

Micropartikels in gezondheid en ziekte

Bachelorscriptie Biomedische Wetenschappen
Pathofysiologie research
Biomedische Wetenschappen, Life Science and Technology
Rijksuniversiteit Groningen

Auteur: Sanne Norder
Studentnummer: s1857754
Jaar van aanvang: 2009
Begeleider: dr. M.C. Harmsen
Datum: juli 2012

Inhoudsopgave

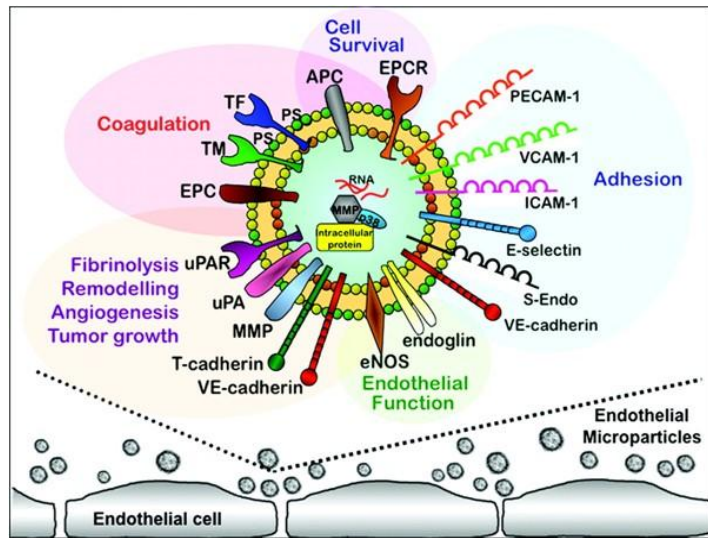
Samenvatting.....	3
Inleiding	4
Biochemische basis van micropartikels.....	6
Rol van plasmamembraan en cytoskelet in micropartikel vorming.....	6
Scott syndroom	8
Stimulus voor micropartikel vorming.....	8
Micropartikel samenstelling en communicatie	10
Samenstelling van micropartikels	10
Communicatie tussen cellen via micropartikels.....	10
Zelfde oorsprong maar een verschillende samenstelling	12
Micropartikels verwijderen uit de circulatie	13
Micropartikels bij gezondheid en ziekte	14
Stamcellen	15
Wat is een stamcel	15
Wat is een mesenchymale stamcel	16
Micropartikels van stamcellen	17
Therapie.....	18
Discussie	20
Literatuur.....	21

Samenvatting

Micropartikels (MPs) zijn membraanblaasjes van 0.1 tot 1 μm die vrijkomen van de cel doordat ze afsnoeren van het plasmamembraan. Deze MPs worden afgesnoerd als de cel geactiveerd wordt of als de cel in apoptose is. Verschillende celtypen kunnen MPs produceren. MPs bevatten eiwitten, cytokines, chemokines, enzymen, groeifactoren, mRNA en miRNA. De samenstelling van een MP is deels gelijk aan de ouderlijke cel, maar door een sorteermecanisme zijn de MPs selectief verrijkt met bepaalde bestanddelen. MPs zijn een communicatiesysteem, de ouderlijke cel kan via het MP communiceren met de doelcel. Dit gebeurt doordat de inhoud of een signaal van het MP wordt doorgegeven aan de doelcel, waardoor cellen over een grote afstand met elkaar kunnen communiceren. De oorsprong en de concentratie van MPs kunnen veranderen door fysiologische en pathologische condities. Bij bepaalde ziekten zijn er veranderingen in de concentratie en het subtype van MPs, daarnaast kunnen MPs ook beschermende effecten hebben. Deze eigenschappen van MPs zorgen ervoor dat MPs bij therapie kunnen worden ingezet. Ook is het mogelijk dat de MPs afkomstig van stamcellen in de toekomst bij therapie gebruikt kunnen worden. In deze scriptie wordt de huidige kennis over MPs weergegeven.

Inleiding

Micropartikels (MPs) komen vrij door afsnoering van het plasmamembraan. De diameter van de membraanblaasjes is 0.1 tot 1 μm . MPs kunnen worden gevonden in het bloed, urine, pleuravocht, gewrichtsvloeistof en speeksel. Het meeste onderzoek is gedaan naar de MPs uit de bloedcirculatie, omdat deze MPs gemakkelijk te onderzoeken zijn (Angelillo-Scherrer, 2012). MPs worden van het plasmamembraan afgesnoerd als de cel geactiveerd wordt en door apoptose (Piccin *et al.*, 2007). Verschillende celtypen produceren MPs, dit zijn onder andere leukocyten, bloedplaatjes en endotheelcellen. MPs bevatten antigenen van de ouderlijke cel, hierdoor kan er worden achterhaald van welk celtype een MP afgesnoerd is. In figuur 1 is een voorbeeld van hoe een MP er uit kan zien, dit is een MP afkomstig van een endotheel cel. Meer dan 80% van de circulerende MPs in een gezond persoon heeft antigenen van bloedplaatjes of megakaryocyten. Door bepaalde fysiologische en pathologische condities kan de oorsprong en de concentratie van de circulerende MPs veranderen (Angelillo-Scherrer, 2012).



Dignat-George & Boulanger, 2011

Figuur 1. Micropartikel afkomstig van een endotheelcel.

Bloedplaatjes kunnen gezien worden als de MPs die als eerste ontdekt zijn. Bloedplaatjes zijn deeltjes die een selectieve inhoud hebben en geen celkern, Golgi-apparaat en mitotisch apparaat bevatten. MPs en bloedplaatjes worden beide van een membraan afgesnoerd, bloedplaatjes worden afgesnoerd van het membraan van een megakaryocyt. De grootte (2-3 μm) en de inhoud van een bloedplaatje verschillen van het standaard beschreven MP (Kuter *et al.*, 1997). In 1949 werd er ontdekt dat er in bloedplaatjesvrij plasma een factor zit dat voor een versnelling van trombine vorming zorgt. Trombine is een enzym dat een rol speelt bij de bloedstolling. In 1967 is er celmembraan afkomstig materiaal in bloedplaatjesvrij plasma gevonden dat trombine produceert. Met behulp van elektronen microscopie werd aangetoond dat deze MPs afkomstig waren van geactiveerde bloedplaatjes. Er is veel onderzoek gedaan naar de stollingsbevorderende activiteit van MPs die afkomstig zijn van bloedplaatjes (Piccin *et al.*, 2007). Naast onderzoek naar MPs die afkomstig zijn van bloedplaatjes is er in de afgelopen jaren ook onderzoek gedaan naar MPs afkomstig van andere celsoorten, bijvoorbeeld MPs van stamcellen.

Om te begrijpen welke rol MPs spelen bij gezondheid en bij ziekte is het belangrijk om te weten door welke stimulus een MP ontstaat en welke eiwitten betrokken zijn bij de vorming van een MP. Daarnaast is er ook kennis nodig over de samenstelling van een MP, zoals welke inhoud er in het MP zit en uit welke eiwitten en lipiden het MP membraan bestaat. Deze kennis kan helpen bij het

begrijpen van de communicatie tussen de ouderlijke cel die het MP produceert en de doelcel die informatie ontvangt van het MP.

Het aantal MPs en de subpopulaties van MPs kunnen verschillend zijn in het bloed van gezonde en zieke patiënten. Bij een groot aantal ziekten zijn er veranderingen van MPs waargenomen (Tushuizen *et al.*, 2011). Ook stamcellen produceren MPs, stamcellen worden bij bepaalde ziekten als therapie ingezet. Met de huidige kennis die er is over de rol van MPs bij ziekten, is het mogelijk om na te denken over de rol van MPs in therapie. MPs die afkomstig zijn van stamcellen kunnen mogelijk een therapie zijn bij bepaalde ziekten.

