

Micropartículas como Possíveis Biomarcadores da Doença Cardiovascular

Microparticles as Potential Biomarkers of Cardiovascular Disease

Carolina Nunes França^{1,2}, Maria Cristina de Oliveira Izar¹, Jônatas Bussador do Amaral¹, Daniela Melo Tegani¹, Francisco Antonio Helfenstein Fonseca¹

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP¹, Universidade de Santo Amaro – UNISA², São Paulo, SP – Brasil

Resumo

A prevenção primária da doença cardiovascular constitui uma opção de grande relevância pelos seus impactos na saúde. Alguns biomarcadores têm sido considerados úteis na avaliação da doença cardiovascular, dentre eles micropartículas originadas de diferentes populações de células. Micropartículas são estruturas liberadas pela membrana de diferentes tipos celulares após ativação ou apoptose, presentes tanto no plasma de indivíduos saudáveis (níveis considerados fisiológicos) quanto em portadores de diferentes doenças. Muitos estudos têm sugerido uma associação entre micropartículas e diferentes condições patológicas, destacando-se a relação com o desenvolvimento das doenças cardiovasculares. Além disso, têm sido descritos os efeitos de diferentes terapias hipolipemiantes na mensuração de micropartículas. Os estudos ainda são controversos quanto aos níveis de micropartículas que possam ser considerados patológicos, e os métodos utilizados ainda são variados, o que sugere a necessidade da padronização dos diferentes protocolos utilizados, visando à utilização de micropartículas como biomarcadores úteis na prática clínica.

Introdução

As micropartículas (MP) são definidas como uma população de vesículas originadas de diferentes tipos celulares (Tabela 1) após ativação ou apoptose, possuindo um tamanho entre 50 nm e 1000 nm e contendo material celular, como proteínas, mRNA e lipoproteínas, que são fundamentais para a identificação dessas vesículas por diferentes técnicas, como citometria de fluxo¹. Todas as células sanguíneas produzem MP, e as plaquetas liberam a maior quantidade de MP plaquetárias (MPP), correspondendo a 70%-90% do total de MP no plasma de indivíduos saudáveis²⁻⁴.

Palavras-chave

Doenças cardiovasculares, Biomarcadores Farmacológicos / análise, Micropartículas Derivadas de Células, Aterosclerose / prevenção & controle.

Correspondência: Carolina Nunes França •

Rua Pedro de Toledo, 276, Vila Clementino, CEP 04039030, São Paulo, SP - Brasil

E-mail: carolufscar24@gmail.com; cnfranca@unisa.br

Artigo recebido em 10/09/14; revisado em 19/09/14; aceito em 21/10/14

DOI: 10.5935/abc.20140210

Até a década de 1990, nenhuma importância biológica foi dada às MP, e elas eram consideradas como partículas inertes resultantes de destruição celular ou apenas marcadores de apoptose. Porém, em 1996, Raposo e col.⁵ sugeriram a importância das MP na resposta imune adaptativa. A partir disso, vários trabalhos têm mostrado a importância dessas vesículas como vetores de troca intracelular de informação biológica, por meio de identificação, caracterização e quantificação das MP em várias situações, como obesidade, diabetes, infarto, depressão, câncer, HIV e insuficiência renal.

Com o desenvolvimento do processo aterosclerótico, os monócitos passam a acumular lipoproteínas, transformam-se em macrófagos ricos em colesterol, que sofrem apoptose, liberando alta quantidade de lípidos no meio extracelular, ocasionando um ciclo vicioso de inflamação, estresse oxidativo, apoptose de células endoteliais ou erosão endotelial (Figura 1), culminando com os desfechos aterotrombóticos, como infarto do miocárdio ou acidente vascular isquêmico, que ocorrem em razão do contato das substâncias do interior da placa com o sangue, produzindo imediata coagulação e, conseqüentemente, obstrução total e súbita do vaso⁶.

Tanto indivíduos saudáveis quanto portadores de diferentes enfermidades possuem MP no plasma⁷. Estímulos inflamatórios para a liberação incluem lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias Gram-negativas e citocinas, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 (IL-1 β). Após ativação, as células mudam sua conformação assimétrica, expondo a fosfatidilserina, um aminofosfolípido responsável por alta capacidade pró-coagulante⁸.

Micropartículas de diferentes populações celulares

Micropartículas plaquetárias

As MPP são as mais abundantes no plasma humano^{4,9}. Há vários trabalhos mostrando a relação entre essas MP e coagulação sanguínea¹⁰, processos inflamatórios¹¹, trombose e progressão de tumores¹² e interação entre leucócitos e células endoteliais¹³.

