδειχθεί ότι προάγουν την πήξη μέσω της ενδογενούς οδούς με έναν τρόπο που εξαρτάται από τον παράγοντα XI, γεγονός που καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η αναστολή του παράγοντα XI επιφέρει και την κατάργηση των προπηκτικών ιδιοτήτων των μικροκυστιδίων.^[188-190]

Αυτά τα ευρήματα ρίχνουν νέο φως στις δυνατότητες των μικροκυστιδίων όσο αναφορά τις προπηκτικές τους ιδιότητες.

Εκτός από τις προπηκτικές λειτουργίες των μικροκυστιδίων, πρόσφατα ευρήματα έχουν δείξει την ικανότητά τους να ρυθμίζουν την πήξη μέσω αντιπηκτικών και ινωδολυτικών μηχανισμών. Έχει αποδειχθεί ότι τα μικροκυστίδια φέρουν ένα ενεργό αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα στην μεμβράνη τους^[191,192] καθώς και ότι δρουν υποστηρικτικά στην δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C και πρωτεΐνης S καθώς η επιφάνεια των μικροσωματιδίων που προέρχονται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι κατάλληλη για τις αντιπηκτικές αντιδράσεις των πρωτεϊνών αυτών.^[193,194] Επίσης νεότερα στοιχεία αποδεικνύουν ότι τα μικροκυστίδια συμβάλλουν στην παραγωγή της πλασμίνης, μιας ουσίας που βοηθά στην κατακερμάτιση των θρόμβων. Αυτές οι πιο πρόσφατες ανακαλύψεις καταδεικνύουν ένα πιο πολύπλοκο ρόλο των μικροκυστιδίων

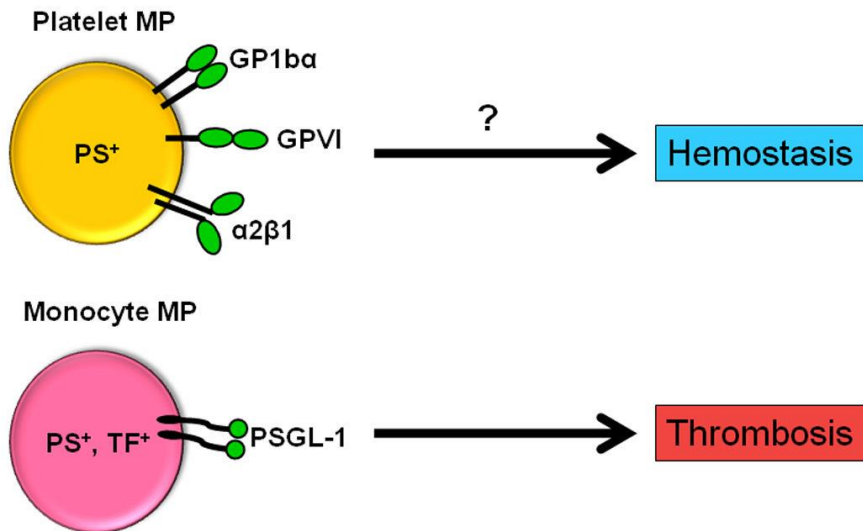
στην πήξη, όπου είναι πιθανό ότι η ισορροπία μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών ιδιοτήτων προσδιορίζει εν τέλει και την καθαρή τους επίδραση στην αιμόσταση και την θρόμβωση.^[195,196]

5.1 Προ-πηκτική λειτουργία Μικροκυστιδίων

Σε συνδυασμό με όσα προαναφέρθηκαν, η ικανότητα της δημιουργίας μικροκυστιδίων είναι βασικό στοιχείο της παθοφυσιολογίας της αιμόστασης, γεγονός που αποδεικνύεται και από το σύνδρομο Scott, μια ασθένεια που προκαλεί αιμορραγικές παθήσεις. Τα αμινοφωσfolιπίδια στην μεμβράνη των μικροκυστιδίων που προέρχονται από τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα παρέχουν έναν μεγάλο αριθμό θέσεων πρόσδεσης για τους παράγοντες IXa, VIII, Va και IIa.^[191,195-197] Επιπλέον τα μικροκυστίδια που προέρχονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, εκφράζουν μεγάλα πολυμερή του παράγοντα VonWillebrand, τα οποία προάγουν την αιμοπεταλιακή συσσώρευση και σταθερότητα. Ο παράγοντας VonWillebrand ο οποίος δεσμεύεται από τα μικροκυστίδια που προέρχονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, έχει αναφερθεί ότι συνδέεται πιο εύκολα με του υποδοχείς του VWF των αιμοπεταλίων παρά με τον διαλυτό VonWillebrand.^[198] Επίσης διάφορες άλλες ιδιότητες των μικροκυστιδίων παρέχουν πρόσθετες προπηκτικές δυνατότητες, όπως η έκφραση της P σελεκτίνης στην επιφάνεια των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων και η έκφραση του ιστικού παράγοντα στην επιφάνεια των μικροκυστιδίων των μονοκυττάρων.^[199]

5.1.1 Φωσφατιδυλοσερίνη PS και Μικροκυστίδια

Τα αιμοπετάλια είναι γνωστό ότι μεσολαβούν στην πρωτογενή αιμόσταση. Ένα από τα βασικά συμβάντα στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι η έκθεση της φωσφατιδυλοσερίνης στην επιφάνειά τους. Κατά αναλογία τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια που εξωτερικεύουν τη φωσφατιδυλοσερίνη μπορούν να θεωρηθούν ως μια μικρότερη έκδοση ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και να εκφράσουν υποδοχείς τόσο για το κολλαγόνο όσο και για τον παράγοντα VonWillebrand.



ΕΙΚΟΝΑ 7: ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟΙ ΡΟΛΟΙ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΙ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΘΡΟΜΒΩΣΗ. ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΤΗΝ PS ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΑΙΖΟΥΝ ΡΟΛΟ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΜΠΟΡΕΙ ΑΚΟΜΑ ΝΑ ΕΝΙΣΧΥΟΥΝ ΤΗΝ ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ. ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΑ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΟΥΝ ΣΤΗΝ ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΝΑ ΕΧΟΥΝ ΕΝΑΝ ΜΙΚΡΟ ΡΟΛΟ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ. (Πηγή: Owens AP & Mackman., 2011 *N. Circ Res.* May 13;108(10):1284-97.)

Επομένως, έχει προταθεί ότι τα μικροκυστίδια παίζουν σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση.^[200] Ωστόσο είναι πολύ δύσκολο να διαχωριστούν οι ρόλοι των αιμοπεταλίων και των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στην αιμόσταση. Αυτό ισχύει και για τα μικροκυστίδια που προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα. Ασθενείς με βλάβη Castaman και σύνδρομο Scott έχουν την τάση να αιμορραγούν γεγονός που φαίνεται να οφείλεται σε βλάβες στην ικανότητα των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων να μετατοπίσουν την φωσφατιδυλοσερίνη στην επιφάνεια των κυττάρων.^[201,202] Τα αιμοπετάλια αυτών των ασθενών έχουν επίσης μια δυσκολία στην δημιουργία μικροκυστιδίων που φέρουν φωσφατιδυλοσερίνη στην επιφάνειά τους, γεγονός που πιθανότατα σημαίνει ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια παίζουν και αυτά με την σειρά τους σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση. Παρόλα αυτά όμως χρειάζονται περαιτέρω έρευνες για να επιβεβαιωθεί αναμφίβολα ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια είναι απαραίτητα για την αιμόσταση.

5.1.2 Ιστικός Παράγοντας και Μικροκυστίδια

Υστερα από τον τραυματισμό ενός αγγείου ο εξωαγγειακός ιστικός παράγοντας έρχεται σε επαφή με το αίμα και ο καταρράκτης της πήξης ενεργοποιείται με σκοπό την δημιουργία θρόμβου. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι σε έλλειψη του ιστικού παράγοντα ή του παράγοντα VII οδηγεί στο θάνατο, γεγονός που σημαίνει ότι το σύμπλοκο του ιστικού παράγοντα και του παράγοντα VII είναι απαραίτητο για την αιμόσταση.^[203] Ο καταρράκτης της πήξης μπορεί να χωριστεί σε δύο φάσεις, την έναρξη και τη διάδοση.^[204] Το σύμπλοκο του παράγοντα VII και του ιστικού παράγοντα που ανήκει στην εξωγενή οδό του καταρράκτη της πήξης είναι ο κύριος ενεργοποιητής αυτής και παράγει μια μικρή ποσότητα θρομβίνης. Σε αντίθεση με την ενδογενή οδό και τους αντίστοιχους παράγοντες που την αποτελούν, ο ρόλος της είναι η περαιτέρω παραγωγή θρομβίνης με εκθετικό ρυθμό. Αυτές οι δυο φάσεις μπορούν να χωριστούν εύκολα εργαστηριακά ωστόσο *in vivo* αυτή η διαδικασία είναι πιο πολύπλοκη.

Τα χαμηλά επίπεδα του ιστικού παράγοντα σε ένα υποσύνολο μη ενεργοποιημένων μονοκυττάρων μαζί με τον κυκλοφορούμενο ιστικό παράγοντα που βρίσκεται στα μικροκυστίδια, μπορεί να παίζει ρόλο στην αιμόσταση διατηρώντας μια χαμηλή σε ενέργεια αρχική φάση της αιμόστασης.^[205] Επιπλέον έχει προταθεί ότι ο ιστικός παράγοντας που φέρουν τα μικροκυστίδια συμβάλει στην ανάπτυξη του θρόμβου. Η συμβολή των μικροκυστιδίων λαμβάνει χώρα καθώς, μετά τον τραυματισμό του τοιχώματος ενός αγγείου ο ιστικός παράγοντας θα ενεργοποιήσει την διαδικασία της πήξης, αλλά στην συνέχεια θα καλυφθεί από τα αιμοπετάλια και το θρόμβο με αποτέλεσμα να μην μπορεί λάβει μέρος στην πήξη.^[206] Σε αυτό το σημείο, ο ιστικός παράγοντας που είναι δεσμευμένος από τα μικροκυστίδια μπορεί να αποτελέσει μια εναλλακτική πηγή η οποία θα χρησιμοποιηθεί για την μετέπειτα αύξηση του θρόμβου.