Deze scriptie is geschreven op basis van review artikelen en een klein aantal researchartikelen. In PubMed gaf het steekwoord cell-derived microparticles 948 hits, waarvan 171 reviews. De steekwoorden stem cells en microparticles gaven 155 hits, waarvan 18 reviews. Op dit moment is het onderzoeksveld snel groeiend. Aan de hand van de gevonden review artikelen en een aantal researchartikelen wordt in deze scriptie de huidige kennis over MPs weergegeven.

Biochemische basis van micropartikels

Rol van plasmamembraan en cytoskelet in micropartikel vorming

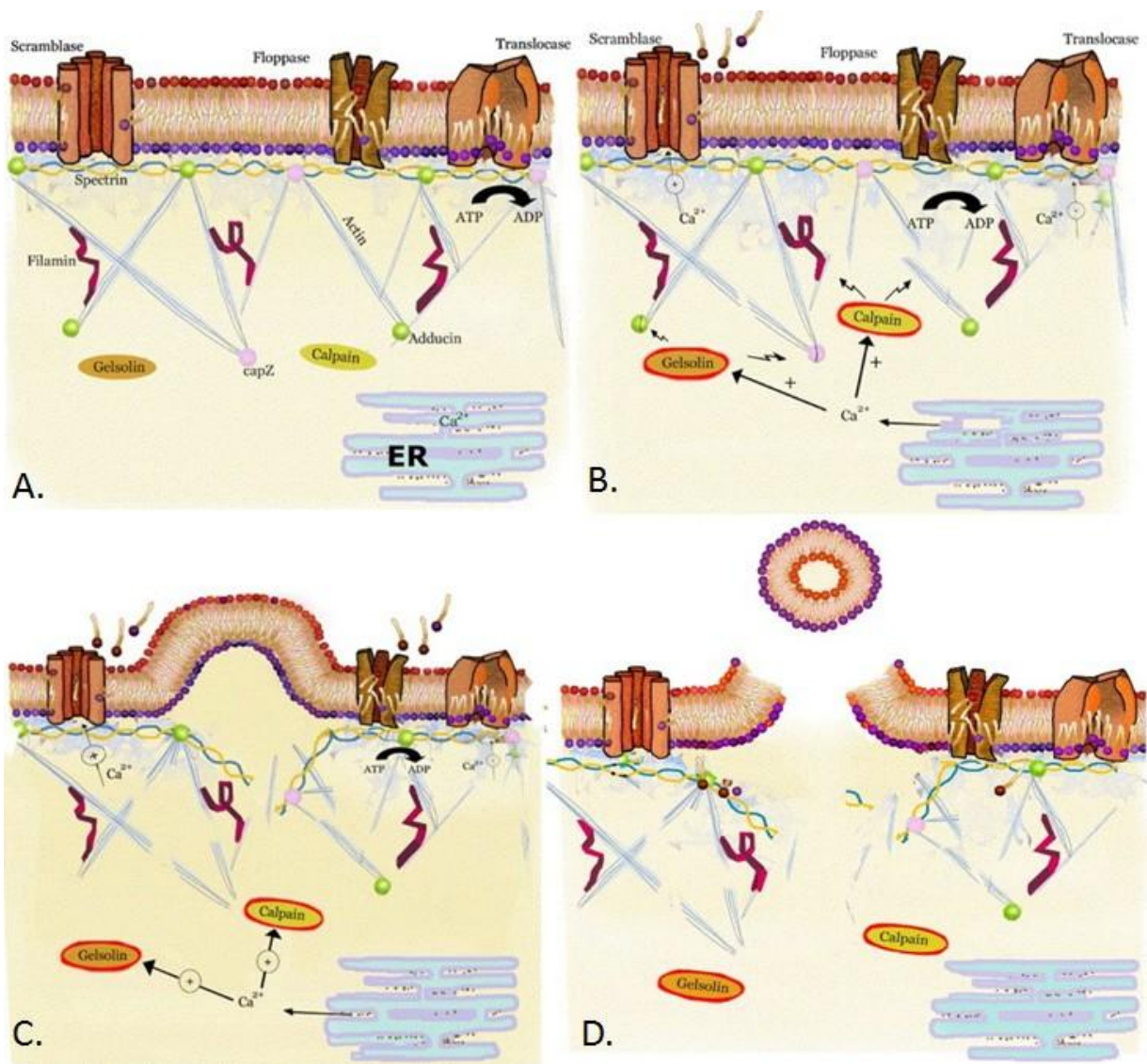
Het plasmamembraan van een eukaryote cel bestaat uit twee fosfolipidenlagen, deze lagen hebben een verschillende specifieke fosfolipiden samenstelling. Door deze verschillende lagen is het plasmamembraan asymmetrisch. De binnenlaag bevat voornamelijk aminofosfolipiden fosfatidylserine (PS) en fosfatidylethanolamine (PE), de buitenlaag bevat voornamelijk fosfatidylcholine (PC) en sfingomyeline (SM) (Morel *et al.*, 2011). Bij het behouden van de plasmamembraan asymmetrie zijn een aantal enzymen betrokken. Dit zijn aminofosfolipide translocase, floppase, scramblase, calpain en in de bloedplaatjes is er ook gelsolin (Piccin *et al.*, 2007).

Aminofosfolipide translocase is een adenosinetriphosfaat (ATP) afhankelijke transporter die de aminofosfolipiden PE en PS van de buitenlaag naar de binnenlaag van het membraan transporteert, waardoor de membraan asymmetrie behouden blijft. Floppase heeft een vergelijkbare functie als aminofosfolipide translocase, floppase is ook ATP afhankelijk. Floppase brengt fosfolipiden van de binnenlaag naar de buitenlaag van het plasmamembraan. Het is nog niet bekend welke fosfolipiden het transporteert, er wordt verwacht dat floppase samenwerkt met de aminofosfolipide translocase. Scramblase komt voornamelijk voor in het plasmamembraan van bloedplaatjes, deze transporter laat fosfolipiden het plasmamembraan passeren. Dit zorgt ervoor dat PS van de binnenlaag naar de buitenlaag van het plasmamembraan getransporteerd wordt. Dit resulteert in het verliezen van de asymmetrie van het plasmamembraan. Calpain heeft meerdere functies: het knippen van cytoskelet filamenten, het activeren van apoptose en het helpen bij het afstoten van de MPs. Gelsolin is een enzym dat specifiek is voor de vorming van MPs in bloedplaatjes. In het cytoskelet zorgt gelsolin voor het verwijderen van de capping eiwitten aan het uiteinde van een actinefilament, zodat actine zich kan reorganiseren in de cel. Aminofosfolipide translocase en floppase zijn actief bij een lage calciumconcentratie in het cytoplasma. Scramblase, calpain en gelsolin worden geactiveerd door een verhoogde calciumconcentratie in het cytoplasma. Voor de vorming van een MP moet er remodeling van het plasmamembraan plaatsvinden, de membraan asymmetrie moet verloren gaan (Piccin *et al.*, 2007).

Naast de plasmamembraan remodeling die moet plaatsvinden bij het produceren van een MP, is ook een verandering in het cytoskelet noodzakelijk voordat het MP geproduceerd kan worden. In het cytoskelet moeten de actinefilamenten (in bloedplaatjes) of de actine-spectrin verbindingen (in andere celtypen) geknipt worden. In inactieve bloedplaatjes hebben actinefilamenten een cap aan het uiteinde van het filament, adductin of CAP Z, deze caps zorgen dat de structuur van het cytoskelet wordt behouden. Om MPs te produceren moeten ook de caps van de actinefilamenten verwijderd worden (Piccin *et al.*, 2007).