Por outro lado, estudos sugerem que MPP podem ter importante relação na regeneração tecidual, por estarem fortemente associadas à angiogênese¹⁴. Alguns autores mostraram que as MPP *in vitro* promovem o brotamento de anéis aórticos por meio da ativação das vias de sinalização da PI3-quinase e *Extracellular Signal-Regulated Kinase* (ERK)¹³ e promovem a neovascularização pós-isquemia¹⁵.

Tabela 1 – Antígenos presentes na superfície de micropartículas plaquetárias, endoteliais e monocíticas

Micropartículas	Antígenos de superfície	Referências
MPP	CD31, CD41, CD42, CD61, CD62P, CD63	3, 8, 10, 39, 58, 62
MPE	CD31, CD51, CD54, CD62E, CD105, CD106, CD144, CD146, E-selectina, VE-caderina	8, 9, 23, 34, 36, 39, 42, 43, 58-61
MPM	CD14, CD54	28, 29, 31

MPP: micropartículas plaquetárias; MPE: micropartículas endoteliais; MPM: micropartículas monocíticas⁶².

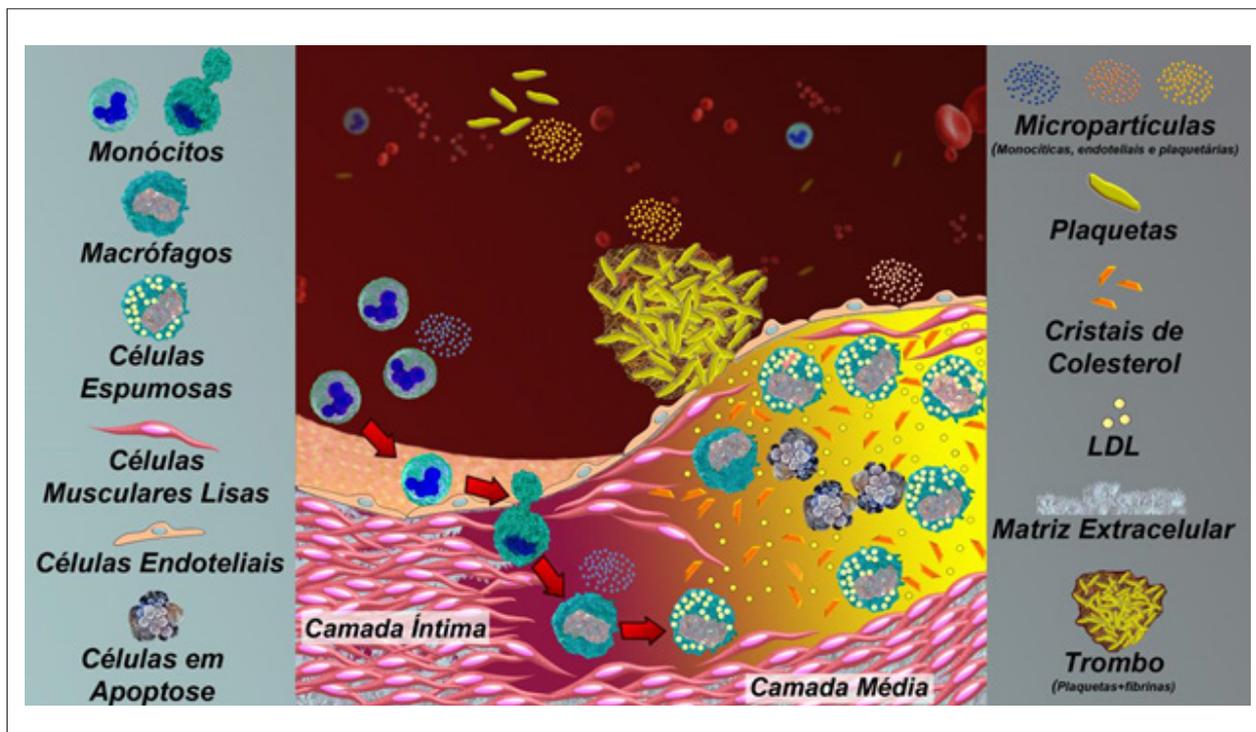


Figura 1 – Representação ilustrativa de algumas interações celulares no decorrer da formação do ateroma.