Ωστόσο υπάρχουν επιχειρήματα υπέρ και κατά της παραπάνω άποψης. Οι ερευνητές που είναι ενάντια αυτής της άποψης υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα του ιστικού παράγοντα των μικροκυστιδίων, σε υγιή άτομα είναι πολύ χαμηλά για να συμβάλλουν στην παραγωγή θρομβίνης παρουσία μιας άθικτης ενδογενούς οδού. Η υποστήριξη αυτής της άποψης προκύπτει από *in vitro* πειράματα που χρησιμοποιούσαν ολικό αίμα, τα οποία έδειξαν ότι ο ανεφοδιασμός ιστικού παράγοντα σε μια αντίδραση πήξης προκαλούμενη από τον ιστικό παράγοντα δεν ενίσχυσε την παραγωγή της θρομβίνης.^[207]

Ομοίως, διαπιστώθηκε ότι η παρουσία ιστικού παράγοντα των μικροκυστιδίων στο πλάσμα δεν άλλαξε την γενική παραγωγή θρομβίνης σε βαθμονομημένη αυτοματοποιημένη δοκιμασία θρομβογραφίας.^[208] Όσοι είναι υπέρ της ιδέας ότι ο ιστικός παράγοντας των μικροκυστιδίων μπορεί να συνεισφέρει στην ανάπτυξη του θρόμβου, υποστηρίζουν ότι απαιτείται ροή για την παροχή των μικροκυστιδίων, που φέρουν τον ιστικό παράγοντα, στον θρόμβο. Μια μελέτη διαπίστωσε ότι αυξάνοντας τον αριθμό των μικροκυστιδίων, εκ των οποίων ορισμένα φέρουν ιστικό παράγοντα, στην κυκλοφορία αποκαθίσταται η αιμόσταση σε ποντίκι με αιμορροφιλίαΑ.^[209]

Μια πρόσθετη πολυπλοκότητα στην ανάλυση του ρόλου του ιστικού παράγοντα των μικροκυστιδίων στην αιμόσταση είναι ότι τα μεγαλύτερα αγγεία περιέχουν περισσότερο ιστικό παράγοντα από τα μικρότερα αγγεία. Στα μεγαλύτερα αγγεία υπολογίζεται ότι η αναλογία ιστικού παράγοντα στα τοιχώματα των αγγείων και του ιστικού παράγοντα που φέρεται στα μικροκυστίδια είναι 1000/1 σε υγιή άτομα.^[209] Αυτό υποδηλώνει ότι τα κυκλοφορούντα μικροκυστίδια είναι πιο πιθανό να συμβάλλουν στην αιμόσταση στα μικρά αγγεία και επίσης σε όργανα που εκφράζουν χαμηλά επίπεδα ιστικού παράγοντα, όπως το ήπαρ και οι σκελετικοί μύες.^[203] Ωστόσο πρέπει να αποσαφηνιστεί ότι τα μικροκυστίδια που φέρουν ιστικό παράγοντα δεν είναι απαραίτητα για την αιμόσταση στα υγιή άτομα. Τέλος μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο ιστικός παράγοντας των μικροκυστιδίων μπορεί να συνεισφέρει στην αιμόσταση επιφανειακών τραυμάτων.^[210]

5.2 Σχέσεις Αιμόστασης, Θρόμβωσης και Μικροκυστιδίων

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια παίζουν ρόλο στην αιμόσταση. Το σύνδρομο Castamanto οποίο χαρακτηρίζεται από αδυναμία παραγωγής αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων σχετίζεται με την εμφάνιση αιμορραγίας^[211,212]. Επίσης αιμοπετάλια που προέρχονται από ασθενείς με σύνδρομο Scott αδυνατούν να παράξουν αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια και παρουσιάζουν κατ' επέκταση αιμορραγική διάθεση. Αρχικά η έκθεση των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στην φωσφολιπάση A2 έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος, το οποίο στη συνέχεια μεταβολίζεται από τα

αιμοπετάλια σε θρομβοξάνη A₂.^[213] Αυτή η διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων προωθώντας έτσι τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο Berckmans και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα περισσότερα μικροκυστίδια που προέρχονται από κύτταρα που κυκλοφορούν σε υγιή άτομα φέρουν το CD41 και τα συγκεκριμένα μικροκυστίδια προάγουν την παραγωγή μικρών ποσοτήτων θρομβίνης ακόμα και όταν υπάρχει παρουσία ανασταλτικών αντισωμάτων του ιστικού παράγοντα και των παράγοντα VII. Οι συγγραφείς της παραπάνω μελέτης υποθέτουν ότι η χαμηλή παραγωγή της θρομβίνης από τα μικροκυστίδια μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C και έτσι να έχει ένα αντιπηκτικό αποτέλεσμα. Λαμβάνοντας τα παραπάνω υπόψη δεν μπορούμε να καταλήξουμε με σιγουριά εάν τα μικροκυστίδια που φέρουν το CD41 έχουν ηπηκτικές ή αντιπηκτικές ιδιότητες.^[214,215]

Εφόσον τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια έχουν μεγάλη προπηκτική δράση, έχει αναφερθεί ότι μπορούν να συνεισφέρουν στην παθογένεια της αρτηριακής θρομβωτικής νόσου. Επίσης διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα κυκλοφορούντα μικροκυστίδια παρέχουν ένα πιθανό προγνωστικό δείκτη για την αθηροσκληρωτική αγγειακή νόσο.^[216] Η P-σελεκτίνη και το CD63 που εκφράζονται στα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια βοηθούν στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στην περιφερική αρτηριακή νόσο και στο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ο Michelsen και οι συνεργάτες του έδειξαν αυξημένα επίπεδα αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων σε ασθενείς που παρουσίασαν έμφραγμα του μυοκαρδίου.^[217] Επίσης έδειξαν μια σημαντική ανεξάρτητη σχέση ανάμεσα σε μεγάλα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, σύμπλοκα θρομβινανθρωμίνης και διαλυτών συμπλόκων CD40 σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου αλλά όχι σε φυσιολογικούς μάρτυρες. Ακόμα μια πρόσφατη έρευνα από τον Chironi και τους συνεργάτες του έδειξε ότι η διάμετρος της εσωτερικής και εξωτερικής καρωτιδικής αρτηρίας συσχετίστηκε αρνητικά με μικροσωματίδια που προέρχονται από αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα και λευκοκύτταρα.^[218] Ωστόσο παραμένει ασαφές εάν τα μικροκυστίδια συμβάλλουν στην αναδιαμόρφωση της αρτηρίας ή απλά αντιπροσωπεύουν την κατάσταση ενεργοποίησης των κυττάρων από τα οποία προέρχονται.

5.3 Κλινικές Περιπτώσεις και Μικροκυστίδια

Θρομβοκυτοπενία προκαλούμενη από ηπαρίνη

Η θρομβοκυτοπενία που οφείλεται σε ηπαρίνη είναι μια ανοσοδιεγερμένη διαδικασία που λαμβάνει χώρα ύστερα από την έκθεση σε ηπαρίνη. Στο συγκεκριμένο σύνδρομο παράγονται αντισώματα IgG τα οποία συνδέονται στο PF4 στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Το σύμπλοκο που προκύπτει, ηπαρίνη-IgG-PF4, συνδέεται με τους αιμοπεταλιακούς υποδοχείς προκαλώντας την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια παρέχουν μια προπηκτική επιφάνεια εκθέτωντας την Ρ-σελεκτίνη και τη φωσφατιδυλοσερίνη, ενώ ταυτόχρονα παράγουν μικροκυστίδια τα οποία με την σειρά τους φέρουν τις ίδιες πρωτεΐνες στην επιφάνειά τους. Επιπλέον το σύμπλοκο ηπαρίνη-IgG-PF4 μπορεί να συνδεθεί και να ενεργοποιήσει άμεσα τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία με την σειρά τους συμβάλλουν στην προπηκτική κατάσταση.^[219,220]

Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα

Η θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα χαρακτηρίζεται από την αποτυχία διάσπασης των μεγάλων πολυμερών του παράγοντα VW στην κυκλοφορία. Υπό φυσιολογικές συνθήκες αυτά τα ιδιαίτερα προ-θρομβωτικά πολυμερή απελευθερώνονται από τα σώματα Weibel-Palade τα οποία βρίσκονται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα και πρωτεωλύονται ταχέως από μεταλλοπρωτεάσες του πλάσματος.

Συγγενείς ή επίκτητες ποσοτικές και ποιοτικές ελλείψεις των πρωτεασών αυτών οδηγούν στην θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, με τον σχηματισμό ταυτόχρονα μεγάλων αιμοπεταλιακών συσσωμάτων δεσμευμένων με τον παράγοντα VonWillebrand.^[221] Κατά την οξεία και την χρόνια φάση της θρομβωτικής θρομβοπενικής πορφύρας παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων τα οποία εκφράζουν την καλπαΐνη στην επιφάνειά τους.^[222] Επιπλέον έχει περιγραφεί ότι κατά την θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα μικροκυστιδίων τα οποία προέρχονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Στην ίδια έρευνα παρατηρήθηκε και ότι τα κυκλοφορούμενα μικροκυστίδια των ενδοθηλιακών κυττάρων μπορεί να είναι ένας πρώιμος δείκτης της θρομβωτικής θρομβοπενικής πορφύρας πριν ακόμα την θρομβοκυταροπενία και την αυξημένη LDH.^[223] Η ενεργοποίηση της καλπαΐνης έχει συσχετιστεί ισχυρά με την πρώιμη παραγωγή μικροκυστιδίων στην θρομβωτική

θρομβοπενική πορφύρα. Το συγκεκριμένο ένζυμο φαίνεται να εμπλέκεται στην αρχική αποβολή των αιμοπεταλιακών υποδοχέων όπως ο GP Ib-IX και στην καταστροφή της σύνδεσης ανάμεσα στην κυτταρική μεμβράνη και τον κυτταροσκελετό. [224] Πρόσφατες *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι τα ενδοθηλιακά μικροκυστίδια φέρουν τον παράγοντα VonWillebrand και μπορούν να επάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων πολύ πιο σταθερά σε σχέση με την επαγωγή που κάνει ο παράγοντας VonWillebrand μόνος του. [225]

Καρδιαγγειακές παθήσεις

Τα κυκλοφορούμενα μικροσωματίδια αντικατοπτρίζουν την ενεργοποίηση ή τον τραυματισμό των κυκλοφορούντων κυττάρων ή των κυττάρων του αγγειακού συστήματος. Επομένως, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι οι ασθένειες του αγγειακού συστήματος μπορούν να προκαλέσουν ανιχνεύσιμες μεταβολές στη σύνθεση κυκλοφορούντων μικροσωματιδίων που προέρχονται από κυκλοφορούντα κύτταρα αίματος ή αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα. Εμφανείς μεταβολές στα κυκλοφορούντα μικροκυστίδια έχουν αναφερθεί στην στεφανιαία νόσο, στα εγκεφαλικά επεισόδια, στο αορτικό ανεύρυσμα και στην φλεβική θρομβοεμβολή. Η μέτρηση και ο χαρακτηρισμός των κυκλοφορούντων μικροσωματιδίων μπορεί να προσφέρει χρησιμότητα στο μέλλον στην ανίχνευση και διάγνωση της νόσου, στη μελέτη της παθοφυσιολογίας ή στην εξέλιξη της νόσου και στην εκτίμηση της απόκρισης στη θεραπεία.

Εγκεφαλικό επεισόδιο

Αυξημένα επίπεδα αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων έχουν αναφερθεί σε εγκεφαλικά αγγειο-αποφρακτικά συμβάντα σε μικρά και μεγάλα αγγεία όπως ακόμα και σε πολυεμφρακτική άνοια. [226] Η χρήση αντι-αιμοπεταλιακών παραγόντων δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων, ωστόσο η θεραπεία με νιφεδιπίνη συσχετίζεται με μείωση των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη έρευνα, η παρατήρηση αυξημένων αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων σε αυτούς τους ασθενείς παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε εγκεφαλοαγγειακά επεισόδια.

