

# ИНФЕКТОЛОГИЯ

---

# INFESTOLOGY

СПИСАНИЕ  
на научните медицински дружества по  
епидемиология,  
микробиология,  
вирусология,  
паразитология,  
инфекциозни болести  
и имунология

Том XLIV    Брой    Година

3    2007



## ФЛОУЦИТОМЕТРИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЦИРКУЛИРАЩИ АКТИВИРАНИ ТРОМБОЦИТИ

Ц. Луканов, С. Божинова, С. Тишева, Г. Велева, Л. Терзиев,  
А. Велкова, П. Петрова, Е. Конова

Медицински Университет, Плевен

Ключови думи: Флоуцитометрия, тромбоцити, CD154, CD31, CD62p, CD63

### FLOW CYTOMETRIC MEASUREMENT OF CIRCULATING ACTIVATED PLATELETS.

Tz. Lukanov, Sv. Bozhinova, S. Tisheva, G. Veleva, L. Terziev, A. Velkova, P. Petrova, E. Konova

Circulating activated platelets play a central role in hemostasis and the development of the thrombotic complications. The glycoproteins of the platelet membrane have an important role in the interaction of platelets with their environment. Flow cytometry is a useful technique for the study of the platelet function. The aims of our study is to determine the percentage of circulating activated platelets in different groups of patients, by flow cytometry. Whole-blood and double-label flow cytometry was used to measure platelet expression of CD31, CD62p, CD63 and CD154 in 31 patients with Primary antiphospholipid syndrome (PAPS), 32 patients with Acute coronary syndrome (ACS), 30 patients with Immune thrombocytopenic purpura (ITP), 16 patients with Preeclampsia (PE) and 40 controls. The percentage of positive platelets for each marker were determined. Platelet expression of CD31 and CD63 were increased in patients with PAPS compared with controls. Patients with ACS showed significantly higher platelet expression of CD31, CD62p, CD63 and CD154 compared with control subjects. Patients with ITP showed significantly higher platelet expression of CD31, CD62p, CD63 and CD154 compared with controls. Platelet expression of CD31, CD62p, CD63 and CD154 were increased in patients with PE, compared with nonpregnant women. A subpopulation of circulating platelets is in a high activation state in patients with PAPS, ACS, ITP and PE.

### ФЛОУЦИТОМЕТРИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЦИРКУЛИРАЩИ АКТИВИРАНИ ТРОМБОЦИТИ.

Ц. Луканов, С. Божинова, С. Тишева, Г. Велева, Л. Терзиев,  
А. Велкова, П. Петрова, Е. Конова

Циркулиращите активирани тромбоцити (Тр) имат значение за процеса на хемостаза и развитието на тромб усложнения. Гликопротеините на тромбоцитната мембрана имат ключова роля за осъществяване на взаимодействията на Тр. Флоуцитометрията е полезна техника за изследване на тромбоцитната функция. Целта на настоящето проучване е да се определи процента на циркулиращи активирани тромбоцити в различни групи болни, чрез флоуцитометрия. Експресията на тромбоцитните гликопротеини CD31, CD62p, CD63 и CD154 е измерена чрез моноклонални антитела и флоуцитометрия в 31 пациента с Първичен антифосфолипиден синдром (ПАФС), 32 пациента с Остър коронарен синдром (ОКС), 30 пациенти с Имунна тромбоцитопенична пурпура (ИТП), 16 пациенти с Преeklampsia (ПЕ) и 40 здрави контроли. За всеки гликопротеин беше определен процента на положителни Тр. Повишена експресия на тромбоцитните CD31 и CD63 установихме при пациентите с ПАФС, спрямо контролите. Тр на пациентите с ОКС показаха по-висока експресия на CD31, CD62p, CD63 и CD154 в сравнение с контролите. При пациентите с ИТП установихме висока тромбоцитна експресия на CD31, CD62p, CD63 и CD154 в сравнение с контролите. Тромбоцитната експресия на CD62p, CD63 и CD154 беше повишена при пациентите с ПЕ в сравнение с небременните контроли. При пациентите с ОКС, ИТП и ПЕ циркулира субпопулация от Тр, които са с повишен активационен статус.

Тромбоцитите (Тр) изпълняват хемостазна функция чрез серия от процеси, включващи тромбоцитна адхезия, активиране и генериране на интрацелуларни химични сигнали, бърза морфологична промяна, тромбоцитна секреция и агрегация. За всеки един от изброените етапи е необходим интактен набор от повърхностни и вътреклетъчни запаси на гликопротеинови рецептори.

Първите разработени флоуцитометрични методи за изследване на тромбоцитна функция показяха незадоволителни резултати, поради използването на промити Тр или богата на Тр плазма [1]. Чрез въведения от S. Shattil флоуцитометричен метод за изследване на Тр в цяла кръв [2], модифициран през последните години [3], може да се определи *ex vivo* наличието на циркулиращи Тр, чрез използване на моноклонални

антитела (МоАт), насочени срещу различни гликопротеини. По важни тромбоцитни гликопротеини, чиято експресия се променя при активиране на Тр и затова са най-активационно-зависими са CD31, CD62p, CD63 и CD154. Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) е трансмембранен гликопротеин от семейство имуноглобулиновата суперфамилия. CD31 функционира като васкуларно-клетъчна адхезионна молекула и не е регулатор на тромбоцитното активиране [4]. Експресията се отнася до Тр, ендотелни клетки (ЕК), Т-лимфоцити, моноцити (Мо) и гранулоцити (Гр). В Тр, антигена е локализиран на три места - по клетъчната мембрана, мембраната на гранулите и отворената каналикуларна система. CD31 участва в адхезията между Тр, левкоцити и ЕК, като лигандът за свързване е самата CD31-молекула.

Р-селектинът (CD62P) съществува под две форми - мембранна и разтворима, като и двете притежават свързваща активност по отношение на лигандите. Мембранныят Р-селектин е локализиран в телцата на Weibel-Palade на ЕК и в  $\alpha$ -грана на Тр. CD62P е активационно-зависим гликопротеин