Micropartículas endoteliais

As MP endoteliais (MPE) representam uma menor população de MP presentes no plasma, porém têm sido associadas à doença cardiovascular, especialmente à disfunção endotelial⁸. Assim como ocorre com as MPP, estudos sugerem haver relação entre MPE e angiogênese¹⁶, crescimento tumoral¹⁷ e aumento de estresse oxidativo¹⁸.

Há trabalhos mostrando a importância das MPE na proliferação e diferenciação de células progenitoras endoteliais, que são fundamentais na regeneração vascular¹⁹, indicando uma possível função protetora relacionada a regeneração, reparo e proteção vascular²⁰.

Mezentnev e col.²¹ avaliaram *in vitro* diferentes padrões de angiogênese (razão de divisão celular, formação de capilares e apoptose de células endoteliais), comparando níveis fisiológicos de MPE presentes em indivíduos saudáveis (entre 10^3 e 10^4 MPE/mL, conforme literatura)^{22,23} e concentrações patológicas (presentes em portadores de

doença cardiovascular, 10^5 MPE/mL)²⁴⁻²⁶. Observou-se que níveis patológicos de MPE afetaram todos os parâmetros associados à angiogênese de maneira diretamente proporcional à concentração de MPE. Os mesmos autores haviam demonstrado anos antes que 10^5 MPE/mL prejudicaram o relaxamento dependente do endotélio, o que não foi visto com 10^4 MPE/mL²⁷.

Micropartículas monocíticas

Assim como as MPP, MP originadas de monócitos (MPM) podem conter substâncias pró-coagulantes e estar relacionadas à disfunção endotelial²⁸ e à sepse²⁹. Estudo desenvolvido por Wang e cols.³⁰ mostrou que MPM são capazes de ativar células endoteliais, por conterem IL-1 β que aumenta o processo inflamatório.

Hoyer e cols.³¹ avaliaram o papel das MPM na inflamação vascular e encontraram que o tratamento de camundongos ApoE -/- com MPM promoveu a formação de placa

aterosclerótica nos animais e aumentou o acúmulo de macrófagos na parede vascular. Os autores sugeriram uma importante interação entre MPM e células inflamatórias na doença aterosclerótica nos camundongos ApoE^{-/-}.

Micropartículas e doença coronariana

Muitos estudos sugerem uma relação direta entre aumento de MP e desenvolvimento de doença coronariana. Augustine e cols.³² avaliaram pacientes expostos a estresse cardíaco durante ecocardiografia com dobutamina e encontraram aumento de MP de diferentes tipos celulares (plaquetas, hemácias e células endoteliais) seguido por rápido *clearance* em resposta ao estresse cardíaco. Os autores sugeriram que a liberação de MP seria um mecanismo protetor para remover o estresse celular nesses pacientes.

Sarlon-Bartoli e cols.³³ mensuraram níveis de MP de origem leucocitária (MPL) no plasma de 42 indivíduos que apresentaram estenose da artéria carótida acima de 70%. Eles mostraram que pacientes com placa instável tiveram aumento nos níveis de MPL CD11bCD66b+ e CD15+, sugerindo que mesmo subpopulações de MP menos frequentes no plasma (em comparação às MPP) podem agregar importantes informações no que concerne aos estudos clínicos analisando vulnerabilidade da placa aterosclerótica em pacientes com elevado grau de estenose carotídea.

Estudo desenvolvido por Morel e cols.³⁴ avaliou os níveis de MPL e MPE dentro das artérias coronarianas ocluídas de pacientes após infarto com elevação do segmento ST, tratados por angioplastia primária, e comparou com as quantificações dessas MP no sangue periférico. Os autores encontraram aumento das MP no interior das artérias, mostrando a importância dessas vesículas no desenvolvimento da aterosclerose coronariana.

Faillie e cols.³⁵ mensuraram MPs CD11b+ (marcador de monócitos) em pacientes com síndrome coronariana aguda sem elevação do segmento ST no eletrocardiograma. O intuito foi verificar se a quantificação dessas MP poderia contribuir para a identificação de pacientes com maior risco de um evento cardiovascular recorrente em um mês após o implante do *stent* coronariano. Foi encontrada menor quantidade de MP CD11b+ em indivíduos com evento cardiovascular recorrente do que em pacientes que não tinham complicações, sugerindo que haja uma maior captura dessas MP nos sítios de lesões ateroscleróticas.