Εν τω βάθει θρόμβωση και πνευμονική εμβολή

Ο Heresi και οι συνεργάτες έδειξαν ότι τα ενδοθηλιακά μικροκυστίδια (CD31+, CD51+,CD54+, CD62+) και τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια (CD42 +) αύξησαν τα επίπεδά τους σε ασθενείς με φλεβική θρομβοεμβολή, ενώ αυξημένα επίπεδα CD11b βρέθηκαν σε ασθενείς ανέπτυξαν πνευμονική εμβολή.^[227] Ο Rectenwald σε πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων σε συνδυασμό με τα D-Dimers και την P σελεκτίνη σχετίζονται σημαντικά στην διάγνωση της εν τω βάθει θρόμβωσης.^[228] Τα μικροσωματίδια μπορούν να λειτουργήσουν ως καταλυτική επιφάνεια για τον σχηματισμό της προθρομβινάσης και της τενάσης στην κυκλοφορία, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει την σχέση των μικροσωματιδίων μετά την φλεβική θρομβοεμβολή.^[229] Παρόλα αυτά τα μικροκυστίδια έχουν αναφερθεί ως φορείς για τον αναστολέα του ιστικού παράγοντα , ο οποίος έχει την τάση να μειώνει το σχηματισμό θρόμβου.^[230] Το αν η ισορροπία ανάμεσα στα μικροκυστίδια που εκφράζουν τον ιστικό παράγοντα και σε αυτά που εκφράζουν τον αναστολέα του παρέχουν έναν φυσιολογικό ή παθολογικό ρόλο στην δημιουργία ή την πρόληψη της ενδοαγγειακής θρόμβωσης, δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Ακόμα είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα μικροκυστίδια δεν παίζουν ρόλο μόνο στην δημιουργία του θρόμβου αλλά και στην αναδιοργάνωση του θρόμβου μετά από φλεβική θρόμβωση. Επιπροσθέτως οι P και E σελεκτίνες (γλυκοπρωτεΐνες πρόσφυσης που υπάρχουν στα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα) έχει αποδειχθεί ότι αυξάνονται σε θρομβωτικά επεισόδια.^[231]

6. ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΚΑΙ Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΙΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ

Εάν τα καρκινικά κύτταρα είναι ικανά να προκαλέσουν παραγωγή αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων λόγω της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων μέσω πολλαπλών μηχανισμών, τότε τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια είναι σε θέση να αλληλεπιδρούν σημαντικά με τους όγκους, μέσα από ένα πλήθος άμεσων και έμμεσων μηχανισμών που οδηγούν στον πολλαπλασιασμό, τη σύνθεση και τη διάδοσή τους. Με βάση τα παραπάνω, τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια μπορούν να αποτελέσουν το στόχο της αντικαρκινικής θεραπείας. Είναι πλέον γνωστό ότι μετά από διάφορους λειτουργικούς μηχανισμούς τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τα παραγόμενα από αυτά μικροκυστίδια φέρουν υποδοχείς στην μεμβράνη τους και απελευθερώνουν προπηκτικά μόρια τα οποία προκαλούν εξέλιξη και μεταστάσεις του καρκίνου.^[232-234]

Έχει περιγραφεί μια άμεση επιφανειακή αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων και καρκινικών κυττάρων κατά την οποία αιμοπετάλια που φέρουν την Ρ-σελεκτίνη συνδέονται με ένα μεγάλο αριθμό καρκινικών κυττάρων, βοηθώντας τη διακίνησή τους στην κυκλοφορία κατά την διαδικασία της μετάστασης και στη συνέχεια στη σύνδεσή τους με το ενδοθήλιο. Στην κυκλοφορία τα καρκινικά κύτταρα συχνά επικαλύπτονται από αιμοπετάλια τα οποία εκφράζουν ένα φυσιολογικό μόριο ΜΗC-I προστατεύοντας έτσι τα καρκινικά κύτταρα καθώς δεν επιτρέπουν σε αυτά να φανερώσουν τα καρκινικά αντιγόνα τους με αποτέλεσμα να ξεφεύγουν από το ανοσολογική απόκριση των Τ-κυττάρων.^[235,236] Ωστόσο δεν έχει ακόμα αποδειχτεί ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια που εκφράζουν του ίδιους δείκτες εμπλέκονται σε αυτήν την επικάλυψη των καρκινικών κυττάρων. Παρόλα αυτά τα αιμοπετάλια και τα μικροκυστίδια που προέρχονται από αυτά είναι πιθανόν να μεσολαβούν σε αυτό το σύμπλοκο αιμοπεταλίων και όγκου, γεγονός που βοηθά στην μικροκαγγειακή αγγείωση των καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες περιοχές κατά την διαδικασία της μετάστασης.^[237]

6.1 Συσχετισμοί Μικροκυστιδίων στην ανάπτυξη του Όγκου

Λόγω της περιεκτικότητας σε αγγειοδραστικές ουσίες και αυξητικούς παράγοντες, που βρίσκονται εγκλωβισμένα εντός των πολυάριθμων κοκκίων τους, τα

αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στην ιστική επιδιόρθωση, την αγγειογένεση, την ιστική αναδόμηση και τέλος στην οργανική αναγέννηση.^[238] Όσον αναφορά στα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια και στην ικανότητά τους να επιδιορθώνουν ιστούς δεν γνωρίζουμε ακόμα πολλά, ωστόσο ο ενεργός ρόλος τους στην αγγειογένεση και στην αναδιαμόρφωση είναι μη αμφιλεγόμενος. ^[239]Λειτουργικά δρουν σαν λιποσώματα παραδίδοντας ποσότητες αυξητικού παράγοντα σε διάφορους ιστούς, στοχεύοντας κυρίως στην ενδοθηλιακή επιδιόρθωση και στην αναγέννηση του ιστού.^[240] Παραδόξως, εάν ο αυξητικός παράγοντας παραδοθεί σε ένα μικροπεριβάλλον καρκινικών κυττάρων, αυτό θα έχει ως συνέπεια την αγγειογένεση βοηθώντας έτσι την καθιέρωση του όγκου στο αρχικό σημείο που βρισκόταν και κατ' επέκταση την μετάστασή του.^[241]

Στην πραγματικότητα το κύριο ερώτημα είναι εάν τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια και μεταφέρουν αυξητικούς παράγοντες, προπηκτικά μόρια, κυτταρικούς υποδοχείς, microRNAs και προφλεγμονώδες παράγοντες συνεισφέρουν με παρόμοιο τρόπο στην ανάπτυξη του όγκου όπως και τα αιμοπετάλια.^[242,243] Ο καρκίνος δεν μπορεί να αναπτυχθεί πέρα από ένα περιορισμένο μέγεθος χωρίς την επαρκή παροχή αίματος. Τα καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα είναι ικανά να αναπτύσσονται και να κάνουν μεταστάσεις, ενώ εκείνα τα οποία δεν εκφράζουν τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα στηρίζονται σε αυτόν που τους παρέχεται από τα αιμοπετάλια και τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια. Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια έχειδειχθεί ότι σε μη καρκινικά ισχαιμικά πειραματικά μοντέλα ενισχύουν την αγγειογένεση χάρη στον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα που περιέχουν.^[244] Επομένως, η ικανότητα των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων να ενισχύουν την αγγειογένεση προκαλείται μέσω του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα και η ικανότητα του όγκου να ενισχύει την αγγειογένεση μέσω του αυξητικού παράγοντα που προέρχεται από τα αιμοπετάλια, του TGF-β-1 και του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών που έχουν επίσης προαγγειογενετικές δραστηριότητες. ^[245]Κλινικά παθολογικά δεδομένα επίσης προτείνουν ότι οι λεμφαδένες είναι μια ουσιαστική οδός για την διάδοση του καρκίνου παρέχοντας ακόμα και πληροφορίες για την σωστή σταδιοποίηση του καρκίνου. Η λεμφαγγειογένεση είναι εν μέρει υπό τον έλεγχο του

αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα ο οποίος θα μπορούσε να παρέχεται στο περιβάλλον του όγκου από τα αιμοπεταλιακά μικροκυτίδια. [246]

Μια διαφορετική ομάδα επιστημών διαπίστωσε ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυτίδια έχουν μια αντι-αποπτωτική επίδραση στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας του ανθρώπου τα οποία εξαρτώνται από την συγκέντρωση της θρομβίνης [247]. Έχει αποδειχθεί επίσης ότι αυτός ο μηχανισμός ελέγχεται από τις διαδικασίες που είναι κρίσιμες για την επαγωγή της απόπτωσης. Αρχικά η ανεξίνη Ι η οποία βρίσκεται στα ενδοθηλιακά μικροκυτίδια συμμετέχει στην εσωτερίκευσή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ενός υποδοχέα της φωσφατιδυλοσερίνης. Στην συνέχεια, η αναστολή της απόπτωσης περιλαμβάνει την παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του p38, προκαλεί τη ενεργοποίηση της MAPK φωσφατάσης 1 (MKP-1) και εσωτερικεύει τα ενδοθηλιακά μικροκυτίδια τα οποία φέρουν τα αντιαποπτωτικά και προ-αγγειογενετικά microRNA (mir126, miR296,). [248,249]

6.1.1 Μικροκυτίδια και Μετάσταση του Όγκου

Ο σχηματισμός απομακρυσμένων μεταστάσεων προϋποθέτει ότι τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να περάσουν μέσα από τα τοιχώματα των αγγείων, να επιβιώσουν στην κυκλοφορία και τέλος να πολλαπλασιαστούν στον χώρο που λαμβάνει μέρος η νέα μετάσταση. Ο Bakewell πρότεινε ότι η ιντεγκρίνη β3 παίζει σημαντικό ρόλο στην δημιουργία των μεταστάσεων. Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι ανταγωνιστές αιμοπεταλιακών υποδοχέων ποντικών είχαν προστατευτικό ρόλο στη δημιουργία μεταστάσεων στα κόκαλα και σε άλλα όργανα, λόγω των ανασταλτικών ιδιοτήτων τους στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αιμοπεταλίων και των καρκινικών κυττάρων καθώς και των αιμοπεταλίων μεταξύ τους. [250] Οι αλληλεπιδράσεις των καρκινικών κυττάρων και των αιμοπεταλίων που οδηγούν στην μετάσταση βασίζονται στην ικανότητα των αιμοπεταλίων να προσκολλώνται στο αγγειακό ενδοθήλιο που έχει υποστεί βλάβη καθώς ακόμα και στην ικανότητα να ελέγχουν την παρακρινική ρύθμιση του πολλαπλασιασμού και ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Έτσι με βάση τα παραπάνω η συμβολή των αιμοπεταλιακών μικροκυττιδίων στην μετάσταση των όγκων είναι πιθανό να λειτουργεί με παρόμοιο τρόπο.

Σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, η ενδοφλέβια έγχυση αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων καλυπτόμενων από καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα, ενεργοποίησε μια σημαντική αύξηση στο μεταστατικό τους δυναμικό.^[251] Προπηκτικά αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια μπορούν επίσης να επηρεάσουν το μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού και σχετίζονται με μεγαλύτερους σε μέγεθος όγκους.^[252] Ακόμη, τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια προωθούν την ικανότητα του καρκίνου του προστάτη να εισβάλει στους ιστούς, τουλάχιστον εν μέρει με την διέγερση της παραγωγής της μεταλλοπρωτεάσης-2 και μπορούν να έχουν προβλεπτική αξία σε ασθενείς με ορμονοανθεκτικό καρκίνο του προστάτη υπό θεραπεία με δοσιταξέλη.^[253] Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω είναι ξεκάθαρο ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη του όγκου.^[254]

Ο ρόλος που παίζει η P-σελεκτίνη των αιμοπεταλίων στην ενδοσύνθεση του όγκου και των κακοήθων κυττάρων κατά την μετάσταση είναι γνωστός.^[255] Αν και ορισμένα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια εκφράζουν CD-62 άρα επομένως και P-σελεκτίνη, ο ρόλος της P-σελεκτίνης, που προέρχεται από τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια, στην μεταστατική διαδικασία παραμένει να καθοριστεί. Η ενδοαγγειακή μετανάστευση του όγκου επίσης εν μέρει προκαλείται και υποβοηθάται από τα αιμοπετάλια τα οποία επικαλύπτουν τον όγκο που έχει κάνει την μετάσταση, σχηματίζοντας συσσωματώματα αιμοπεταλίων και καρκινικών κυττάρων τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις φέρουν και κύρια μόρια ιστοσυμβατότητας-1 (MHCI) προερχόμενα από τις μεμβράνες των αιμοπεταλίων.^[256]

Δεν είναι ακόμα γνωστό εάν τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια λαμβάνουν μέρος στην παραπάνω διαδικασία ή στη διαδικασία πρόσφυσης του όγκου στα αγγειακά τοιχώματα με σκοπό την καθιέρωση μιας μετάστασης. Επιπλέον, το ATP που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια που σχετίζονται με τον όγκο κατά την διαδικασία της δημιουργίας των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στο αίμα διευκολύνει την μετάσταση του καρκίνου χαλαρώνοντας το ενδοθηλιακό φραγμό.^[257]

