

Определение возможного механизма активации нейраминидазы при иммунной тромбоцитопении как результата активации тромбоцитов.

Научный руководитель – Свешникова Анастасия Никитична

Ан Ольга Ильинична

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: olga-an1998@yandex.ru

Введение: Иммунная тромбоцитопения- аутоиммунное заболевание, характеризующееся снижением числа тромбоцитов ниже $100 \times 10^9 / \text{л}$ в связи с их иммунным удалением. Основным патогенетическим фактором развития первичной ИТП является выработка антител к высокосиалирированным гликопротеинам тромбоцитов. Это приводит к их десиалированию - гидролизу сиаловых кислот нейраминидазами, которые находятся в цитозоле и гранулах самих тромбоцитов. Обнажающиеся остатки углеводов становятся маркерами для клиренса тромбоцитов [2]. Степень десиалирования у пациентов с ИТП достоверно выше, чем у здоровых доноров [4]. Специфические антитела, играющие ведущую роль в развитии ИТП, активируют тромбоциты [3].

Цель: Исследование потенциального механизма десиалирования через активацию тромбоцитов.

Методы: Исследование было проведено в соответствии с Хельсинской декларацией. Было включено 15 здоровых доноров. Тромбоциты были выделены путем двойного центрифугирования. Для измерения концентрации свободных ионов кальция в цитозоле тромбоцитов добавлялось 2 мкМ FuraRed. Для оценки степени сиалирования тромбоцитов в суспензию клеток добавлялось 2 нг/мл лектинов из *Erythrina cristagalli*, ECL (связывается с b-N-ацетилглюкозамином), из *Ricinus communis*, RCA (связывается с b-галактозой), из *Sambucus nigra*, SNA (связывается с сиаловыми кислотами), помеченные FITC. Тромбоциты были активированы CRP (агонист GPVI рецептора), фукоиданом (агонист CLEC-2), SFLLRN (агонист PAR-1), иономицином (кальциевый ионофор). Для определения выхода а-гранул добавлялись антитела к CD62p, конъюгированные с Alexa647. Полученные образцы были проанализированы методом непрерывной проточной цитометрии [1]. Статистическая значимость оценивалась по Манну-Уитни.

Результаты: Анализ кинетики связывания лектинов покоящимися тромбоцитами показал, что их полное связывание с лигандами происходит необратимо в течение 20 минут. Отмечается, что после связывания тромбоцитами лектинов, происходит необратимое изменение формы клеток, свидетельствующее об их незначительной активации. Связывание лектинов увеличивалось при повышении количества свободных ионов кальция в цитоплазме в ответ на слабую активацию фукоиданом. Более сильная активация тромбоцитов (CRP, TRAP), приводившая к более значимому увеличению концентрации кальция в цитоплазме, а также связыванию CD62p, приводило к значительному усилению связывания лектинов.

Заключение: Активация и дегрануляция тромбоцитов приводит к их десиалированию.

Финансирование: Стипендия президента СП2675.2019.4

Источники и литература

- 1) Мартьянов А.А. и соавт.. ВОГИП. 2020. Том 19 №1

- 2) Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2018 г.)
- 3) Panzer, S et al., EuJCI, 2007
- 4) Tao L, Zeng Q, Li J, et al. J Hematol Oncol. 2017