Een inactieve cel heeft een lage calciumconcentratie in het cytoplasma, het intracellulaire calcium bevindt zich in het endoplasmatisch reticulum. In tegenstelling tot een inactieve cel heeft een actieve cel een hoge calciumconcentratie in het cytoplasma. In figuur 2a is een inactieve cel te zien, het intracellulaire calcium zit in het endoplasmatisch reticulum. Aminofosfolipide translocase en floppase zijn hier actief en scramblase, calpain en gelsolin zijn inactief. De lipiden van het plasmamembraan zijn asymmetrisch in rust, in de afbeelding hebben de fosfolipidenlagen verschillende kleuren. In figuur 2b is de cel geactiveerd, er komt calcium vrij uit het endoplasmatisch reticulum en de

intracellulaire calcium concentratie gaat omhoog. Door het calcium worden scramblase, calpain en gelsolin geactiveerd. Calpain knipt actine en spectrin, gelsolin knipt de caps van de actinefilament uiteinden af. Aminofosfolipide translocase en floppase worden geïnactiveerd door de hoge calcium concentratie in het cytoplasma. Dit zorgt ervoor dat PE naar de buitenlaag van het membraan gaat, waardoor de membraan asymmetrie verdwijnt. Het cytoskelet is verstoord in figuur 2c, het cytoskelet is niet meer verbonden met het plasmamembraan waardoor membraan budding kan plaatsvinden. Op dit moment zijn de fosfolipidenlagen niet meer asymmetrisch. In figuur 2d is een MP afgesnoerd van het plasmamembraan, het MP heeft voornamelijk PE in de buitenlaag van het membraan (Piccin *et al.*, 2007).



Piccin *et al.*, 2007

Figuur 2. Vorming van een MP door asymmetrie van het plasmamembraan en cytoskelet verstooring. A: Een inactieve cel. B: Een actieve cel. C: Verandering van plasmamembraan en cytoskelet. D: Afsnoeren van MP.

Scott syndroom

Scott syndroom is een zeldzame aandoening met als enige symptoom ernstige bloedingen. Er is een verslechterde bloedstollingfunctie door geactiveerde bloedplaatjes. De bloedplaatjes kunnen geen stollingsbevorderende MPs maken. De buitenlaag van het MP membraan bestaat uit aminofosfolipiden. Deze aminofosfolipiden zijn nodig voor de trombine omzetting, trombine bevordert de bloedstolling. De trombine concentratie is bij patiënten met het Scott syndroom verminderd. Dit laat zien dat het heel belangrijk is voor de MP productie dat membraan remodeling plaats vindt, waarbij de aminofosfolipiden naar de buitenlaag van het plasmamembraan getransporteerd worden (Satta *et al.*, 1997).

Doordat er waarschijnlijk een mutatie of een deletie in een transporter zit die PS naar de buitenlaag van het plasmamembraan transporteert (Toti *et al.*, 1996), is er te weinig PS aanwezig in de buitenlaag van het plasmamembraan. Hierdoor vindt de trombine omzetting niet plaats en wordt de bloedstolling verstoord, wat leidt tot ernstige bloedingen. Volgens Piccin *et al.* is er een defect in de scramblase transporter. Met de huidige kennis over scramblase lijkt het aannemelijk dat scramblase de oorzaak is van het Scott syndroom, maar het is mogelijk dat er naast scramblase ook andere eiwitten betrokken zijn bij het PS transport.

Het Scott syndroom komt naast mensen ook in Duitse herdershonden voor, deze honden zijn een natuurlijk diermodel. Het was al bekend dat het Scott syndroom autosomaal recessief overerft. Omdat de ziekte zo zeldzaam is was het niet mogelijk om bij mensen een Genome-wide Linkage analyse uit te voeren, om te kijken welk gen betrokken is bij deze ziekte. Deze studie is wel uitgevoerd bij Duitse herdershonden (Brooks *et al.*, 2010).

Stimulus voor micropartikel vorming

MPs ontstaan door het activeren van een cel of door apoptose. Het activeren van de cel is een goed gereguleerd proces (Montoro-Garcia *et al.*, 2011). MPs worden geproduceerd als de cel geactiveerd wordt door een agonist. Er zijn veel agonisten die voor MP productie kunnen zorgen. Bacteriële lipopolysacchariden en verschillende cytokines zorgen voor de productie van MP bij monocytten, endotheelcellen, levercellen en gladde spiercellen van de arteriën. Een aantal minuten nadat een agonist de cel activeert worden de MPs afgescheiden. Het loslaten van MPs is afhankelijk van de calciumconcentratie verhoging in het cytoplasma (VanWijk *et al.*, 2003). Als een cel gestimuleerd wordt gaat de calciumconcentratie in het cytoplasma omhoog, PS en PE worden naar de buitenlaag van het membraan getransporteerd. Er ontstaat vervolgens membraan asymmetrie wat leidt tot membraan budding en het afscheiden van MPs. MPs dragen markers die ontstaan zijn door het activeren van de ouderlijke cel. De stimulus die voor het activeren van de cel zorgt, bepaalt het fenotype van het MP (Morel *et al.*, 2011).

Bij apoptose worden er blaasjes met cytoplasma afgesnoerd, dit zijn apoptotische lichamen. Deze apoptotische lichamen verschillen van MPs, de apoptotische lichamen zijn groter en hebben een andere samenstelling (VanWijk *et al.*, 2003). De apoptotische lichamen bevatten DNA en organellen van de dode cel. Er is ook PS op de buitenlaag van het membraan van apoptotische lichamen (Montoro-Garcia *et al.*, 2011). Vergeleken met MPs worden de apoptotische lichamen anders gevormd. Tijdens apoptose knippen caspases Rho-associated protein kinase 1 (ROCK I), waardoor ROCK I actief wordt. Door ROCK I wordt de kracht van actine en myosine filamenten vergroot en de actine en myosine filamenten worden gekoppeld aan het plasmamembraan. De activiteit van ROCK I

leidt tot de vorming van apoptotische lichamen (VanWijk *et al.*, 2003). Er zijn verschillen in expressie van markers op MPs van geactiveerde cellen en apoptotische cellen. Bijvoorbeeld endotheelcellen die in apoptose zijn hebben een verhoogd aantal MPs die expressie hebben van de markers CD31 en CD105. Bij het activeren van de cel is er een verhoogd aantal MPs die expressie hebben van CD54, CD62E en CD106. In de apoptotische endotheelcel blijven de markers CD54, CD62E en CD106 gelijk aan de controle (Jimenez *et al.*, 2003). Een mogelijke verklaring voor het ontstaan van MPs bij apoptose is dat geactiveerde macrofagen PS receptoren hebben die PS op apoptotische cellen kunnen herkennen. Door de MPs kunnen macrofagen vervolgens apoptotische cellen en celfragmenten verwijderen (Piccin *et al.*, 2007).

Micropartikel samenstelling en communicatie

Samenstelling van micropartikels

Tijdens het afsnoeren van het MP van het plasmamembraan wordt er wat cytoplasma in het MP opgenomen. Dit cytoplasma van de cel bevat cytokines, chemokines, enzymen, groeifactoren en signaaleiwitten. De inhoud van de cel is afhankelijk van de agonist die de cel activeert en de micro-omgeving van de cel. De antigenen die gevonden zijn op de MPs en de inhoud van de MPs zijn deels gelijk aan dat van de ouderlijke cel. Het MP bevat niet alleen bestanddelen van de ouderlijke cel, omdat bepaalde bestanddelen van het MP selectief verrijkt zijn in verhouding tot de ouderlijke cel (Mause & Weber, 2010).