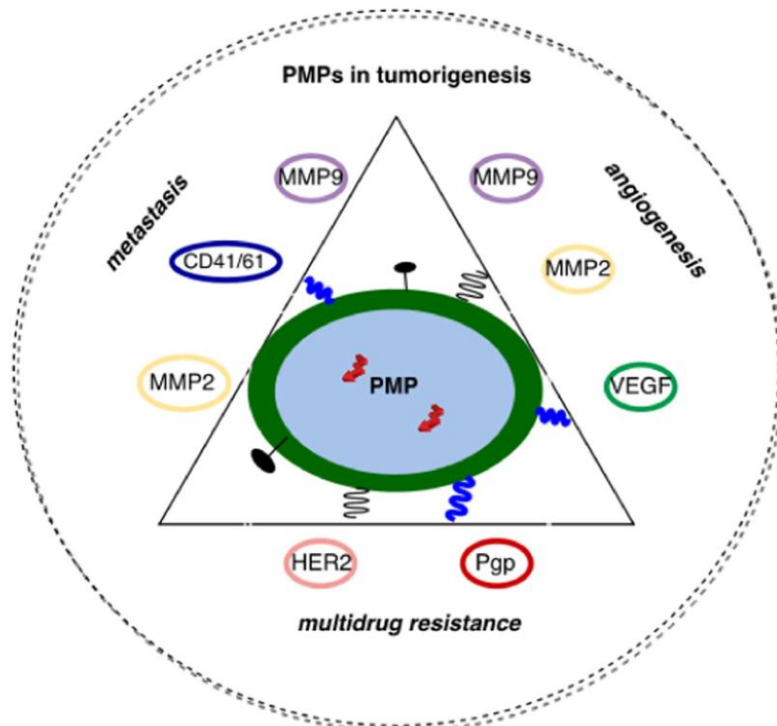
Ο ακριβής ρόλος που παίζουν τα σύμπλοκα ανάμεσα στα αιμοπετάλια και τα καρκινικά κύτταρα δεν είναι ακόμα γνωστός. Κατ' επέκταση, λόγω του παραπάνω συμπλόκου μπορούν να σχηματιστούν αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια που φέρουν τον αυξητικό παράγοντα. Τα συγκεκριμένα σύμπλοκα είναι ιδιαίτερα επίφοβα για

θρομβώσεις που οφείλονται σε καρκίνους και έχουν παρατηρηθεί σε παγκρεατικούς, ορθοκολικούς και προστατικούς καρκίνους αλλά ακόμα και σε φυσιολογικά άτομα χωρίς όμως να εκφράζουν την φωσφατιδυλοσερίνη. [258-260] Τέτοιου είδους σύμπλοκα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση και ρυθμίζονται από τα καρκινικά κύτταρα. [261]

Ο Janowska-Wieczorek και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν τον ρόλο των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στην ανάπτυξη του όγκου και στην μετάστασή του χρησιμοποιώντας κυτταρικές σειρές ανθρώπινου πνευμονικού καρκίνου. Οι ερευνητές απέδειξαν μέσω κυτταρομετρίας ροής ότι οι γλυκοπρωτεΐνες GPIIb/IIIa οι οποίες είναι ειδικές των αιμοπεταλίων και τις συναντούμε στην επιφάνεια των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων, βρέθηκαν επίσης και στις κυτταρικές σειρές των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια μπορούν να μεταφέρουν υποδοχείς στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων *in vitro*. Επιπλέον τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια είναι σε θέση να διεγείρουν την εξαρτώμενη από την κινάση πρωτεϊνική φωσφορυλίωση (MAPK p42/44 και AKT) και να αυξήσουν την έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης τύπου 1.

Ακόμα τα εξωκυττάρια μικροσωματίδια μπορούν να συμμετέχουν στην δημιουργία ανθεκτικότητας σε ορισμένα αντικαρκινικά φάρμακα, μεταφέροντας την P-γλυκοπρωτεΐνη ή προκαλώντας την έκφραση του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER-2) , γεγονός το οποίο μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα του αντι-HER2 (θεραπευτικό αντίσωμα) στον καρκίνο του μαστού. [262,263]

Τέλος, άλλες *in vivo* και *ex vivo* μελέτες έδειξαν ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια διεγείρουν τα προγονικά κύτταρα με σκοπό την δημιουργία ενός τριχοειδικού δικτύου. [264,265] Καταλήγοντας, τα μικροκυστίδια που δημιουργούνται από τα T-κύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα ρυθμίζουν την αγγειογένεση, ενώ τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια διεγείρουν την έκκριση των προ-αγγειογενών παραγόντων από τα καρκινικά κύτταρα. [266]



ΕΙΚΟΝΑ 8: ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΣΤΗΝ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ.
 (Πηγή: Μ. ΖΜΙΓΡΟΔΖΚΑ, *Tumour Biol.* 2016 NOV; 37(11): 14391–14401.)

6.2 Έμμεσες επιδράσεις Μικροκυστιδίων και Κακοήθειας

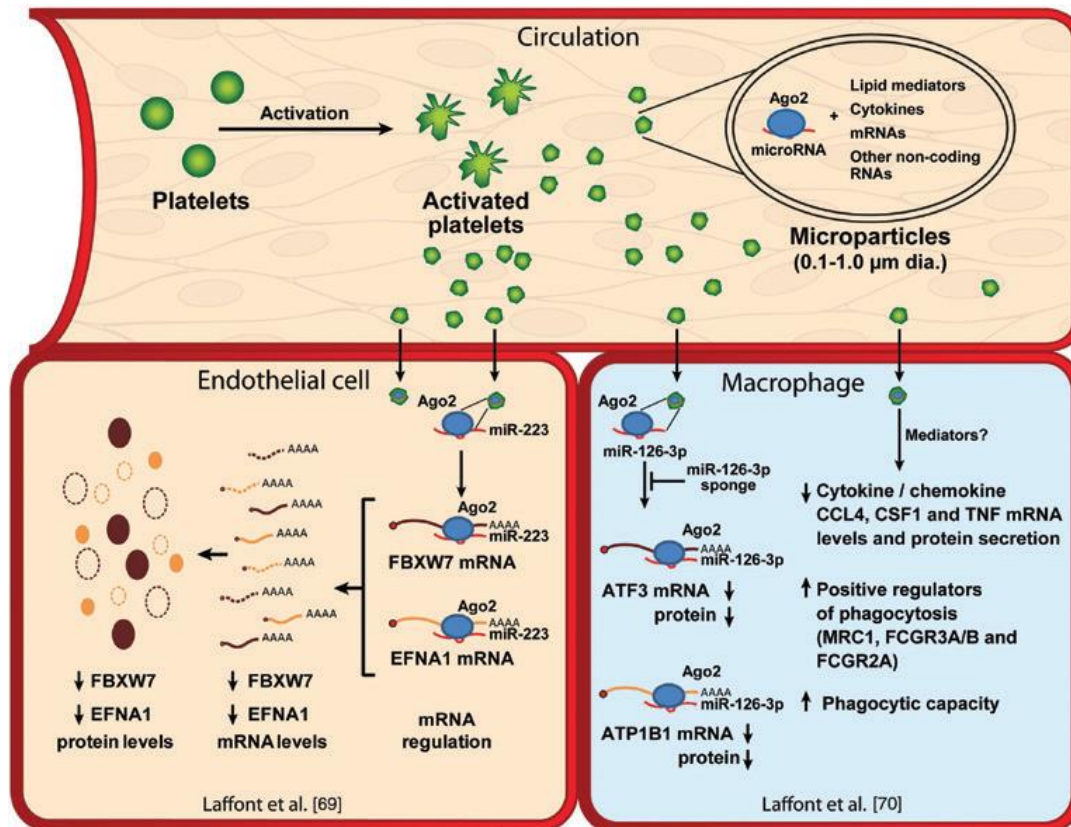
Η έμμεση επίδραση των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στην εξέλιξη του όγκου συχνά προκαλείται από τις ανοσορρυθμιστικές και φλεγμονώδεις δράσεις τους. Τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια φαίνεται να πολώνουν τα μακροφάγα σε M2 μακροφάγα. Αυτά τα M2 κύτταρα μεταβάλλουν το μικροπεριβάλλον του όγκου και έχουν προογκογονικές λειτουργίες. Ο ρόλος των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων στην καταστολή των NK κυττάρων (Natural Killer) είναι συνεπώς δευτερογενής σε σχέση με την πόλωση των μακροφάγων, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την απενεργοποίηση των NK κυττάρων και την ανασταλτική λειτουργία των T-κυττάρων και κατά συνέπεια και την φλεγμονώδη απόκρισή τους στον όγκο.^[267]

6.3 Αιμοπετάλια και microRNAs

Τα microRNAs είναι ενδογενή μη κωδικοποιημένα είδη RNA, μήκους 19-24 νουκλεοτιδίων, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της mRNA μετάφρασης των πρωτεϊνών στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Στο 60% περίπου των γονιδίων μας τα microRNAs ασκούν τα ρυθμιστικά τους αποτελέσματα κυρίως μέσω της αναγνώρισης ειδικών θέσεων σύνδεσης που βρίσκονται στην 3' αμετάφραστη περιοχή των mRNAs.^[268-270] Είτε τα microRNAs ρυθμίζουν την μετάφραση των mRNA των αιμοπεταλίων είτε όχι δεν εμποδίζεται η χρήση τους ως βιοδείκτες ασθενειών.

Έχει βρεθεί ότι μικροκυστίδια τα οποία προέρχονται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια περιέχουν το microRNA miR-223 σχηματίζοντας σύμπλοκο με την πρωτεΐνη δράσεως microRNA Ago2 καθώς και βιοδραστικούς μεσολαβητές λιπιδίων, κυτοκίνες, mRNAs και όπως προτείνεται από την γονιδιακή ανάλυση των ανθρώπινων αιμοπεταλίων, μια ευρέως μεγάλη ποικιλία μη κωδικοποιημένων RNA.^[271] Αποδείχθηκε ότι τα συγκεκριμένα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια μπορούν να εσωτερικοποιηθούν από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ομφάλιου λώρου, οδηγώντας έτσι στην συσσώρευση του miR-223 που προέρχεται από τα αιμοπετάλια και στην ρύθμιση δύο ενδογενών ενδοθηλιακών γονιδίων (FBXW7 and EFNA1). Επίσης, τα αιμοπετάλια μπορούν να μεταφέρουν τα σύμπλοκα που αναφέρθηκαν παραπάνω και στα ανθρώπινα πρωτογενή μακροφάγα μέσω της απελευθέρωσης μικροκυστιδίων.^[272] Επομένως, τα αιμοπεταλιακά

μικροκυστίδια μπορούν να δρουν σαν ενδοκυτταρικοί φορείς του συμπλόκου Ago2-microRNA το οποίο με την σειρά του μπορεί να ασκήσει ετεροτυπική ρύθμιση στην έκφραση του γονιδίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς ακόμα και στα μακροφάγα. [273]



ΕΙΚΟΝΑ 9: ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΑ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΝ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ MICRORNA ΣΕ ΑΛΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΔΕΚΤΗ.