Jeanneteau e cols.³⁶ avaliaram em ratos e humanos o papel das MP no mecanismo de condicionamento isquêmico remoto (CIR), que é descrito como uma estratégia de cardioproteção relacionada ao infarto. Não foram encontradas diferenças no número total de MP no grupo de animais submetidos ao CIR comparado ao grupo controle. Após caracterização fenotípica das MP, observaram-se elevações nas subpopulações endotelial e anexina V+ (apoptóticas) no grupo CIR. Assim como no modelo animal, houve aumento de MPE e MP Anexina V+ no grupo de indivíduos submetidos ao CIR.

Porto e cols.³⁷ avaliaram as concentrações de MP em pacientes pós-infarto com elevação do segmento

ST submetidos a intervenção coronariana percutânea primária, e a relação dessas vesículas com a obstrução microvascular (definida por angiografia múltipla e eletrocardiografia). Os principais achados foram que as subpopulações de MP avaliadas (MPP e MPE) tiveram níveis mais elevados no interior das coronárias se comparadas ao sangue aórtico. Além disso, houve maior liberação das duas subpopulações de MP na artéria coronariana comprometida do que na aorta ascendente, indicando uma produção local de MP. Os autores sugerem que os dados encontrados possam reforçar a hipótese de que as MP atuam como elementos ativos na embolização e na fisiopatologia da obstrução microvascular.

Kaabi e cols.³⁸ avaliaram a relação entre o tratamento de pacientes portadores de doença arterial coronariana estável por contrapulsção externa de alta pressão (CEAP) e níveis de MP. Essa terapia tem sido considerada efetiva e segura para pacientes com angina de peito refratária. Os autores encontraram aumento de MPP após tratamento por CEAP, sem diferenças nos níveis de MPE e MPM.

Williams e cols.¹¹ avaliaram ativação plaquetária e níveis de depressão em portadores de doença arterial coronariana, uma vez que a depressão, mesmo em condições leves, é um preditor independente de maior mortalidade após infarto do miocárdio. Os autores encontraram que pacientes portadores de moderada depressão e altos níveis de TNF- α , IL-6 e PCR possuíam, paralelamente, maior liberação de MPP, indicando que um componente pró-inflamatório foi capaz de alterar a função plaquetária nesses pacientes.

Bernal-Mizrachi e cols.³⁹ mostraram que, de acordo com o estímulo que a célula recebe (ativação ou apoptose), ocorre a expressão de diferentes proteínas de superfície. Os autores desenvolveram um estudo em que eles analisaram duas subpopulações de MPE (CD31+/CD42- e CD51+) em indivíduos com doença arterial coronariana e encontraram que as MPE CD31+/CD42- foram mais expressas em eventos agudos (infarto do miocárdio e angina instável), enquanto as MPE CD51+ foram liberadas em quantidades semelhantes tanto em eventos agudos quanto crônicos (angina estável).

Micropartículas e diabetes melito

Alguns trabalhos mostram maiores concentrações de MPP relacionadas ao diabetes. Ogata e cols.⁴⁰ avaliaram os níveis de MPP em 92 portadores de retinopatia diabética. Os autores encontraram maior liberação de MPP nesses pacientes comparados a indivíduos saudáveis, e o aumento foi tanto maior quanto mais grave a retinopatia. Na aterosclerose, MP estão relacionadas com a liberação de citocinas pelos leucócitos e células endoteliais, o recrutamento de monócitos para a placa aterosclerótica, a proliferação de células musculares lisas, a angiogênese e o aumento do estresse oxidativo. Por outro lado, MP podem atuar como sinalizadores para a homeostase celular, promovendo um balanço entre estímulo celular, proliferação e apoptose¹².

Lumsden e cols.⁴¹ avaliaram portadores de diabetes tipo 2 após síndrome coronariana aguda (seis meses antes do evento), que tiveram reduzidos níveis de MPE sem

alterações em MPP. Os autores sugerem que esses resultados inesperados, uma vez que estão em discordância com a maioria dos trabalhos da literatura, podem ser resultantes de medicações concomitantes utilizadas pelos pacientes⁴²⁻⁴⁴.

Outros trabalhos indicaram que o aumento na expressão de moléculas de adesão está associado à ativação de monócitos, que podem se ligar a células endoteliais presentes na parede dos vasos, levando a progressão da retinopatia diabética. Esses dados sugerem que a mensuração dos níveis de MPM seja um biomarcador útil da progressão da retinopatia diabética⁴⁵.