In MPs zijn verschillende soorten genetisch materiaal aangetroffen, zoals mRNA en miRNA. Uit onderzoek is gebleken dat MPs niet random genetisch materiaal dragen. Het mechanisme voor het selecteren is nog niet bekend, de verwachting is dat het inpakken van genetisch materiaal afhangt van de stimulus die de cel heeft geactiveerd. MPs die afkomstig zijn van apoptotische cellen bevatten DNA resten. MicroRNA (miRNA) is niet-coderend RNA wat deels complementair is aan mRNA. Door miRNA kan dit mRNA worden gesilenced of versneld worden afgebroken (Mause & Weber, 2010). In de circulatie zijn RNAses aanwezig die RNA afbreken, miRNA wordt hierdoor ook afgebroken. MPs kunnen een bescherm mechanisme van miRNA tegen de RNAses zijn. Er is een specifiek transport van miRNA in het MP, want de gestimuleerde en ongestimuleerde ouderlijke cellen hebben een ander miRNA patroon dan het MP (Diehl *et al.*, 2012). De functie van extracellulair miRNA is nog steeds niet duidelijk, miRNAs zijn waarschijnlijk betrokken bij fundamentele processen in de cel en de cel cyclus regulatie. Ze zijn dan ook aanwezig in MPs van gezonde donoren. In mesenchymale stamcellen zijn precursors van miRNA in de MPs gevonden (Montoro-Garcia *et al.*, 2011).

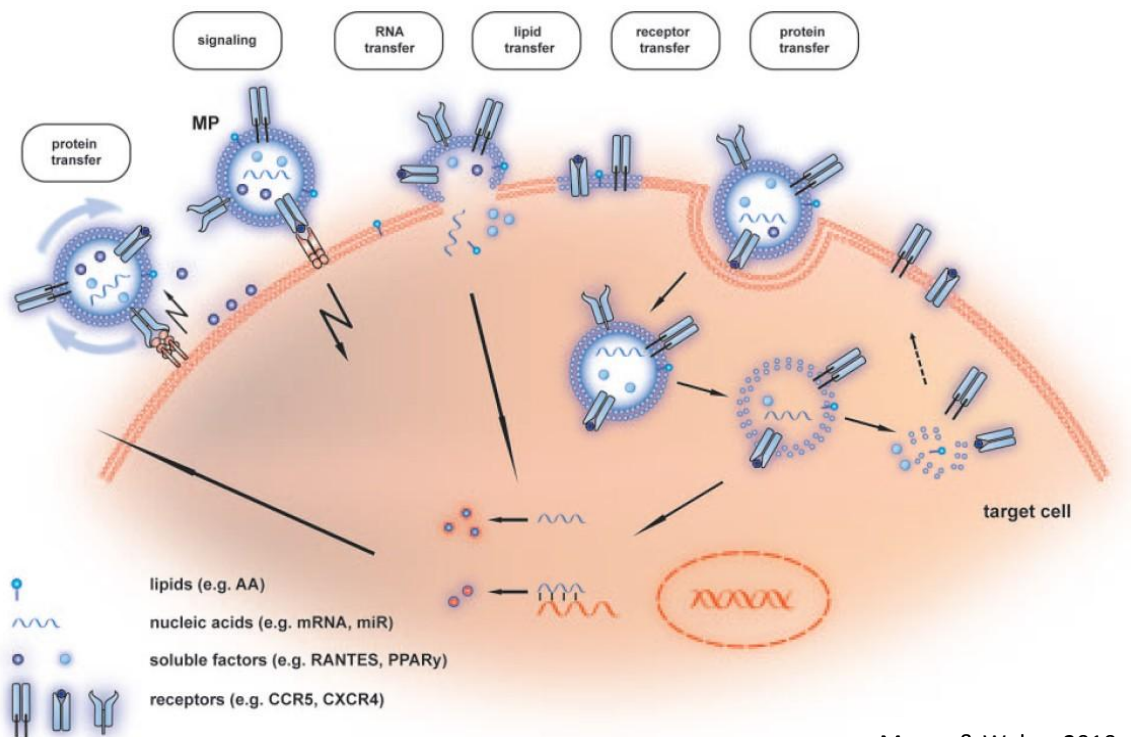
Ook zijn er lipiden gevonden in MPs. Over de samenstelling van de lipiden van een MP is nog weinig bekend. De lipiden kunnen de activiteit van de eiwitten in het MP beïnvloeden. Bij gezonde personen bestaat het membraan van het MP uit cholesterol en fosfolipiden zoals: PS, PE, PC, SM, lyso-fosfatidylcholine, lyso-fosfatidylserine, lyso-fosfatidylethanolamine en fosfatidylinositol. Het is niet bekend of er bij ziekte een verandering is van de fosfolipiden samenstelling van het MP membraan (Martinez *et al.*, 2011).

Communicatie tussen cellen via micropartikels

MPs kunnen een grote verscheidenheid van bioactieve stoffen, receptoren en adhesiemoleculen hebben op het membraan van het MP. Deze bestanddelen van het MP zorgen voor communicatie van de ouderlijke cel met doelcellen. Het kan zijn dat MPs signalen door geven aan de doelcel door het activeren van receptoren op de doelcel. Dit gebeurt mogelijk met behulp van de membraan geassocieerde moleculen die op het MP zitten, het MP functioneert dan als een signaalmolecuul. Hierbij is er geen overdracht van de inhoud van het MP naar de doelcel nodig. Ook is het mogelijk dat het MP een signaal doorgeeft door de inhoud direct aan de doelcel te geven (figuur 3). Bij beide mechanismen is het mogelijk dat de MPs een grote afstand van de ouderlijke cel kunnen afleggen. Dit signaleringsproces tussen cellen is een communicatie netwerk waarbij informatie gedeeld kan worden en processen snel gereguleerd kunnen worden. De membraanmoleculen van het MP zorgen voor een specifiek en efficiënt transportsysteem. De membraanmoleculen functioneren niet alleen als adhesie moleculen die specifieke interacties aangaan met de doelcel, maar het kan ook een functie hebben in het reguleren van de vrijlating van de inhoud van het MP (Mause & Weber, 2010).

De membraan geankerde receptoren van MPs kunnen worden overgebracht naar het membraan van de doelcel. De doelcel kan door de receptor die afkomstig is van het MP nieuwe interacties aangaan. MPs kunnen ook eiwitten transporteren zoals cytokines, chemokines en groeifactoren. Het regulatoire mechanisme voor het transportproces begint met het selectief sorteren en inpakken van eiwitten in het MP. Vervolgens kan de inhoud van het MP aan de doelcel worden gegeven, doordat de cel een interactie met het MP heeft. Over het sorteermecanisme van het MP is nog niets bekend. Het eiwittransport mechanisme is bijvoorbeeld het transportsysteem voor het pro-inflammatoire cytokine IL-1 β . In onderzoek werden cellen geactiveerd door extracellulair ATP dat bond aan de P2X7 purinerge receptor. Deze cellen produceerden voornamelijk MPs met IL-1 β , er was weinig IL-1 β aanwezig in het MP-vrij supernatant. Ook is het mogelijk dat eiwitten in de inactieve vorm in de ouderlijke cel aanwezig zijn en actief worden in het MP. In MPs afkomstig van microglia wordt IL-1 β verpakt als pro-IL-1 β , in de MPs zitten proteasen die het cytokine knippen zodat het actief wordt (Mause & Weber, 2010).

Naast eiwitten is er ook mRNA en miRNA aanwezig in een MP. MPs kunnen mogelijk de expressie van genen van een doelcel veranderen door genetische informatie van de ouderlijke cel door te geven. Als er weefselschade is kan dit proces belangrijk zijn tijdens de ontwikkeling van de doelcel, zodat er een reparatie mechanisme begonnen kan worden en zodat stamcellen en progenitorcellen erbij betrokken kunnen worden. De MPs die afkomstig zijn van stamcellen en progenitorcellen, die aangetrokken worden tot de plek van schade, kunnen een overlevingssignaal en een signaal voor weefselherstel geven. Naast membraanreceptoren, eiwitten en genetisch materiaal is ook gevonden dat de celfunctie veranderd kan worden door lipide componenten die aanwezig zijn in het MP (Mause & Weber, 2010).



Mause & Weber, 2010

Figuur 3. Communicatie tussen micropartikel en doelcel.