(Πηγή: Provost Patrick., 2017, Clin Chem Lab Med, 55(5): 657-666)

6.3.1 Κλινική Σημασία Αιμοπεταλιακών Μικροκυστιδίων και MicroRNAs

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια είναι τα πιο άφθονα μικροκυστίδια στην κυκλοφορία με αποτέλεσμα τα microRNAs που προέρχονται από τα αιμοπετάλια να είναι και αυτά σε υψηλά επίπεδα. Λαμβάνοντας υπόψη τις προφλεγμονώδεις ιδιότητες των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων, είναι πολύ πιθανόν τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια αλλά και το φορτίο των microRNAs που κουβαλούν να εμπλέκονται τόσο σε οξείες όσο και σε χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις των αιμοφόρων αγγείων, όπως αυτές που σχετίζονται με καρδιαγγειακές παθήσεις που

έχουν σχέση με την αθηροσκλήρωση, την μετάγγιση των αιμοπεταλίων και τον καρκίνο.
[274,275]

Η ανάπτυξη του καρκινικού όγκου είναι μια σημαντική παθοφυσιολογική διαδικασία που μπορεί να επηρεαστεί από τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια και τα microRNAs που σχετίζονται μαζί τους. Πράγματι έχει αποδειχθεί συγκεκριμένα ότι το miR-223 το οποίο προέρχεται από τα αιμοπεταλιακά μικροκυστίδια προάγει τον καρκίνο του πνεύμονα μέσω στόχευσης του καταστολέα του όγκου EPB41L3.^[276]

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. López JA, Andrews RK, Afshar-Kharghan V, Berndt MC. Bernard-Soulier syndrome. *Blood* 1998; 91:4397.
2. Sixma JJ, van Zanten GH, Huizinga EG, et al. Platelet adhesion to collagen: an update. *Thromb Haemost* 1997; 78:434.
3. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* 1996; 84:289.
4. Bennett JS, Vilaire G. Exposure of platelet fibrinogen receptors by ADP and epinephrine. *J Clin Invest* 1979; 64:1393.
5. Savage B, Shattil SJ, Ruggeri ZM. Modulation of platelet function through adhesion receptors. A dual role for glycoprotein IIb-IIIa (integrin alpha IIb beta 3) mediated by fibrinogen and glycoprotein Ib-von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1992; 267:11300.
6. Shattil SJ, Kashiwagi H, Pampori N. Integrin signaling: the platelet paradigm. *Blood* 1998; 91:2645.
7. Collier BS, Shattil SJ. The GPIIb/IIIa (integrin alphaIIbbeta3) odyssey: a technology-driven saga of a receptor with twists, turns, and even a bend. *Blood* 2008; 112:3011.
8. Hodivala-Dilke KM, McHugh KP, Tsakiris DA, et al. Beta3-integrin-deficient mice are a model for Glanzmann thrombasthenia showing placental defects and reduced survival. *J Clin Invest* 1999; 103:229.
9. Kroll MH, Schafer AI. Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood* 1989; 74:1181.
10. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998; 98:1164.
11. Harrison P, Savidge GF, Cramer EM. The origin and physiological relevance of alpha-granule adhesive proteins. *Br J Haematol* 1990; 74:125.
12. Reinhardt C, von Brühl ML, Manukyan D, et al. Protein disulfide isomerase acts as an injury response signal that enhances fibrin generation via tissue factor activation. *J Clin Invest* 2008; 118:1110.
13. Cho J, Furie BC, Coughlin SR, Furie B. A critical role for extracellular protein disulfide isomerase during thrombus formation in mice. *J Clin Invest* 2008; 118:1123.
14. Kojima H, Newton-Nash D, Weiss HJ, et al. Production and characterization of transformed B-lymphocytes expressing the membrane defect of Scott syndrome. *J Clin Invest* 1994; 94:2237.
15. Pan J, Dinh TT, Rajaraman A, et al. Patterns of expression of factor VIII and von Willebrand factor by endothelial cell subsets in vivo. *Blood* 2016; 128:104.
16. Fahs SA, Hille MT, Shi Q, et al. A conditional knockout mouse model reveals endothelial cells as the principal and possibly exclusive source of plasma factor VIII. *Blood* 2014; 123:3706.
17. Everett LA, Cleuren AC, Khoriaty RN, Ginsburg D. Murine coagulation factor VIII is synthesized in endothelial cells. *Blood* 2014; 123:3697.
18. Hansson K, Stenflo J. Post-translational modifications in proteins involved in blood coagulation. *J Thromb Haemost* 2005; 3:2633.
19. Butenas S, van 't Veer C, Mann KG. Evaluation of the initiation phase of blood coagulation using ultrasensitive assays for serine proteases. *J Biol Chem* 1997; 272:21527

20. Naito K, Fujikawa K. Activation of human blood coagulation factor XI independent of factor XII. Factor XI is activated by thrombin and factor XIa in the presence of negatively charged surfaces. *J Biol Chem* 1991; 266:7353.
21. von dem Borne PA, Meijers JC, Bouma BN. Feedback activation of factor XI by thrombin in plasma results in additional formation of thrombin that protects fibrin clots from fibrinolysis. *Blood* 1995; 86:3035.
22. Gailani D, Broze GJ Jr. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991; 253:909.
23. Di Scipio RG, Kurachi K, Davie EW. Activation of human factor IX (Christmas factor). *J Clin Invest* 1978; 61:1528.
24. Sun Y, Gailani D. Identification of a factor IX binding site on the third apple domain of activated factor XI. *J Biol Chem* 1996; 271:29023.
25. Kamikubo Y, Mendolicchio GL, Zampolli A, et al. Selective factor VIII activation by the tissue factor-factor VIIa-factor Xa complex. *Blood* 2017; 130:1661.
26. Mandal SK, Pendurthi UR, Rao LV. Cellular localization and trafficking of tissue factor. *Blood* 2006; 107:4746.
27. Chen VM, Ahamed J, Versteeg HH, et al. Evidence for activation of tissue factor by an allosteric disulfide bond. *Biochemistry* 2006; 45:12020.
28. Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, et al. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nat Med* 2003; 9:458.
29. Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, López JA. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood* 2005; 106:1604.
30. Panes O, Matus V, Sáez CG, et al. Human platelets synthesize and express functional tissue factor. *Blood* 2007; 109:5242.
31. Morrison SA, Jesty J. Tissue factor-dependent activation of tritium-labeled factor IX and factor X in human plasma. *Blood* 1984; 63:1338.
32. Rosing J, van Rijn JL, Bevers EM, et al. The role of activated human platelets in prothrombin and factor X activation. *Blood* 1985; 65:319.
33. Osterud B, Rapaport SI. Activation of factor IX by the reaction product of tissue factor and factor VII: additional pathway for initiating blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74:5260
34. Baugh RJ, Krishnaswamy S. Role of the activation peptide domain in human factor X activation by the extrinsic Xase complex. *J Biol Chem* 1996; 271:16126.
35. Pittman DD, Kaufman RJ. Proteolytic requirements for thrombin activation of anti-hemophilic factor (factor VIII). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:2429.
36. Jesty J, Spencer AK, Nemerson Y. The mechanism of activation of factor X. Kinetic control of alternative pathways leading to the formation of activated factor X. *J Biol Chem* 1974; 249:5614.
37. Suzuki K, Dahlbäck B, Stenflo J. Thrombin-catalyzed activation of human coagulation factor V. *J Biol Chem* 1982; 257:6556.
38. Tracy PB, Eide LL, Bowie EJ, Mann KG. Radioimmunoassay of factor V in human plasma and platelets. *Blood* 1982; 60:59.
39. Mann KG, Nesheim ME, Hibbard LS, Tracy PB. The role of factor V in the assembly of the prothrombinase complex. *Ann N Y Acad Sci* 1981; 370:378.

40. Tracy PB, Giles AR, Mann KG, et al. Factor V (Quebec): a bleeding diathesis associated with a qualitative platelet Factor V deficiency. *J Clin Invest* 1984; 74:1221.
41. Tracy PB, Eide LL, Mann KG. Human prothrombinase complex assembly and function on isolated peripheral blood cell populations. *J Biol Chem* 1985; 260:2119.
42. Mosesson MW. The roles of fibrinogen and fibrin in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol* 1992; 29:177.
43. Pisano JJ, Finlayson JS, Peyton MP. (Cross-link in fibrin polymerized by factor 13: epsilon-(gamma-glutamyl)lysine]. *Science* 1968; 160:892.
44. Aleman MM, Byrnes JR, Wang JG, et al. Factor XIII activity mediates red blood cell retention in venous thrombi. *J Clin Invest* 2014; 124:3590.
45. Greenberg CS, Achyuthan KE, Fenton JW 2nd. Factor XIIIa formation promoted by complexing of alpha-thrombin, fibrin, and plasma factor XIII. *Blood* 1987; 69:867.
46. Bajaj MS, Birktoft JJ, Steer SA, Bajaj SP. Structure and biology of tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 2001; 86:959.
47. Lane DA, Philippou H, Huntington JA. Directing thrombin. *Blood* 2005; 106:2605
48. Broze GJ Jr, Warren LA, Novotny WF, et al. The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: insight into its possible mechanism of action. *Blood* 1988; 71:335.
49. Baugh RJ, Broze GJ Jr, Krishnaswamy S. Regulation of extrinsic pathway factor Xa formation by tissue factor pathway inhibitor. *J Biol Chem* 1998; 273:4378.
50. Jesty J, Wun TC, Lorenz A. Kinetics of the inhibition of factor Xa and the tissue factor-factor VIIa complex by the tissue factor pathway inhibitor in the presence and absence of heparin. *Biochemistry* 1994; 33:12686.
51. Caplice NM, Panetta C, Peterson TE, et al. Lipoprotein (a) binds and inactivates tissue factor pathway inhibitor: a novel link between lipoproteins and thrombosis. *Blood* 2001; 98:2980.
52. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem* 1982; 257:2912.
53. Samis JA, Ramsey GD, Walker JB, et al. Proteolytic processing of human coagulation factor IX by plasmin. *Blood* 2000; 95:943.
54. Hur WS, Mazinani N, Lu XJ, et al. Coagulation factor XIIIa is inactivated by plasmin. *Blood* 2015; 126:2329.
55. Kolev K, Machovich R. Molecular and cellular modulation of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 2003; 89:610.
56. Stein CM, Brown N, Vaughan DE, et al. Regulation of local tissue-type plasminogen activator release by endothelium-dependent and endothelium-independent agonists in human vasculature. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:117.
57. Α.Π.Θ, τμήμα Ιατρικής, τομέας Χειρουργικής (2001). Γενική Χειρουργική(1η έκδοση). Θεσσαλονίκη: UniversityStudioPress A.E., σελ. 571. ISBN 960-12-1026-1.
58. Cesarman-Maus G, Hajjar KA (2005) Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol* 129(3), 307–321.
59. Borowski M, Furie BC, Bauminger S et al. (1986) Prothrombin requires two sequential metal-dependent conformational transitions to bind phospholipid. conformation-specific antibodies directed against the phospholipid-binding site on prothrombin. *J Biol Chem* 261(32), 14969–14975.

60. Greenberg DL, Davie EW (2001) Blood coagulation factors: their complimentary DNA, genes and expression. In: Coluan RW, Hiroh J, Marder VJ, Clower AW, George JN (eds) Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins, pp. 21–5
61. Eastman RC, Carson RE, Orloff DG, et al. Glucose utilization in a patient with hepatoma and hypoglycemia. Assessment by a positron emission tomography. *J Clin Invest* 1992; 89:1958.
62. Tietge UJ, Schöfl C, Ocran KW, et al. Hepatoma with severe non-islet cell tumor hypoglycemia. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:997.
63. Njei B, Rotman Y, Ditah I, Lim JK. Emerging trends in hepatocellular carcinoma incidence and mortality. *Hepatology* 2015; 61:191.
64. Chen DS, Sung JL, Sheu JC, et al. Serum alpha-fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1984; 86:1404.
65. Marrero JA, Feng Z, Wang Y, et al. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137:110.
66. Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, et al. Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2010; 138:493.
67. Borel F, Konstantinova P, Jansen PL. Diagnostic and therapeutic potential of miRNA signatures in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56:1371.
68. Zhou J, Yu L, Gao X, et al. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29:4781.
69. Li L, Guo Z, Wang J, et al. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening. *Dig Dis Sci* 2012; 57:2910.
70. Cohen JD, Li L, Wang Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* 2018; 359:926.
71. Global Burden of Disease Liver Cancer Collaboration, Akinyemiju T, Abera S, et al. The Burden of Primary Liver Cancer and Underlying Etiologies From 1990 to 2015 at the Global, Regional, and National Level: Results From the Global Burden of Disease Study 2015. *JAMA Oncol* 2017; 3:1683.
72. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136:E359.
73. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, et al. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology* 2004; 127:1372.
74. Maucort-Boulch D, de Martel C, Franceschi S, Plummer M. Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. *Int J Cancer* 2018; 142:2471.
75. Yang JD, Harmsen WS, Slettedahl SW, et al. Factors that affect risk for hepatocellular carcinoma and effects of surveillance. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9:617.
76. Bralet MP, Régimbeau JM, Pineau P, et al. Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. *Hepatology* 2000; 32:200.
77. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology* 1998; 28:751.
78. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985; 56:918.