Micropartículas na disfunção endotelial e na dislipidemia

Leroyer e cols.⁴⁶ mostraram que MP originadas de macrófagos (CD40+) podem promover angiogênese no interior da placa, sugerindo que essas MP possam ser determinantes na vulnerabilidade da placa. Porém, estudos avaliando a relação entre MP e angiogênese têm-se mostrado contraditórios e inconclusivos, uma vez que alguns afirmam que certas MP podem estimular angiogênese (MPP, por exemplo)^{13,47}, bem como outros estudos afirmam que MP podem tanto estimular quanto inibir a angiogênese, dependendo da origem celular⁴⁸⁻⁵⁰.

Alguns estudos mostraram que portadores de síndrome metabólica possuem aumento nos níveis de MP comparados a indivíduos saudáveis e que elas estão relacionadas à disfunção endotelial, por diminuição na expressão de eNOS e aumento da liberação de espécies reativas de oxigênio⁵¹.

O primeiro trabalho a demonstrar o efeito direto das MP na função vascular foi desenvolvido por Boulanger e cols.⁵² Os autores avaliaram se MP presentes no sangue periférico de pacientes com síndrome não isquêmica e pós-infarto agudo do miocárdio influenciariam a resposta dependente do endotélio em anéis aórticos de ratos. Observou-se que MP de indivíduos pós-infarto reduziram o relaxamento vascular induzido por acetilcolina (por influenciar a via do óxido nítrico), sugerindo que as MP poderiam contribuir com a disfunção endotelial observada após o evento agudo.

Diehl e cols.⁵³ analisaram diferentes subpopulações de MP em portadores de hipertensão pulmonar, tendo encontrado níveis aumentados de MPL, MPE e MPP, o que indica maior atividade inflamatória e pró-coagulante, que pode estar relacionada a complicações tromboembólicas e disfunção endotelial nesses pacientes.

Já está bem descrita na literatura a melhora da função endotelial promovida pelos bloqueadores de canais de cálcio. Nomura e cols.⁵⁴ mostraram redução de MPE em portadores de diabetes tipo 2 após tratamento com o bloqueador de canal de cálcio nifedipino. Resultado similar foi obtido pelo mesmo grupo⁵⁵ com portadores de diabetes tipo 2 e hipertensão após tratamento com benidipina, pertencente à mesma classe farmacológica. O efeito do bloqueador do sistema renina-angiotensina (BRA) valsartana nos títulos de MPM em indivíduos portadores de diabetes melito tipo 2 também foi avaliado pelo mesmo grupo⁵⁶, que observou que o fármaco inibiu a liberação de MPM. Esses resultados sugerem que BRA possa contribuir no tratamento da aterosclerose.

Micropartículas e terapias hipolipemiantes

Têm-se buscado novas estratégias que possam inibir as funções das MP ou que proporcionem um maior *clearance*. Muitos estudos têm avaliado o efeito de diferentes estratégias hipolipemiantes na quantidade de MP liberadas por diferentes tipos celulares^{57,58}.

Pinheiro e cols.⁵⁹ avaliaram o efeito do antiplaquetário clopidogrel associado ou não à rosuvastatina (40 mg) nos níveis de MPE e MPP em pacientes coronarianos estáveis em uso de estatinas há pelo menos três meses. Os autores identificaram um aumento nos níveis de MPP após a suspensão por quatro semanas da rosuvastatina (mantendo-se apenas o clopidogrel) e uma tendência à maior liberação de MPE nesses pacientes, sugerindo que tenha ocorrido um aumento da apoptose das plaquetas, e também que a rosuvastatina possa ter um efeito protetor sobre o endotélio quando em associação com o clopidogrel. França e cols.⁶⁰ analisaram em estudo similar a influência da atorvastatina (80 mg) em associação ou não com o clopidogrel, também em coronarianos estáveis. Os autores sugeriram uma maior estabilidade vascular promovida pela atorvastatina após identificarem uma relação inversa entre a concentração plasmática de atorvastatina e os níveis de MPP.

Outro estudo⁶¹ avaliou o efeito do tratamento por cinco dias com vitamina C nos níveis de MP em portadores de diabetes, dislipidemia, ou pelo menos dois fatores de risco para doença cardiovascular pós-infarto. Foi encontrada redução no número de MPE e MPP, que os autores associaram à redução do estresse oxidativo promovido pela vitamina C.