Zelfde oorsprong maar een verschillende samenstelling

MPs die afkomstig zijn van dezelfde cel kunnen anders van samenstelling zijn en een verschillende functie hebben, bijvoorbeeld de MPs van de neutrofiel. Deze neutrofiel MPs kunnen als inflammatoire en anti-inflammatoire mediators functioneren, zodat ze de passende inflammatoire respons kunnen geven. In endotheel cellen kan de expressie van pro-inflammatoire genen gestimuleerd worden door inflammatoire MPs van de neutrofiel, wat kan leiden tot cytokine productie en adhesie van leukocyten aan endotheelcellen. Als anti-inflammatoire mediator heeft het neutrofiel afkomstig MP effect op de macrofagen. Daarnaast wordt de interactie tussen leukocyten en endotheel cellen geremd, doordat het MP annexin A1 in het membraan heeft (Angelillo-Scherrer, 2012).

Micropartikels verwijderen uit de circulatie

Het MP niveau in de circulatie hangt af van de productie en de klaring van MPs. MPs worden geklaard door macrofagen die de partikels opnemen, de macrofagen herkennen PS fragmenten. De herkenning vindt direct plaats via receptoren die PS binden of indirect via receptoren die geopsoniseerde MPs herkennen met lactadherin, protein S, GAS6 of complement (Davison & Lopez, 2009). Uit eerder onderzoek met MPs uit bloedplaatjes is gebleken dat MPs geklaard worden met behulp van lactadherin. De halfwaardetijd van deze MPs was minder dan 5 minuten. Lactadherin wordt uitgescheiden door een macrofaag, dit bindt aan PS van een MP. Bij een niet werkende klaring bij lactadherin deficiënte muizen was er een verhoogde MP concentratie in de circulatie. Ook is gevonden dat de milt waarschijnlijk betrokken is bij de klaring van MPs (Dasgupta *et al.*, 2009).

Micropartikels bij gezondheid en ziekte

Er zijn verschillen in hoeveelheden MPs en subpopulaties van MPs aanwezig in het bloed van gezonde en ziekte patiënten. Een aantal ziekten waarbij veranderingen van MPs plaatsvinden zijn: arteriosclerose, sepsis, diabetes, chronische verhoogde bloeddruk, acuut hartinfarct en pre-eclampsia. MPs kunnen bijdragen aan inflammatoire responsen bij ziekte, maar ook in gezondheid spelen MPs een rol bij inflammatie. MPs kunnen als pro-inflammatoire en anti-inflammatoire mediators functioneren, zodat de juiste inflammatoire respons wordt gegeven (Tushuizen *et al.*, 2011). De MP populaties verschillen afhankelijk van de ziekte. Er is bijvoorbeeld alleen in patiënten met diabetes type 1 een verhoogd aantal MPs die afkomstig zijn van bloedplaatjes en endotheelcellen, bij diabetes type 2 is dit niet het geval. Er is gevonden dat MPs afkomstig van endotheelcellen en endotheel progenitorcellen van obese diabetische muizen zonder leptine receptoren gecorreleerd zijn met een hogere bloedsuiker concentratie en een groter infarct volume na ischemische hersenschade (Martinez *et al.*, 2011).

Circulerende MPs veroorzaken endotheel disfunctie in patiënten met een hartinfarct, diabetes, pre-eclampsia, metabolisch syndroom en obstructieve slaap apneu (Martinez *et al.*, 2011). MPs afkomstig van verschillende celtypen en verschillende ziekten kunnen resulteren in endotheel disfunctie, doordat het de balans tussen stikstofmonoxide en de reactieve zuurstofverbindingen verandert. MPs van T-lymfocyten verminderen de productie van stikstofmonoxide en verhogen oxidatieve stress *in vivo* in endotheelcellen. *In vivo* kan vasodilatatie door stikstofmonoxide gemeten worden, verslechterde vasodilatatie wordt geassocieerd met endotheel afkomstige MPs van verschillende ziekten. Daarnaast kunnen MPs ook de endotheel disfunctie verbeteren door een verhoging van stikstofmonoxide en vermindering van oxidatieve stress (Tushuizen *et al.*, 2011).

Circulerende MPs spelen een rol bij verschillende cardiovasculaire ziekten. Circulerende MPs laten activering of schade van circulerende cellen of cellen van de vaten zien. Er zijn verschillen in circulerende MPs aangetoond bij coronaire vaataandoeningen, beroerte, aorta aneurysma, perifere vaataandoeningen en veneuze trombo-embolie (George, 2008, Piccin *et al.*, 2007). Verhoogde concentraties van circulerende MPs afkomstig van bloedplaatjes, monocyten en endotheel cellen zijn geassocieerd met de meeste cardiovasculaire risicofactoren zoals hoge bloeddruk, obesitas en hoog cholesterol (George, 2008).

Neovascularisatie (groei van nieuwe kleine bloedvaten) kan helpen bij het helen van wonden en helen van schade door zuurstoftekort. MPs kunnen de angiogenese beïnvloeden door de productie van pro-angiogene factoren te verhogen of te verlagen. De invloed van MPs is afhankelijk van de concentratie en de samenstelling van het MP. Tumorgroei kan vertraagd worden wanneer neovascularisatie geblokkeerd wordt. Tumorcellen produceren ook MPs, deze MPs kunnen door het stimuleren van angiogenese het vormen van metastasen vergemakkelijken (Martinez & Andriantsitohaina, 2011).

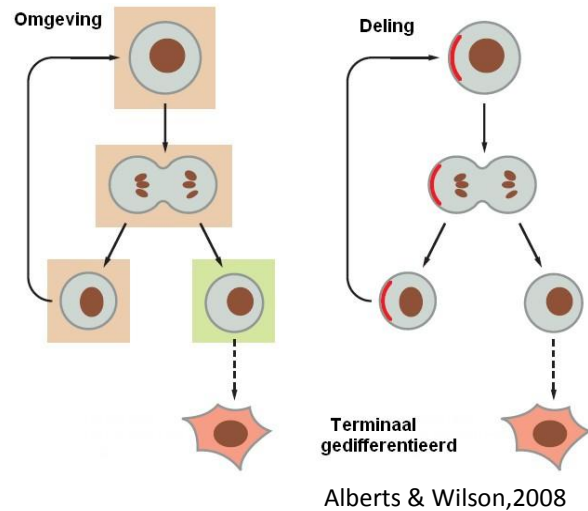
Stamcellen

Wat is een stamcel

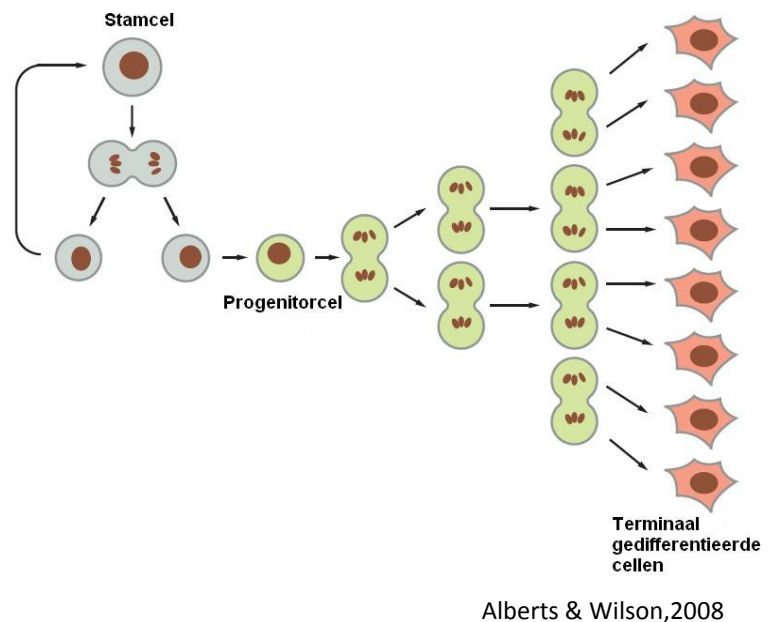
Gedifferentieerde cellen delen niet meer en deze cellen moeten vervangen worden wanneer ze zijn verdwenen. Er zijn dus niet gedifferentieerde cellen die de cellen die verloren zijn gegaan kunnen vervangen. Een stamcel is een zelfvernieuwend cel die niet terminaal gedifferentieerd is, ongelimiteerd kan delen en als de stamcel deelt kan de dochtercel een stamcel blijven of kan het beginnen te differentiëren. Voordat een dochtercel compleet gedifferentieerd is moet de dochtercel cel nog een aantal keer delen (Alberts & Wilson, 2008).