79. Prospective validation of the CLIP score: a new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. *Hepatology* 2000; 31:840.
80. Farinati F, Rinaldi M, Gianni S, Naccarato R. How should patients with hepatocellular carcinoma be staged? Validation of a new prognostic system. *Cancer* 2000; 89:2266.
81. Chevret S, Trinchet JC, Mathieu D, et al. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. *J Hepatol* 1999; 31:133.
82. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19:329.
83. Yang JD, Kim WR, Park KW, et al. Model to estimate survival in ambulatory patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 56:614.
84. Yau T, Tang VY, Yao TJ, et al. Development of Hong Kong Liver Cancer staging system with treatment stratification for patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2014; 146:1691.
85. American Joint Committee on Cancer. American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th, Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al (Eds), Springer, New York 2010. p.175.
86. Shindoh J, Andreou A, Aloia TA, et al. Microvascular invasion does not predict long-term survival in hepatocellular carcinoma up to 2 cm: reappraisal of the staging system for solitary tumors. *Ann Surg Oncol* 2013; 20:1223.
87. Vauthey JN, Lauwers GY, Esnaola NF, et al. Simplified staging for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20:1527.
88. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22:696.
89. Nzeako UC, Goodman ZD, Ishak KG. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic and noncirrhotic livers. A clinico-histopathologic study of 804 North American patients. *Am J Clin Pathol* 1996; 105:65.
90. Kosuge T, Makuuchi M, Takayama T, et al. Long-term results after resection of hepatocellular carcinoma: experience of 480 cases. *Hepatogastroenterology* 1993; 40:328.
91. Bilimoria MM, Lauwers GY, Doherty DA, et al. Underlying liver disease, not tumor factors, predicts long-term survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2001; 136:528.
92. Vauthey JN, Ribero D, Abdalla EK, et al. Outcomes of liver transplantation in 490 patients with hepatocellular carcinoma: validation of a uniform staging after surgical treatment. *J Am Coll Surg* 2007; 204:1016.
93. Poon RT, Fan ST, Lo CM, et al. Long-term prognosis after resection of hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B-related cirrhosis. *J Clin Oncol* 2000; 18:1094.
94. Levy I, Sherman M, Liver Cancer Study Group of the University of Toronto. Staging of hepatocellular carcinoma: assessment of the CLIP, Okuda, and Child-Pugh staging systems in a cohort of 257 patients in Toronto. *Gut* 2002; 50:881.
95. Ueno S, Tanabe G, Sako K, et al. Discrimination value of the new western prognostic system (CLIP score) for hepatocellular carcinoma in 662 Japanese patients. Cancer of the Liver Italian Program. *Hepatology* 2001; 34:529.
96. Villa E, Colantoni A, Cammà C, et al. Estrogen receptor classification for hepatocellular carcinoma: comparison with clinical staging systems. *J Clin Oncol* 2003; 21:441.

97. Cho YK, Chung JW, Kim JK, et al. Comparison of 7 staging systems for patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *Cancer* 2008; 112:352.
98. Yu SJ. A concise review of updated guidelines regarding the management of hepatocellular carcinoma around the world: 2010-2016. *Clin Mol Hepatol* 2016; 22:7.
99. Torzilli G, Belghiti J, Kokudo N, et al. A snapshot of the effective indications and results of surgery for hepatocellular carcinoma in tertiary referral centers: is it adherent to the EASL/AASLD recommendations?: an observational study of the HCC East-West study group. *Ann Surg* 2013; 257:929.
100. Marrero JA, Fontana RJ, Barrat A, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. *Hepatology* 2005; 41:707.
101. Cillo U, Vitale A, Grigoletto F, et al. Prospective validation of the Barcelona Clinic Liver Cancer staging system. *J Hepatol* 2006; 44:723.
102. Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). *J Gastroenterol* 2003; 38:207.
103. Vitale A, Morales RR, Zanusi G, et al. Barcelona Clinic Liver Cancer staging and transplant survival benefit for patients with hepatocellular carcinoma: a multicentre, cohort study. *Lancet Oncol* 2011; 12:654.
104. Horstman LL, Ahn YS. Platelet microparticles: a wide-angle perspective. *Crit Rev Oncol Hematol*.1999; 30:111–142. (PubMed: 10439058]
105. Joop K, Berckmans RJ, Nieuwland R, Berkhout J, Romijn FP, Hack CE, Sturk A. Microparticles from patients with multiple organ dysfunction syndrome and sepsis support coagulation through multiple mechanisms. *Thromb Haemost.* 2001; 85:810–820. (PubMed: 11372673]
106. Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, Romijn FP, Hack CE, Sturk A. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost.* 2001; 85:639–646. (PubMed: 11341498]
107. Hughes M, Hayward CP, Warkentin TE, Horsewood P, Chorneyko KA, Kelton JG. Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 2000; 96:188–194. (PubMed: 10891450]
108. Mallat Z, Benamer H, Hugel B, Benessiano J, Steg PG, Freyssinet JM, Tedgui A. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101:841–843. (PubMed: 10694520]
109. Lee YJ, Jy W, Horstman LL, Janania J, Reyes Y, Kelley RE, Ahn YS. Elevated platelet microparticles in transient ischemic attacks, lacunar infarcts, and multiinfarct dementias. *Thromb Res.* 1993; 72:295–304. (PubMed: 8303669]
110. Galli M, Grassi A, Barbui T. Platelet-derived microvesicles in thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Thromb Haemost.* 1996; 75:427–431. (PubMed: 8701402]
111. Tomer A, Harker LA, Kasey S, Eckman JR. Thrombogenesis in sickle cell disease. *J Lab Clin Med.* 2001; 137:398–407. (PubMed: 11385360]
112. Bevers EM, Comfurius P, van Rijn JL, Hemker HC, Zwaal RF. Generation of prothrombin-converting activity and the exposure of phosphatidylserine at the outer surface of platelets. *Eur J Biochem* 1982;122(2):429–36.

113. Zwaal RF, Bevers EM. Platelet phospholipid asymmetry and its significance in hemostasis. *Subcell Biochem* 1983;9:299–334.
114. van Dieijen G, Tans G, Rosing J, Hemker HC. The role of phospholipid and factor VIIIa in the activation of bovine factor X. *J Biol Chem* 1981;256(7):3433–42.
115. Rosing J, Speijer H, Zwaal RF. Prothrombin activation on phospholipid membranes with positive electrostatic potential. *Biochemistry* 1988;27(1):8–11.
116. Schroit AJ, Tanaka Y, Madsen J, Fidler IJ. The recognition of red blood cells by macrophages: role of phosphatidylserine and possible implications of membrane phospholipid asymmetry. *Biol Cell* 1984;51(2):227–38.
117. Fox JE, Austin CD, Boyles JK, Steffen PK. Role of the membrane skeleton in preventing the shedding of procoagulant-rich microvesicles from the platelet plasma membrane. *J Cell Biol* 1990;111(2):483–93.
118. Diaz C, Schroit AJ. Role of translocases in the generation of phosphatidylserine asymmetry. *J Membr Biol* 1996;151(1):1–9.
119. Connor J, Pak CH, Zwaal RF, Schroit AJ. Bidirectional transbilayer movement of phospholipid analogs in human red blood cells: Evidence for an ATP-dependent and protein-mediated process. *J Biol Chem* 1992;267(27): 19412–7.
120. McLaughlin PJ, Gooch JT, Mannherz HG, Weeds AG. Structure of gelsolin segment 1-actin complex and the mechanism of filament severing. *Nature* 1993;364(6439): 685–92.
121. Beleznav Z, Zachowski A, Devaux PF, Navazo MP, Ott P. ATP-dependent aminophospholipid translocation in erythrocyte vesicles: stoichiometry of transport. *Biochemistry* 1993;32(12):3146–52.
122. Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Mechanism and function of changes in membrane phospholipid asymmetry in platelets and erythrocytes. *Biochem Soc Trans* 1993;21(2):248–53.
123. Murphy WG, Moore JC, Kelton JG. Calcium-dependent cysteine protease activity in the sera of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1987;70:1683–7.
124. Kelton JG, Warkentin TE, Hayward CP, Murphy WG, Moore JC. Calpain activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura is associated with platelet microparticles. *Blood* 1992;80(9):2246–51.
125. Flumenhaft R. Formation and fate of platelet microparticles. *Blood Cell Mol Dis*. 2006;36:182–7.
127. Rand ML, Wang H, Bang KW, Packham MA, Freedman J. Rapid clearance of procoagulant platelet-derived microparticles from the circulation of rabbits. *J Thromb Haemost*. 2006;4:1621–3.
126. Harwig JH. Platelet structure. In: Michelson AD, editor. *Platelet*. Academic Press; 2002. p. 37–49.
127. Bode AP, Miller DT. Analysis of platelet factor 3 in platelet concentrates stored for transfusion. *Vox Sang*. 1986;51:299–305.
128. Hugel B, Martinez MC, Kunzelmann C, Freyssinet JM. Membrane microparticles: two sides of the coin. *Physiology*. 2005;20:22–7.
129. Beaudoin AR, Grondin G. Shedding of vesicular material from the cell surface of eukaryotic cells: different cellular phenomena. *Bioch Biophys Acta* 1991;1071: 203.
130. Fevrier B, Raposo G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16:415–21.
131. Rak J. Microparticles in cancer. *Semin Thromb Hemost*. 2010;36: 888–906.

132. Voloshin T, Fremder E, Shaked Y. Small but mighty: microparticles as mediators of tumor progression. *Cancer Microenviron.* 2014;7:11–21.
133. Lee TH, D'Asti E, Magnus N, Al-Nedawi K, Meehan B, Rak J. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer—the emerging science of cellular ‘debris. *Semin Immunopathol.* 2011;33:455–67.
134. Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, Lhotak V, May L, Guha A, Rak J. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol.* 2008;10:619–24.
135. Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, Conrad R. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta.* 2012.
136. Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics.* 2009;6:267–83.
137. Bobrie A, Colombo M, Raposo G, Théry C. Exosome secretion: molecular mechanism and roles in immune responses. *Traffic.* 2011;12:1659–68.
138. Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem.* 1987;262:9412–20.
139. Clayton A, Turkes A, Navabi H, Mason MD, Tabi Z. Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes. *J Cell Sci.* 2005;118: 3631–8.
140. Ge R, Tan E, Sharghi-Namini S, Asada HH. Exosomes in cancer microenvironment and beyond: have we overlooked these extracellular messengers? *Cancer Microenviron.* 2012;5:323–32.
141. Lotvall J, Valadi H. Cell to cell signalling via exosomes through esRNA. *Cell Adhes Migr.* 2007;1:156–8.
142. Mignot G, Roux S, Thery C, S_egurá E, Zitvogel L. Prospects for exosomes in immunotherapy of cancer. *J Cell Mol Med.* 2006;10: 376–88.
143. Thery C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol.* 2002;2:569–79.
144. Chaput N, Théry C. Exosomes: immune properties and potential clinical implementations. *Semin Immunopathol.* 2011;33:419–40.
145. Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A, Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur J Clin Investig.* 2004;34:392–401.
146. Kharaziha P, Ceder S, Li Q, Panaretakis T. Tumor cell-derived exosomes: a message in a bottle. *Biochim Biophys Acta.* 2012.
147. Reiners KS, Dassler J, Coch CH, Pogge von Strandmann E. Role of exosomes released by dendritic cells and/or by tumor targets: regulation of NK cell plasticity. *Front Immunol.* 2014.
148. Hannafon BN, Ding W-Q. Intracellular communication by exosome-derived microRNAs in cancer. *Int J Mol Sci.* 2013;14: 14240–69.
149. Gelderman MP, Simak J. Flow cytometric analysis of cell membrane microparticles. *Methods Mol Biol.* 2008;484:79–93.
150. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007;21: 157–71.
151. Falanga A, Tartari CA, Marchetti M. Microparticles in tumor progression. *Thromb Res.* 2012;129(Supplement 1):132–6.