Nesse sentido, os estudos mostram que as MP podem ser marcadores úteis não só na avaliação da doença cardiovascular, estando também associadas a câncer^{10,17}, sepse²² e outras enfermidades. Porém, ainda há muita controvérsia sobre níveis considerados fisiológicos e patológicos. Embora a citometria de fluxo seja considerada padrão de referência para identificação e caracterização fenotípica de MP, os estudos utilizam-se de métodos bastante variados (tempo de centrifugação e de incubação com os anticorpos, diferentes marcadores), o que ainda dificulta a comparação entre as publicações existentes na literatura.

Em conclusão, a pesquisa por novos biomarcadores que possam estar relacionados com a doença cardiovascular tem despertado o interesse pelo estudo de MP de diferentes origens celulares, especialmente plaquetárias. Porém, os trabalhos ainda são controversos, sendo necessários estudos buscando a padronização de técnicas mais sensíveis para obtenção, caracterização e quantificação dessas vesículas para que, futuramente, os dados possam ser transpostos para a prática clínica.

Contribuição dos autores

Obtenção de dados: França CN. Redação do manuscrito: França CN, Amaral JB, Tegani DM. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Izar MCO, Fonseca FAH. Confecção de figura: Amaral JB.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

- Mallat Z, Benamer H, Hugel B, Benessiano J, Steg PG, Freyssinet JM, et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000;101(8):841-3.
- Vasina EM, Cauwenberghs S, Staudt M, Feige MA, Weber C, Koenen RR, et al. Aging- and activation-induced platelet microparticles suppress apoptosis in monocytic cells and differentially signal to proinflammatory mediator release. *Am J Blood Res*. 2013;3(2):107-23.
- Shah MD, Bergeron AL, Dong JF, Lopez JA. Flow cytometric measurement of microparticles: pitfalls and protocol modifications. *Platelets*. 2008;19(5):365-72.
- Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, Romijn FP, Hack CE, Stark A. Cell derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost*. 2001;85(4):639-46.
- Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendekker R, Harding CV, Melief CJ, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*. 1996;183(3):1161-72.
- Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 2002;16(8):539-47.
- Hoyer FF, Nickenig G, Werner N. Microparticles – messenger of biological information. *J Cell Mol Med*. 2010;14(9):2250-6.
- Faure V, Dou L, Sabatier F, Cerini C, Sampol J, Berland Y, et al. Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *J Thromb Haemost*. 2006;4(3):566-73.
- Joop K, Berckmans RJ, Nieuwland R, Berkhout J, Romijn FP, Hack CE, et al. Microparticles from patients with multiple organ dysfunction syndrome and sepsis support coagulation through multiple mechanisms. *Thromb Haemost*. 2001;85(5):810-20.
- 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(4):663-9.
- Williams MS, Rogers HL, Wang NY, Ziegelstein RC. Do platelet-derived microparticles play a role in depression, inflammation, and acute coronary syndrome? *Psychosomatics*. 2014;55(3):252-60.
- 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. *Semin Oncol*. 2014;41(3):346-58.
- Kim HK, Song KS, Chung JH, Lee KR, Lee SN. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. *Br J Haematol*. 2004;124(3):376-84.
- Hayon Y, Shai E, Varon D, Leker RR. The role of platelets and their microparticles in rehabilitation of ischemic brain tissue. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2012;11(7):921-5.
- Brill A, Dasheysky O, Rivo J, Gozal Y, Varon D. Platelet derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res*. 2005;67(1):30-8.
- Tual-Chalot S, Gagnadoux F, Trzepizur W, Priou P, Andriantsitohaina R, Martinez MC. Circulating microparticles from obstructive sleep apnea syndrome patients induce endothelin-mediated angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(2):202-7.
- Wang CC, Tseng CC, Hsiao CC, Chang HC, Chang LT, Fang WF, et al. Circulating endothelial-derived activated microparticle: a useful biomarker for predicting one-year mortality in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:173401.
- Cheng F, Wang Y, Li J, Su C, Wu F, Xia WH, et al. Berberine improves endothelial function by reducing endothelial microparticles-mediated oxidative stress in humans. *Int J Cardiol*. 2013;167(3):936-42.
- Hristov M, Erl W, Linder S, Weber PC. Apoptotic bodies from endothelial cells enhance the number and initiate differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro. *Blood*. 2004;104(9):2761-6.
- Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(1):27-33.
- Mezentsev A, Merks RM, O'Riordan E, Chen J, Mendelev N, Goligorsky MS, et al. Endothelial microparticles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(3):H1106-14.
- Bretelle F, Sabatier F, Desprez D, Camoin L, Grunebaum L, Combes V, et al. Circulating microparticles: a marker of procoagulant state in normal pregnancy and pregnancy complicated by preeclampsia or intrauterine growth restriction. *Thromb Haemost*. 2003;89(3):486-92.
- Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Soderland C, Ahn YS. Endothelial microparticles released in thrombotic thrombocytopenic purpura express von Willebrand factor and markers of endothelial activation. *Br J Haematol*. 2003;123(5):896-902.
- Preston RA, Jy W, Jimenez JJ, Mauro LM, Horstman LL, Valle M, et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension*. 2003;41(2):211-7.
- VanWijk MJ, Boer K, Berckmans RJ, Meijers JC, van der Post JA, Sturk A, et al. Enhanced coagulation activation in preeclampsia: the role of APC resistance, microparticles and other plasma constituents. *Thromb Haemost*. 2002;88(3):415-20.
- VanWijk MJ, Nieuwland R, Boer K, van der Post JA, VanBavel E, and Sturk A. Microparticle subpopulations are increased in preeclampsia: possible involvement in vascular dysfunction? *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187(2):450-6.
- Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS. Endothelium derived microparticles impair endothelial function in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(5):H1910-5.
- Wen B, Combes V, Bonhoure A, Weksler BB, Couraud PO, Grau GE. Endotoxin-induced monocytic microparticles have contrasting effects on endothelial inflammatory responses. *Plos One*. 2014;9(3):e91597.
- Nieuwland R, Berckmans RJ, McGregor S, Böing AN, Romijn FP, Westendorp RG, et al. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood*. 2000;95(3):930-5.