Bij een normale celdeling ontstaan twee dezelfde cellen. Er zijn verschillende mechanismen om twee verschillende dochtercellen te krijgen bij de deling van een stamcel. Deze mechanismen zijn gebaseerd op de asymmetrie van de omgeving en de asymmetrie van de celdeling. Bij asymmetrie van de omgeving zijn de dochtercellen precies hetzelfde, maar de dochtercellen gaan beide een ander pathway in. De dochtercellen staan onder een verschillende invloed van de omgeving. De omgeving bepaalt of er meer of minder zelfvernieuwing van de stamcel is. Bij asymmetrie van de celdeling is er asymmetrie in de cel zelf dat zorgt voor twee verschillende dochtercellen (figuur 4). Om de hoeveelheid stamcellen in een weefsel stabiel te houden moet 50% van de dochtercellen een stamcel blijven (Alberts & Wilson, 2008).

Er zijn ook cellen die veel vaker delen dan normale cellen, maar gelimiteerd zijn in het aantal delingen die ze kunnen maken. Dit zijn progenitorcellen, deze cellen zitten tussen de stamcel en de gedifferentieerde cel in. Deze cellen vermenigvuldigen de gedifferentieerde nakomeling van de stamceldeling (figuur 5). Stamcellen zijn langzaam delende cellen, de progenitorcellen delen sneller dan de stamcellen. Hierdoor kan een kleine populatie delende stamcellen voldoende gedifferentieerde cellen produceren (Alberts & Wilson, 2008).



Figuur 4. Deling van stamcellen waarbij verschillende dochtercellen gevormd worden.



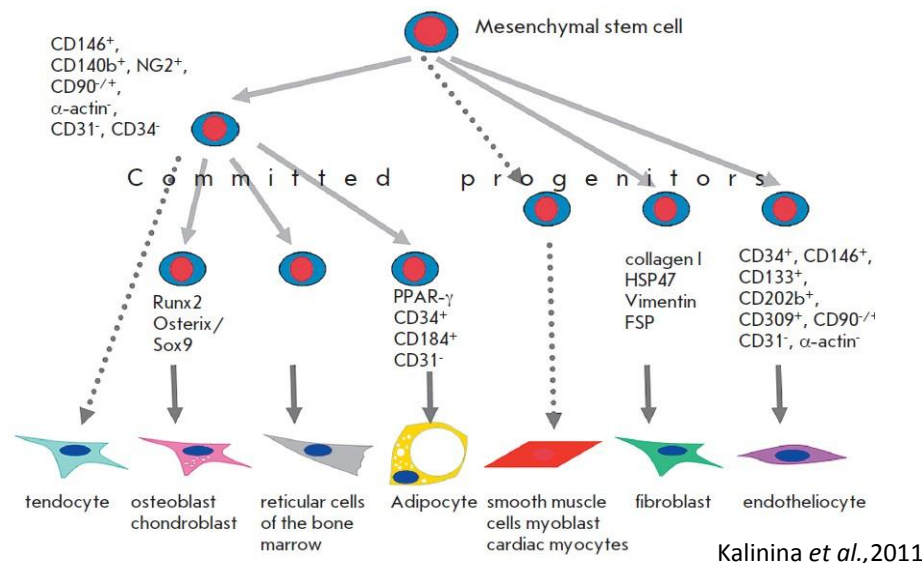
Figuur 5. Deling van stamcellen en progenitorcellen.

Wat is een mesenchymale stamcel

In bijna elk weefsel worden cellen vernieuwd door de proliferatie en differentiatie van de weefsel-specifieke stamcel. Naast weefsel-specifieke stamcellen zijn er andere stamcellen ontdekt, dit zijn mesenchymale stamcellen (MSCs). Er waren cellen gevonden die voor botvorming konden zorgen in diermodellen, in deze dieren werden gekweekte beenmerg stromale cellen getransplanteerd. Ook is gevonden dat deze populatie cellen afkomstig van het beenmerg typische stamcellen zijn, maar ze verschillen van de hematopoïetische stamcellen. Hematopoïetische stamcellen bevinden zich in het beenmerg en vormen alle typen bloedcellen. Tijdens het kweken van de MSCs waren de cellen nog steeds in staat om in verschillende celtypen te differentiëren. Het idee was dat de MSC die afkomstig is van beenmerg bovenaanstaat in de hiërarchie van MSCs (figuur 6). Dochtercellen van de MSC ondergaan differentiatie, waarbij verschillende celtypen ontstaan (Kalinina *et al.*, 2011).

Het is moeilijk om MSCs te identificeren en analyseren in weefsels, het meeste onderzoek is gedaan naar populaties stromale cellen die uit verschillende weefsels geïsoleerd zijn. Deze cellen hebben het vermogen om bij de kweek aan plastic te binden en ze kunnen differentiëren in de richting van botvorming, vetweefsel en kraakbeen. De International Society for Cellular Therapy heeft de term multipotente mesenchymale stromal cellen (MMSC) aan gekweekte cellen gegeven om deze te onderscheiden van de MSCs in het lichaam. De MMSCs moeten aan een aantal eigenschappen voldoen: binden aan plastic tijdens de kweek, een aantal markers moeten op het oppervlak tot expressie worden gebracht en een aantal markers mogen niet tot expressie worden gebracht op het oppervlak. Beenmerg en vetweefsel zijn de beste bronnen voor MMSCs. Er zijn verschillen tussen MMSCs van de verschillende postnatale weefsels en embryonale weefsels, ze verschillen in genexpressie, kolonie vorming en het vermogen van de differentiatie. Het is nog niet duidelijk hoe multipotent de MSC is (Kalinina *et al.*, 2011).

Transplantatie van MMSCs stimuleert de vernieuwing van bot, skeletspieren, hartspier, huid, lever en de perifere zenuwen. Dit gebeurt door integratie van de MMSCs in het weefsel, de MMSCs hebben een secretoire activiteit in het weefsel. MSCs zijn een belangrijke bron van groeifactoren en cytokines die een rol spelen in het herstel van weefsels. Bij schade aan een weefsel wordt de hoeveelheid groeifactor en cytokines die de MSC produceert verhoogd (Kalinina *et al.*, 2011).



Figuur 6. Mesenchymale stamcel hiërarchie.

Micropartikels van stamcellen

Er is aangetoond dat MPs die afkomstig zijn van embryonale stamcellen zorgen voor het herprogrammeren van de hematopoïetische progenitorcellen door horizontale overdracht van mRNA en door overdracht van eiwitten (Ratajczak *et al.*, 2006). MPs afkomstig van embryonale stamcellen kunnen mRNA, miRNA en eiwitten transporteren. Met behulp van GFP kon aangetoond worden dat de MPs konden fuseren met embryonale stamcellen en dat de MPs GFP konden overbrengen naar de doelcel (Yuan *et al.*, 2009). Daarnaast werd er ontdekt dat MPs afkomstig van endotheel progenitorcellen neoangiogenese kunnen activeren *in vivo* en *in vitro*. Neoangiogenese wordt geactiveerd door horizontale overdracht van mRNA naar endotheelcellen (Deregibus *et al.*, 2007).