152. Flaumenhaft R, Dilks JR, Richardson J, Alden E, Patel-Hett SR, Battinelli E, et al. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood*. 2009;113:1112–21
153. Mathivanan S, Simpson RJ. ExoCarta: a compendium of exosomal proteins and RNA. *Proteomics*. 2009;9:4997–5000.
154. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*. 2010;101:2087–92.
155. Théry C, Boussac M, Véron P, Ricciardi-Castagnoli P, Raposo G, Garin J, Amigorena S. Proteomic analysis of dendritic cell-derived exosomes: a secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles. *J Immunol*. 2001;166:7309–18.
156. Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:569–79
157. Burnier L, Fontana P, Kwak BR, Angelillo-Scherrer A. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine. *Tromb Haemost*. 2009;101:439–45143.
158. Peche H, Heslan M, Usal C, Amigorena S, Cuturi MC. Presentation of donor major histocompatibility complex antigens by bone marrow dendritic cell-derived exosomes modulates allograft rejection. *Transplantation*. 2003;76:1503–10.
159. Kharaziha P, Ceder S, Li Q, Panaretakis T. Tumor cell-derived exosomes: a message in a bottle. *Biochim Biophys Acta*. 2012.
160. Wubbolts R, Leckie RS, Veenhuizen PT, Schwarzmann G, Möbius W, Hoernschemeyer J, Slot JW, Geuze HJ, Stoorvogel W. Proteomic and biochemical analyses of human B cell derived exosomes. Potential implications for their function and multivesicular body formation. *J Biol Chem*. 2003;278:10963–72.
161. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007;9:654–9.
162. Horstman LL, Ahn . Platelet microparticles: a wide-angle perspective 1999;30:111–142.
163. Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, Ratajczak J, Vilaire G, Kijowski J, Reza R, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol*. 2002;30:450–9.
164. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer*. 2005;113:752–60.
165. Clemetson KJ, McGregor JL. Characterization of platelet glycoproteins. In: McIntyre DE, Gordon JL, editors. *Characterization of platelet glycoproteins* Amsterdam: Elsevier, 1987:1–32.
166. Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology of human platelet proteins. *Blood*. 1992;80:1386–404.
167. JLMG. The role of human platelet membrane receptors in inflammation. In: Joseph M, editor. *Immunopharmacology of platelets, handbook of immunopharmacology*. New York: Academic Press; 1995. p. 67.
168. Holme PA, Solum NO, Brosstad F, Pedersen T, Kveine M. Microvesicles bind soluble fibrinogen, adhere to immobilized fibrinogen and coaggregate with platelets. *Thromb Haemost*. 1998;79:389–94.
169. Iwamoto S, Kawasaki T, Kambayashi J, Ariyoshi H, Monden M. Platelet microparticles: a carrier of platelet-activating factor? *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;218:940–4.

170. Barry OP, Pratico D, Savani RC, FitzGerald GA. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest*. 1998;102:136–44.
171. Mickelson JK, Lakkis NM, Villarreal-Levy G, Hughes BJ, Smith CW. Leukocyte activation with platelet adhesion after coronary angioplasty: a mechanism for recurrent disease? *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:345–53.
172. Sabatier F, Roux V, Anfosso F, Camoin L, Sampol J, Dignat-George F. Interaction of endothelial microparticles with monocytic cells in vitro induces tissue factor-dependent procoagulant activity. *Blood*. 2002;99:3962–70.
173. Denzer K, Kleijmeer MJ, Heijnen HF, Stoorvogel W, Geuze HJ. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *J Cell Sci*. 2000;19:3365–74.
174. Heijnen HF, Schiel AE, Fijnheer R, Geuze HJ, Sixma JJ. Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha-granules. *Blood*. 1999;94:3791–9.
175. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3: 207–14.
176. Neumann FJ, Marx N, Gawaz M, Brand K, Ott I, Rokitta C, Sticherling C, Meinl C, May A, Schomig A. Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets. *Circulation*. 1997;95:2387–94.
177. Tokuraku M, Sato H, Murakami S, Okada Y, Watanabe Y, Seiki M. Activation of the precursor of gelatinase A/72 kDa type IV collagenase/ MMP-2 in lung carcinomas correlates with the expression of membrane-type matrix metalloproteinase (MTMMP) and with lymph node metastasis. *Int J Cancer*. 1995;64: 355–9.
178. Hrachovinova I, Cambien B, Hafezi-Moghadam A, Kappelmayer J, Camphausen RT, Widom A, Xia L, Kazazian HH, Jr, Schaub RG, McEver RP, Wagner DD. Interaction of P-selectin and PSGL-1 generates microparticles that correct hemostasis in a mouse model of hemophilia A. *Nat Med* 2003;9:1020–1025.
179. Salaj P, Marinov I, Markova M, Pohlreich D, Cetkovsky P, Hrachovinova I. Thrombelastography monitoring of platelet substitution therapy and rFVIIa administration in haematooncological patients with severe thrombocytopenia. *Prague Med Rep*. 2004;105:311–7.
180. Iannacone M, Sitia G, Isogawa M, Marchese P, Castro MG, Lowenstein PR, Chisari FV, Ruggeri ZM, Guidotti LG. Platelets mediate cytotoxic T lymphocyte-induced liver damage. *Nat Med*. 2005;11:1167–9.
181. Owens AP III, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circ Res* 2011;108:1284–1297.
182. Davizon P, Lopez JA. Microparticles and thrombotic disease. *Curr Opin Hematol* 2009;16:334–341.
183. Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY, Pichugin AV, Panteleev MA, Krymskaya OV, Ataulakhanov FI. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 2007;97:425–434.
184. Key NS, Mackman N. Tissue factor and its measurement in whole blood, plasma, and microparticles. *Semin Thromb Hemost* 2010;36:865–875.
185. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1687–1693.
186. Camera M, Brambilla M, Toschi V, Tremoli E. Tissue factor expression on platelets is a dynamic event. *Blood* 2010;116:5076–5077.

187. Bouchard BA, Mann KG, Butenas S. No evidence for tissue factor on platelets. *Blood* 2010;116:854–855.
188. Van Der Meijden PEJ, Van Schilfgaarde M, Van Oerle R, Renn_E T, Ten Cate H, Spronk HMH. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *J Thromb Haemost* 2012;10:1355–1362.
189. van Beers EJ, Schaap MCL, Berckmans RJ, Nieuwl R, Sturk A, van Doormaal FF, Meijers JCM, Biemond BJ. Circulating erythrocyte-derived microparticles are associated With coagulation activation in sickle cell disease. *Haematologica* 2009;94: 1513–1519.
190. Rubin O, Delobel J, Prudent M, Lion N, Kohl K, Tucker EI, Tissot J-D, Angelillo- Scherrer A. Red blood cell-derived microparticles isolated from blood units initiate and propagate thrombin generation. *Transfusion* 2013;53:1744–1754.
191. Kushak RI, Nestoridi E, Lambert J, Selig MK, Ingelfinger JR, Grabowski EF. Detached endothelial cells and microparticles as sources of tissue factor activity. *Thromb Res* 2005;116:409–419.
192. Steppich B, Mattisek C, Sobczyk D, Kastrati A, Sch€omig A, Ott I. Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005;93:35–39.
193. Koshiar LR, Somajo S, Norstrom E, Dahlback B. Erythrocyte-derived microparticles supporting activated protein C-mediated regulation of blood coagulation. *PLoS One* 2014;9:e104200.
194. Tans G, Rosing J, Thomassen M, Heeb M, Zwaal R, Griffin J. Comparison of anticoagulant and procoagulant activities of stimulated platelets and platelet-derived microparticles. *Blood* 1991;77:2641–2648.
195. Lacroix R, Dignat-George F. Microparticles: New protagonists in pericellular and intravascular proteolysis. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:33–39.
196. Lacroix R, Plawinski L, Robert S, Doeuvre L, Sabatier F, Martinez de Lizarrondo S, Mezzapesa A, Anfosso F, Leroyer AS, Poullin P, et al. Leukocyte- and endothelial-derived microparticles: A circulating source for fibrinolysis. *Haematologica* 2012; 97:1864–1872.
197. Falati S, Liu Q, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E, Celi A, Croce K, Furie BC, Furie B. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med* 2003;197:1585–1598.
198. Biro E, Sturk-Maquelin KN, Vogel GM, Meuleman DG, Smit MJ, Hack CE, Sturk A, Nieuwl R. Human cell-derived microparticles promote thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner. *J Thromb Haemost* 2003;1:2561–2568.
199. Ramacciotti E, Hawley AE, Farris DM, Ballard NE, Wroblewski SK, Myers DD Jr, Henke PK, Wakefield TW. Leukocyte- and platelet-derived microparticles correlate with thrombus weight and tissue factor activity in an experimental mouse model of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2009;101:748–754. BW
200. Pasquet JM, Toti F, Nurden AT, Dachary-Prigent J. Procoagulant activity and active calpain in platelet-derived microparticles. *Thromb Res.* 1996; 82:509–522. (PubMed: 8794523]
201. Castaman G, Yu-Feng L, Rodeghiero F. A bleeding disorder characterised by isolated deficiency of platelet microvesicle generation. *Lancet.* 1996; 347:700–701. (PubMed: 8596424]
202. Weiss HJ. Scott syndrome: A disorder of platelet coagulant activity. *Semin Hematol.* 1994; 31:312–319. (PubMed: 7831576]

203. Mackman N. Tissue-specific hemostasis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:2273–(PubMed: 16123318]
204. Mann KG, Orfeo T, Butenas S, Undas A, Brummel-Ziedins K. Blood coagulation dynamics in haemostasis. *Hamostaseologie.* 2009; 29:7–16. (PubMed: 19151839]
205. Mackman N. The role of tissue factor and factor viia in hemostasis. *Anesth Analg.* 2009; 108:1447–1452. (PubMed: 19372318]
206. Hathcock JJ, Nemerson Y. Platelet deposition inhibits tissue factor activity: In vitro clots are impermeable to factor xa. *Blood.* 2004; 104:123–127. (PubMed: 15016647]
207. Orfeo T, Butenas S, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. The tissue factor requirement in blood coagulation. *J Biol Chem.* 2005; 280:42887–42896. (PubMed: 16215234]
208. Ollivier V, Wang J, Manly D, Machlus KR, Wolberg AS, Jandrot-Perrus M, Mackman N. Detection of endogenous tissue factor levels in plasma using the calibrated automated thrombogram assay. *Thromb Res.* 2010; 125:90–96. (PubMed: 19345399]
209. Hrachovinova I, Cambien B, Hafezi-Moghadam A, Kappelmayer J, Camphausen RT, Widom A, Xia L, Kazazian HH Jr, Schaub RG, McEver RP, Wagner DD. Interaction of p-selectin and psgl-1 generates microparticles that correct hemostasis in a mouse model of hemophilia a. *Nat Med.* 2003; 9:1020–1025. (PubMed: 12858167]
210. Berckmans RJ, Sturk A, Schaap MC, Nieuwland R. Cell-derived vesicles exposing coagulant tissue factor in saliva. *Blood.* 2011.
211. Castaman G, Yu-Feng L, Rodeghiero F. A bleeding disorder characterised by isolated deficiency of platelet microvesicle generation. *Lancet.* 1996; 347:700–701. (PubMed: 8596424]
212. Castaman G, Yu-Feng L, Battistin E, Rodeghiero F. Characterization of a novel bleeding disorder with isolated prolonged bleeding time and deficiency of platelet microvesicle generation. *Br J Haematol.* 1997; 96:458–463. (PubMed: 9054648]
213. Barry OP, Pratico D, Lawson JA, FitzGerald GA. Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *J Clin Invest.* 1997; 99:2118–2127. (PubMed: 9151784]
214. Barry OP, Pratico D, Savani RC, FitzGerald GA. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest.* 1998; 102:136–144. (PubMed: 9649567]
215. Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, Romijn FP, Hack CE, Sturk A. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost.* 2001; 85:639–646. (PubMed: 11341498]
216. Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension.* 2006; 48:180–186. (PubMed: 16801490]
217. Michelsen AE, Brodin E, Brosstad F, Hansen JB. Increased level of platelet microparticles in survivors of myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008; 68:386–392. (PubMed: 18752144]
218. Chironi GN, Simon A, Boulanger CM, Dignat-George F, Hugel B, Megnien JL, Lefort M, Freyssinet JM, Tedgui A. Circulating microparticles may influence early carotid artery remodeling. *J Hypertens.* 2009; 28:789. (PubMed: 20032788] (Microparticles play a role in early vessel remodeling before the onset of major atherosclerosis]
219. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93(1):818.