Artigo de Revisão

30. Wang JG, Williams JC, Davis BK, Jacobson K, Doerschuk CM, Ting JP, et al. Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1 β -dependent manner. *Blood*. 2011;118(8):2366-74.
31. Hoyer FF, Giesen MK, França CN, Lütjohann D, Nickenig G, Werner N. Monocytic microparticles promote atherogenesis by modulating inflammatory cells in mice. *J Cell Mol Med*. 2012;16(11):2777-88.
32. Augustine D, Ayers LV, Lima E, Newton L, Lewandowski AJ, Davis EF, et al. Dynamic release and clearance of circulating microparticles during cardiac stress. *Circ Res*. 2014;114(1):109-13.
33. Sarlon-Bartoli G, Bennis Y, Lacroix R, Piercecchi-Marti MD, Bartoli MA, Arnaud L, et al. Plasmatic level of leukocyte-derived microparticles is associated with unstable plaque in asymptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(16):1436-41.
34. Morel O, Pereira B, Averous G, Faure A, Jesel L, Germain P, et al. Increased levels of procoagulant tissue factor-bearing microparticles within the occluded coronary artery of patients with ST-segment elevation myocardial infarction: role of endothelial damage and leukocyte activation. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):636-41.
35. Faille D, Frere C, Cuisset T, Quilici J, Moro PJ, Morange PE, et al. CD11b+ leukocyte microparticles are associated with high-risk angiographic lesions and recurrent cardiovascular events in acute coronary syndromes. *J Thromb Haemost*. 2011;9(9):1870-3.
36. Jeanneteau J, Hilbert P, Martinez MC, Tual-Chalot S, Tamareille S, Furber A, et al. Microparticle release in remote ischemic conditioning mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;303(7):H871-7.
37. Porto I, Biasucci LM, de Maria GL, Leone AM, Niccoli G, Burzotta F, et al. Intracoronary microparticles and microvascular obstruction in patients with ST elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention. *Eur Heart J*. 2012;33(23):2928-38.
38. Kaabi AA, Traupe T, Stutz M, Buchs N, Heller M. Cause or effect of atherogenesis: compositional alterations of microparticles from CAD patients undergoing external counterpulsation therapy. *Plos One*. 2012;7(10):e46822.
39. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ, Pastor J, Mauro LM, Horstman LL, et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J*. 2003;145(6):962-70.
40. Ogata N, Imaizumi M, Nomura S, Shouzu A, Arichi M, Matsuoka M, et al. Increased levels of platelet-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diab Res Clin Pract*. 2005;68(3):193-201.
41. Lumsden NG, Andrews KL, Bobadilla M, Moore XL, Sampson AK, Shaw JA, et al. Endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes post acute coronary syndrome. *Diab Vasc Dis Res*. 2013;10(4):368-74.
42. Tramontano AF, Lyubarova R, Tsiakos J, Palaia T, Deleon JR, Ragolia L. Circulating endothelial microparticles in diabetes mellitus. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:250476.
43. Koga H, Sugiyama S, Kugiyama K, Watanabe K, Fukushima H, Tanaka T, et al. Elevated levels of VE-cadherin-positive endothelial microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(10):1622-30.
44. Feng B, Chen Y, Luo Y, Chen M, Li X, Ni Y. Circulating level of microparticles and their correlation with arterial elasticity and endothelium-dependent dilation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):264-9.
45. Ogata N, Nomura S, Shouzu A, Imaizumi M, Arichi M, Matsumura M. Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;73(3):241-8.
46. Leroyer AS, Rautou PE, Silvestre JS, Castier Y, Leseche G, Devue C, et al. CD40 ligand-microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(16):1302-11.