In MPs van de MSC zitten miRNAs, dit miRNA kan betrokken zijn bij de ontwikkeling van organen, cel overleving, differentiatie en regulatie van het immuunsysteem. Er is aangetoond dat MPs afkomstig van de MSC beschermen tegen acute nier- en leverschade, er zijn indicaties dat deze MPs ook zorgen voor herstel bij acute nier- en leverschade (Tetta *et al.*, 2011). MPs van beenmerg afkomstige MSCs hebben *in vivo* en *in vitro* een pro-survival effect op de nieren. *In vitro* kunnen de MPs apoptose van de tubulus voorkomen door caspase-1 mRNA te downreguleren, hierdoor wordt er gedacht dat de MPs van MSCs een beschermend effect hebben bij acuut nierfalen (Bruno *et al.*, 2012). MPs afkomstig van MSCs bevatten ribonucleo-eiwitten, die betrokken zijn bij intracellulair RNA transport, en hebben selectieve miRNA patronen. Net zo als bij embryonaal afkomstige MPs wordt door de MPs afkomstig van de MSC het miRNA naar de doelcel getransporteerd (Collino *et al.*, 2010).

Therapie

Het is nog niet helemaal duidelijk of MPs de oorzaak of het gevolg zijn van cardiovasculaire ziekten, het is waarschijnlijk dat MPs cardiovasculaire ziekten kunnen veroorzaken. MPs kunnen markers zijn voor cardiovasculaire ziekten, waarbij de MPs veranderen door de ziekte, zodat een MP als een onafhankelijke voorspeller van cardiovasculaire ziekten gebruikt kan worden (Tushuizen *et al.*, 2011). MPs kunnen als therapeutische tool gebruikt worden, door *in vitro* geproduceerde MPs te gebruiken. Door *in vitro* MPs te produceren kunnen de eigenschappen en de moleculaire samenstelling van het MP veranderd worden. In MPs zijn verschillende eiwitten tot overexpressie gebracht door in de ouderlijke cel de eiwitsynthese te verhogen. Dit is mogelijk door specifieke stimulatie met behulp van een farmacologische behandeling van MP producerende cellen. Dit leidt tot eiwitsoortering waardoor een MP een bepaalde samenstelling krijgt. Er zijn MPs geproduceerd van T-cel lijnen die het eiwit Sonic hedgehog bevatten, receptoren voor Sonic hedgehog zitten op de endotheelcel. De endotheelcel kan door deze interactie stikstofmonoxide en Vascular Endothelial Growth Factor veranderen, wat angiogenese induceert. Deze MPs kunnen als therapie gebruikt worden om neovascularisatie te stimuleren in ziekten waarbij een verslechterde angiogenese is. Ook is het mogelijk om MPs te maken van T-cel lijnen die geen Sonic hedgehog bevatten, hierdoor wordt de angiogenese geremd. Dit kan een therapie zijn om tumorvorming te remmen doordat de vascularisatie van de tumor geremd wordt. Dus via een MP waarvan de eiwitten, miRNA en/of mRNA veranderd zijn kan de gewenste informatie aan de doelcel gegeven worden. Hiermee kan het fenotype van de doelcel veranderd worden (Martinez & Andriantsitohaina, 2011).

De MP concentratie zou gebruikt kunnen worden voor het detecteren van ziekten, diagnose en om de voortgang van ziekten te onderzoeken (George, 2008). Na een farmaceutische behandeling voor cardiovasculaire ziekten, die gecorreleerd zijn met een verandering van circulerende MPs, kunnen er veranderingen van MPs in de circulatie gemeten worden. Een verandering van een specifieke populatie of van de concentratie van MPs zal kunnen aangeven of de behandeling werkt of dat er achteruitgang van de ziekte is. Het aanpassen van de MP concentraties door behandeling met medicatie kan de schadelijke effecten van MPs verminderen (Martinez *et al.*, 2011). Een aantal therapieën die gebruikt worden bij cardiovasculaire ziekten verminderden het aantal MPs in de circulatie en verminderen de pro-coagulante activiteit (George, 2008). Verandering van de MP concentratie na een behandeling met medicatie kan komen doordat het medicijn direct effect heeft op de MP productie of dat het medicijn effect heeft op de MP klaring. Daarnaast kan een veranderde concentratie van circulerende MPs ook een beschermend effect hebben, dit zou gebruikt kunnen worden als een therapeutische tool. MPs kunnen enerzijds een therapeutisch doel zijn, waarbij de vorming van MPs en de effecten ervan geremd kunnen worden. Daarnaast kunnen MPs een tool zijn bij therapie, ze kunnen een beschermend effect hebben of schade herstellen (Martinez *et al.*, 2011).

In plaats van de MSC transplantatie kunnen ook alleen de MPs van MSCs gebruikt worden bij een therapie, hierbij wordt maldifferentiatie van de geïmplanteerde MSCs vermeden en de MSCs kunnen dan geen tumorcellen vormen (Tetta *et al.*, 2011). Lai *et al.* heeft MPs van een MSC afscheiding gezuiverd, deze MPs waren beschermend voor het hart. De MPs zijn gezuiverd op basis van grootte. Er wordt gesuggereerd dat door het gemakkelijke zuiveren van MPs van een bepaalde grootte, de MPs van de MSC afscheiding een goede strategie kan zijn voor het behandelen van myocardischemie en myocardiale ischemische reperfusie schade.

Humane vetweefsel afkomstige stamcellen zijn multipotente cellen die in verschillende mesenchymale cellijnen kunnen differentiëren. Deze vetstamcellen zijn gemakkelijk te verkrijgen door liposuctie in vergelijking met de mesenchymale stamcellen die afkomstig zijn van het beenmerg. Er zijn indicaties dat de vetstamcellen een tool kunnen zijn in “regenerative medicine” en plastische chirurgie, maar mogelijk ook in andere medische vakgebieden. Op dit moment lopen er klinische trials met vetstamcellen, maar er is meer onderzoek naar de veiligheid van deze vetstamcellen nodig (Gir *et al.*, 2012). Over de MPs die afkomstig zijn van vetstamcellen zijn nog geen onderzoeken gepubliceerd. Mogelijk kunnen vetstamcellen gebruikt worden voor *in vitro* MP productie voor therapie.

Discussie

MPs kunnen een beschermend en een schadelijk effect hebben bij ziekten. Er is al veel kennis over hoe een MP gevormd wordt vanuit het plasmamembraan van de cel, maar er is meer kennis nodig over de enzymen die helpen bij de MP vorming. Hierdoor zal duidelijk worden waarom de MP vorming mis kan gaan en er geen MPs gevormd kunnen worden, zoals bij het Scott syndroom. Daarnaast zal er onderzocht moeten worden welke samenstelling van een bepaald MP een beschermend effect heeft en welke samenstelling van een MP betrokken is bij ziekten. De verschillende stimuli voor MP vorming, zoals het activeren van de cel en apoptose, zorgen voor een verschillende samenstelling van het MP. Het is nog niet bekend hoe er verschillen in de samenstelling van MPs ontstaan, omdat er nog niet duidelijk is hoe het sorteermecanisme van het MP functioneert. Het sorteermecanisme zorgt ervoor dat de samenstelling van een MP deels gelijk is aan de ouderlijke cel, maar selectief verrijkt is met bepaalde bestanddelen.