220. McKenzie SE, Reilly MP. Heparin-induced thrombocytopenia and other immune thrombocytopenias: lessons from mouse models. *Semin Thromb Hemostas* 2004;30:559–64.
221. Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998;339(22): 1578–84.
222. Kelton JG, Warkentin TE, Hayward CP, Murphy WG, Moore JC. Calpain activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura is associated with platelet microparticles. *Blood* 1992;80(9):2246–51.
223. Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Ahn YS. Elevated endothelial microparticles in thrombotic thrombocytopenic purpura: findings from brain and renal microvascular cell culture and patients with active disease. *Brit J Haematol* 2001;112(1):81–90.
224. Fox JE. Shedding of adhesion receptors from the surface of activated platelets. *Blood Coagulation Fibrinolysis* 1994;5(2):291–304.
225. Jy W, Jimenez JJ, Mauro LM, Horstman LL, Cheng P, Ahn ER, et al. Endothelial microparticles induce formation of platelet aggregates via a von Willebrand factor/ristocetin dependent pathway, rendering them resistant to dissociation. *Thromb Haemost* 2005;3(6):1301–8.
226. Lee YJ, Jy W, Horstman LL, Janania J, Reyes Y, Kelley RE, et al. Elevated platelet microparticles in transient ischemic attacks, lacunar infarcts, and multi-infarct dementias. *Thromb Res* 1993;72(4):295–304.
227. Heresi GA, Chirinos JA, Velasquez H, Zambrano JP, Soriano LL, Horstman LL, et al. Elevated endothelial Microparticles (EMP) and activation markers of platelet and leukocytes in venous thromboembolism (VTE). *Blood* 2003;102:804a.
228. Rectenwald JE, Myers Jr DD, Hawley AE, Longo C, Henke KE, Guire KE, et al. D-dimer, P-selectin, and microparticles: novel markers to predict deep venous thrombosis. A pilot study. *Thromb Haemost* 2005;94(6):1312–7.
229. Jy W, Horstman LL, Wang F, Duncan RC, Ahn YS. Platelet factor 3 in plasma fractions: its relation to microparticle size and thromboses. *Thromb Res* 1995;80(6):471–82.
230. Steppich B, Mattisek C, Sobczyk D, Kastrati A, Schomig A, Ott I. Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005;93(1):35–9.
231. Wakefield TW, Henke PK. The role of inflammation in early and late venous thrombosis: Are there clinical implications? *Semin Vasc Surg* 2005;18(3):118–29.
232. Sousou T, Khorana AA. New insights into cancer-associated thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:316–20.
233. Goubran HA, Stakiw J, Radosevic M, Burnouf T. Platelet-cancer interactions. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2014. p. 296–305.
234. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer* 2011;11:123–34.
235. Placke T, Orgel M, Schaller M, Jung G, Rammensee H-G, Kopp H-G, et al. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res* 2012;72:440–8.
236. Placke T, Kopp H-G, Salih HR. The wolf in sheep's clothing: Platelet-derived "pseudo self" impairs cancer cell "missing self" recognition by NK cells. *Oncoimmunology* 2012;1:557–9.

237. Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011;331:1559–64.
238. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci* 2007;13:3532–48.
239. Freyssinet JM. Cellular microparticles: what are they bad or good for? *J Thromb Haemost* 2003;1:1655–62.
240. Harrison P, Cramer EM. Platelet alpha-granules. *Blood Rev* 1993;7:52–62.
241. Goubran HA, Stakiw J, Radosevic M, Burnouf T. Platelets effects on tumor growth. *Seminars in oncology*: Elsevier; 2014. p. 359–69.
242. Aatonen M, Gronholm M, Siljander P. Platelet-derived microvesicles: multitalented participants in intercellular communication. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2012. p. 102–13.
243. Campello E, Spiezia L, Radu CM, Bulato C, Castelli M, Gavasso S, et al. Endothelial, platelet, and tissue factor-bearing microparticles in cancer patients with and without venous thromboembolism. *Thromb Res* 2011;127:473–7.
244. Hayon Y, Dashevsky O, Shai E, Brill A, Varon D, Leker RR. Platelet microparticles induce angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia. *Curr Neurovasc Res* 2012;9:185–92.
245. Burnouf T, Goubran HA, Chou ML, Devos D, Radosevic M. Platelet microparticles: detection and assessment of their paradoxical functional roles in disease and regenerative medicine. *Blood Rev* 2014;28:155–66.
246. Rumjahn S, Javed M, Wong N, Law W, Buxton I. Purinergic regulation of angiogenesis by human breast carcinoma-secreted nucleosidediphosphate kinase. *Br J Cancer* 2007;97:1372–80.
247. Jansen F, Yang X, Hoyer FF, Paul K, Heiermann N, Becher MU, Abu Hussein N, Kebschull M, Bedorf J, Franklin BS, Latz E, Nickenig G, Werner N. Endothelial microparticle uptake in target cells is annexin I/phosphatidylserine receptor dependent and prevents apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:1925–35.
248. Wei Y, Nazari-Jahantigh M, Neth P, Weber C, Schober A. MicroRNA-126, -145, and -155: a therapeutic triad in atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:449–54.
249. Diehl P, Fricke A, Sander L, Stamm J, Bassler N, Htun N, Ziemann M, Helbing T, El-Osta A, Jowett JB, Peter K. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc Res.* 2012;93:633–44.
250. Bakewell SJ, Nestor P, Prasad S, Tomasson MH, Dowland N, Mehrotra M, Scarborough R, Kanter J, Abe K, Phillips D, Weilbaecher KN. Platelet and osteoclast beta3 integrins are critical for bone metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:14205–10.
251. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer* 2005;113:752–60.
252. Toth B, Liebhardt S, Steinig K, Ditsch N, Rank A, Bauerfeind I, et al. Platelet-derived microparticles and coagulation activation in breast cancer patients. *Thromb Haemost* 2008;100:663–9.
253. Helley D, Banu E, Bouziane A, Banu A, Scotte F, Fischer A-M, et al. Platelet microparticles: a potential predictive factor of survival in hormone-refractory prostate cancer patients treated with docetaxel-based chemotherapy. *Eur Urol* 2009;56:479–85.

254. Mezouar S, Mege D, Darbousset R, Farge D, Debourdeau P, Dignat-George F, et al. Involvement of platelet-derived microparticles in tumor progression and thrombosis. *Seminars in oncology*; Elsevier; 2014. p. 346–58.
255. Goubran HA, Kotb RR, Stakiw J, Emara ME, Burnouf T. Regulation of tumor growth and metastasis: the role of tumor microenvironment. *Cancer Growth Metastasis* 2014;7:9.
256. Montoro-Garcia S, Shantsila E, Hernandez-Romero D, Jover E, Valdes M, Marin F, et al. Small-size platelet microparticles trigger platelet and monocyte functionality and modulate thrombogenesis via P-selectin. *Br J Haematol* 2014;166:571–80.
257. Stanger BZ, Kahn ML. Platelets and tumor cells: a new form of border control. *Cancer Cell* 2013;24:9–11.
258. Robert S, Poncelet P, Lacroix R, Arnaud L, Giraudo L, Hauchard A, et al. Standardization of platelet-derived microparticle counting using calibrated beads and a Cytomics FC500 routine flow cytometer: a first step towards multicenter studies? *J Thromb Haemost* 2009;7:190–7.
259. Yuana Y, Oosterkamp T, Bahatyrova S, Ashcroft B, Garcia Rodriguez P, Bertina R, et al. Atomic force microscopy: a novel approach to the detection of nanosized blood microparticles. *J Thromb Haemost* 2010;8:315–23.
260. Zwicker JJ, Lacroix R, Dignat-George F, Furie BC, Furie B. Measurement of platelet microparticles. *Platelets and Megakaryocytes*: Springer; 2012. p. 127–39.
261. Lacroix R, Robert S, Poncelet P, Kasthuri RS, Key NS, Dignat-George F, et al. Standardization of platelet-derived microparticle enumeration by flow cytometry with calibrated beads: results of the International Society on Thrombosis and Haemostasis SSC Collaborative workshop. *J Thromb Haemost* 2010;8:2571–4.
262. Christianson HC, Svensson KJ, Beltinga M. Exosome and microvesicle mediated phenotypic transfer in mammalian cells. *Semin Cancer Biol.* 2014;28:31–8.
263. Ciravolo V, Huber V, Ghedini GC, Venturelli E, Bianchi F, Campiglio M, et al. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. *J Cell Physiol.* 2012;227:658–67.
264. Falanga A, Tartari CA, Marchetti M. Microparticles in tumor progression. *Thromb Res.* 2012;129(Supplement 1):132–6.
265. Brill A, Dashevsky O, Rivo J, Gozal Y, Varon D. Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res.* 2005;67:30–8.
266. Martinez MC, Andriantsitohaina R. Microparticles in angiogenesis: therapeutic potential. *Circ Res.* 2011;109:110–9.
267. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11:889–96.
268. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009;136:215–33.
269. Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet* 2015;16: 421–33.
270. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:509–24.
271. Bray PF, McKenzie SE, Edelstein LC, Nagalla S, Delgrosso K, Ertel A, et al. The complex transcriptional landscape of the anucleate human platelet. *BMC Genomics* 2013;14:1.
272. Laffont B, Corduan A, Ple H, Duchez AC, Cloutier N, Boilard E, et al. Activated platelets can deliver mRNA regulatory Ago2 · microRNA complexes to endothelial cells via microparticles. *Blood* 2013;122:253–61.

273. Laffont B, Corduan A, Rousseau M, Duchez AC, Lee CH, Boilard E, et al. Platelet microparticles reprogram macrophage geneexpression and function. *Thromb Haemost* 2016;115:311–23.
274. Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, Romijn FP, Hack CE, Sturk A. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost* 2001;85:639–46.
275. Willeit P, Zampetaki A, Dudek K, Kaudewitz D, King A, Kirkby NS, et al. Circulating microRNAs as novel biomarkers for platelet activation. *Circ Res* 2013;112:595–600.
276. Liang H, Yan X, Pan Y, Wang Y, Wang N, Li L, et al. MicroRNA-223 delivered by platelet-derived microvesicles promotes lung cancer cell invasion via targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer* 2015;14:58