47. Brill A, Elinav H, Varon D. Differential role of platelet granular mediators in angiogenesis. *Cardiovasc Res*. 2004;63(2):226-35.
48. Mostefai HA, Agouni A, Carusio N, Mastronardi ML, Heymes C, Henrion D, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase and xanthine oxidase regulate nitric oxide and reactive oxygen species productions by apoptotic lymphocyte microparticles in endothelial cells. *J Immunol*. 2008;180(7):5028-35.
49. Agouni A, Mostefai HA, Porro C, Carusio N, Favre J, Richard V, et al. Sonic hedgehog carried by microparticles corrects endothelial injury through nitric oxide release. *FASEB J*. 2007;21(11):2735-41.
50. Yang C, Mwaikambo BR, Zhu T, Gagnon C, Lafleur J, Seshadri S, et al. Lymphocytic microparticles inhibit angiogenesis by stimulating oxidative stress and negatively regulating VEGF-induced pathways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(2):R467-76.
51. Martinez MC, Tesse A, Zobairi F, Andriantsitohaina R. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288(3):H1004-9.
52. Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, Henry P, Mathieu E, Tedgui A, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001;104(22):2649-52.
53. Diehl P, Aleker M, Helbing T, Sossong V, Germann M, Sorichter S, et al. Increased platelet, leukocyte and endothelial microparticles predict enhanced coagulation and vascular inflammation in pulmonary hypertension. *J Thromb Thrombolysis*. 2011;31(2):173-9.
54. Nomura S, Inami N, Kimura Y, Omoto S, Shouzu A, Nishikawa M, et al. Effect of nifedipine on adiponectin in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 2007;21(1):38-44.
55. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Iwasaka T. Benidipine improves oxidized LDL-dependent monocyte and endothelial dysfunction in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 2005;19(7):551-7.
56. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S, Iwasaka T. Effect of valsartan on monocyte/endothelial cell activation markers and adiponectin in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *Thromb Res*. 2006;117(4):385-92.
57. Camargo LM, França CN, Izar MC, Bianco HT, Lins LS, Barbosa SP, et al. Effects of simvastatin/ezetimibe on microparticles, endothelial progenitor cells and platelet aggregation in subjects with coronary heart disease under antiplatelet therapy. *Braz J Med Biol Res*. 2014;47(5):432-7.
58. Lins LC, França CN, Fonseca FA, Barbosa SP, Matos LN, Aguirre AC, et al. Effects of ezetimibe on endothelial progenitor cells and microparticles in high-risk patients. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70(1):687-96.
59. Pinheiro LF, França CN, Izar MC, Barbosa SP, Bianco HT, Kasmás SH, et al. Pharmacokinetic interactions between clopidogrel and rosuvastatin: effects on vascular protection in subjects with coronary heart disease. *Int J Cardiol*. 2012;158(1):125-9.
60. França CN, Pinheiro LF, Izar MC, Brunialti MK, Salomão R, Bianco HT, et al. Endothelial progenitor cell mobilization and platelet microparticle release are influenced by clopidogrel plasma levels in stable coronary artery disease. *Circ J*. 2012;76(3):729-36.
61. Morel O, Jesel L, Hugel B, Douchet MP, Zupan M, Chauvin M, et al. Protective effects of vitamin C on endothelium damage and platelet activation during myocardial infarction in patients with sustained generation of circulating microparticles. *J Thromb Haemost*. 2003;1(1):171-7.
62. Montoro-García S, Shantsila E, Hernández-Romero D, Jover E, Valdés M, Marín F, et al. Small-size platelet microparticles trigger platelet and monocyte functionality and modulate thrombogenesis via P-selectin. *Br J Haematol*. 2014;166(4):571-80.