In een proteomica studie zijn 730 eiwitten uit MPs, die afkomstig zijn van MSCs uit het beenmerg, geïdentificeerd. Het identificeren van eiwitten die aanwezig zijn in deze MPs is belangrijk om de therapeutische rol van MSCs te begrijpen (Kim *et al.*, 2012). Er is meer onderzoek gedaan naar mRNA, miRNA en eiwitten in MPs in verhouding met de lipiden die in het MP aanwezig zijn. Het is belangrijk dat er naar alle bestanddelen van MPs onderzoek wordt gedaan. Als er niet bekend is welke samenstelling een MP heeft, is er ook niet bekend waarop het MP in het lichaam zal aangrijpen. Voordat MPs in therapie gebruikt gaan worden zal er meer bekend moeten zijn over hoe MPs functioneren als communicatiesysteem. Zoals aan welke cellen een signaal of de inhoud van het MP geven wordt en wat voor effect dit heeft op de doelcel. Het is bijvoorbeeld belangrijk om te weten wat voor mRNA en miRNA er door een MP een doelcel ingaat en of dit genetisch materiaal alleen een endotheelcel in gaat of dat het ook in andere celtypen komt. Naar de klaring van MPs in de circulatie is weinig onderzoek gedaan. Het is mogelijk dat er meerdere mechanismen zijn die helpen bij de MP klaring, deze mechanismen kunnen ook een rol spelen bij ziekten.

Het is nog niet duidelijk hoe multipotent de MSC is, dus in welke weefsels deze cel kan differentiëren. Uit onderzoek bleek dat de MPs van MSCs een beschermend effect kunnen hebben bij nier- en leverschade, mogelijk hebben de MPs van deze stamcellen ook een beschermend effect bij andere aandoeningen. Een voordeel van MPs gebruiken bij therapie is dat snel een grote hoeveelheid MPs geproduceerd kan worden *in vitro*. In de toekomst kunnen vetweefsel stamcellen bij therapie met MPs mogelijk de MSCs afkomstig uit het beenmerg vervangen, omdat deze cellen gemakkelijker te verkrijgen zijn dan de MSCs. Er is nog heel veel onderzoek nodig naar MPs, maar MPs kunnen een potentiële tool zijn bij therapie.

Literatuur

Alberts, B. & Wilson, J. (2008). *Molecular Biology of the Cell*, 5th edn. New York, NY: Garland Science.

Angelillo-Scherrer, A. (2012). Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ.Res.* **110**, 356-369.

Brooks, M., Etter, K., Catalfamo, J., Brisbin, A., Bustamante, C. & Mezey, J. (2010). A genome-wide linkage scan in German shepherd dogs localizes canine platelet procoagulant deficiency (Scott syndrome) to canine chromosome 27. *Gene* **450**, 70-75.

Bruno, S., Grange, C., Collino, F., Deregibus, M. C., Cantaluppi, V., Biancone, L., Tetta, C. & Camussi, G. (2012). Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury. *PLoS One* **7**, e33115.

Collino, F., Deregibus, M. C., Bruno, S., Sterpone, L., Aghemo, G., Viltono, L., Tetta, C. & Camussi, G. (2010). Microvesicles derived from adult human bone marrow and tissue specific mesenchymal stem cells shuttle selected pattern of miRNAs. *PLoS One* **5**, e11803.

Dasgupta, S. K., Abdel-Monem, H., Niravath, P., Le, A., Bellera, R. V., Langlois, K., Nagata, S., Rumbaut, R. E. & Thiagarajan, P. (2009). Lactadherin and clearance of platelet-derived microvesicles. *Blood* **113**, 1332-1339.

Davizon, P. & Lopez, J. A. (2009). Microparticles and thrombotic disease. *Curr.Opin.Hematol.* **16**, 334-341.

Deregibus, M. C., Cantaluppi, V., Calogero, R., Lo Iacono, M., Tetta, C., Biancone, L., Bruno, S., Bussolati, B. & Camussi, G. (2007). Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood* **110**, 2440-2448.

Diehl, P., Fricke, A., Sander, L., Stamm, J., Bassler, N., Htun, N., Ziemann, M., Helbing, T., El-Osta, A. & other authors (2012). Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc.Res.* **93**, 633-644.

Dignat-George, F. & Boulanger, C. M. (2011). The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* **31**, 27-33.

George, F. D. (2008). Microparticles in vascular diseases. *Thromb.Res.* **122 Suppl 1**, S55-9.

Gir, P., Oni, G., Brown, S. A., Mojallal, A. & Rohrich, R. J. (2012). Human adipose stem cells: current clinical applications. *Plast.Reconstr.Surg.* **129**, 1277-1290.

Jimenez, J. J., Jy, W., Mauro, L. M., Soderland, C., Horstman, L. L. & Ahn, Y. S. (2003). Endothelial cells release phenotypically and quantitatively distinct microparticles in activation and apoptosis. *Thromb.Res.* **109**, 175-180.

Kalinina, N. I., Sysoeva, V. Y., Rubina, K. A., Parfenova, Y. V. & Tkachuk, V. A. (2011). Mesenchymal stem cells in tissue growth and repair. *Acta Naturae* **3**, 30-37.

Kim, H. S., Choi, D. Y., Yun, S. J., Choi, S. M., Kang, J. W., Jung, J. W., Hwang, D., Kim, K. P. & Kim, D. W. (2012). Proteomic analysis of microvesicles derived from human mesenchymal stem cells. *J. Proteome Res.* **11**, 839-849.

Kuter, D., Hunt, P., Sheridan, W. P. & Zucker-Franklin, D. (1997). *Thrombopoiesis and Thrombopoietins*. Humana Press, 41-62.

Lai, R. C., Arslan, F., Tan, S. S., Tan, B., Choo, A., Lee, M. M., Chen, T. S., Teh, B. J., Eng, J. K. & other authors (2010). Derivation and characterization of human fetal MSCs: an alternative cell source for large-scale production of cardioprotective microparticles. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **48**, 1215-1224.

Martinez, M. C. & Andriantsitohaina, R. (2011). Microparticles in angiogenesis: therapeutic potential. *Circ. Res.* **109**, 110-119.

Martinez, M. C., Tual-Chalot, S., Leonetti, D. & Andriantsitohaina, R. (2011). Microparticles: targets and tools in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol. Sci.* **32**, 659-665.

Mause, S. F. & Weber, C. (2010). Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ. Res.* **107**, 1047-1057.

Montoro-Garcia, S., Shantsila, E., Marin, F., Blann, A. & Lip, G. Y. (2011). Circulating microparticles: new insights into the biochemical basis of microparticle release and activity. *Basic Res. Cardiol.* **106**, 911-923.

Morel, O., Morel, N., Jesel, L., Freyssinet, J. M. & Toti, F. (2011). Microparticles: a critical component in the nexus between inflammation, immunity, and thrombosis. *Semin. Immunopathol.* **33**, 469-486.

Piccin, A., Murphy, W. G. & Smith, O. P. (2007). Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* **21**, 157-171.

Ratajczak, J., Miekus, K., Kucia, M., Zhang, J., Reca, R., Dvorak, P. & Ratajczak, M. Z. (2006). Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia* **20**, 847-856.

Satta, N., Toti, F., Fressinaud, E., Meyer, D. & Freyssinet, J. M. (1997). Scott syndrome: an inherited defect of the procoagulant activity of platelets. *Platelets* **8**, 117-124.

Tetta, C., Bruno, S., Fonsato, V., Deregibus, M. C. & Camussi, G. (2011). The role of microvesicles in tissue repair. *Organogenesis* **7**, 105-115.

Toti, F., Satta, N., Fressinaud, E., Meyer, D. & Freyssinet, J. M. (1996). Scott syndrome, characterized by impaired transmembrane migration of procoagulant phosphatidylserine and hemorrhagic complications, is an inherited disorder. *Blood* **87**, 1409-1415.

Tushuizen, M. E., Diamant, M., Sturk, A. & Nieuwland, R. (2011). Cell-derived microparticles in the pathogenesis of cardiovascular disease: friend or foe? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **31**, 4-9.

VanWijk, M. J., VanBavel, E., Sturk, A. & Nieuwland, R. (2003). Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc. Res.* **59**, 277-287.

Yuan, A., Farber, E. L., Rapoport, A. L., Tejada, D., Deniskin, R., Akhmedov, N. B. & Farber, D. B. (2009). Transfer of microRNAs by embryonic stem cell microvesicles. *PLoS One* **4**, e4722.