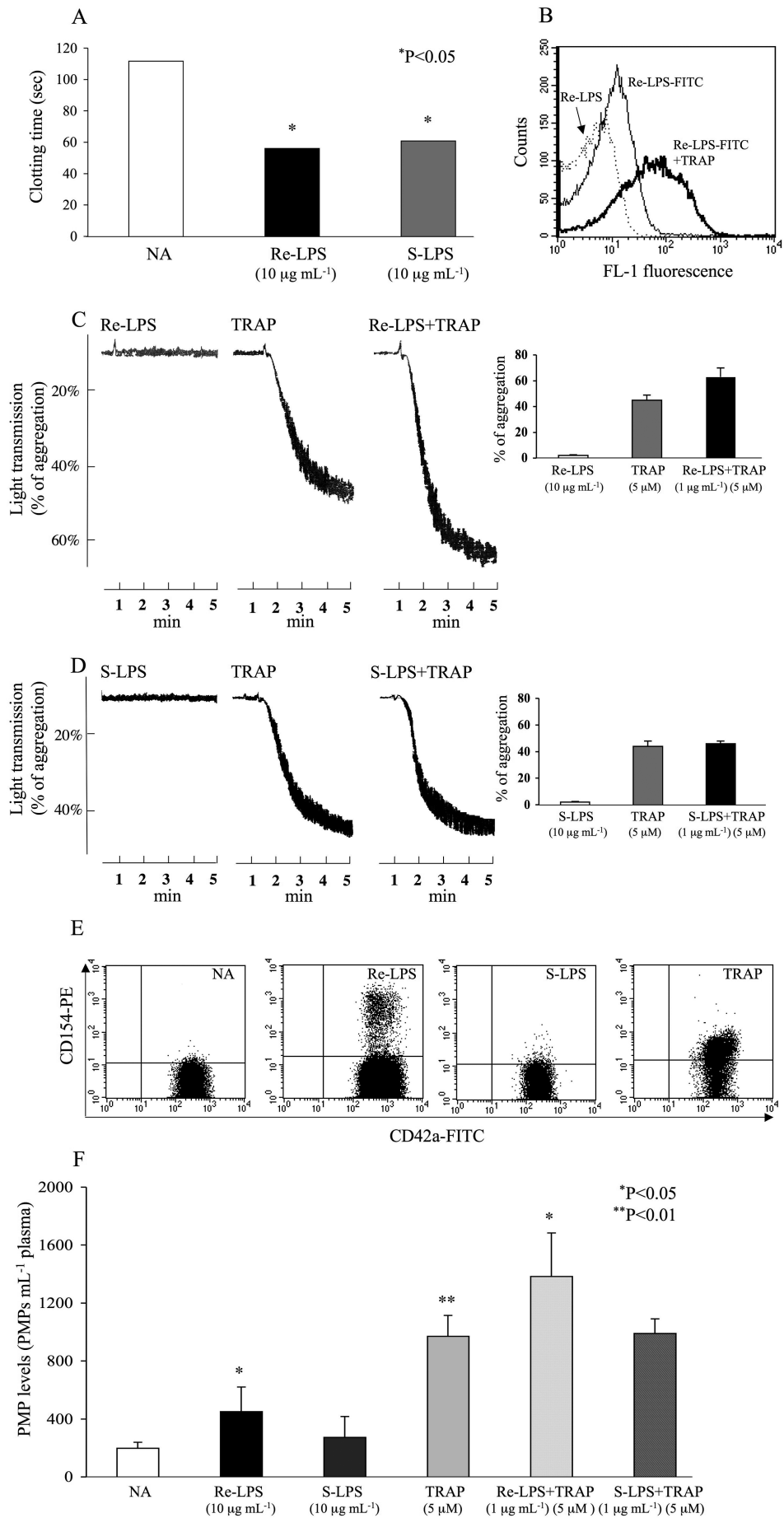


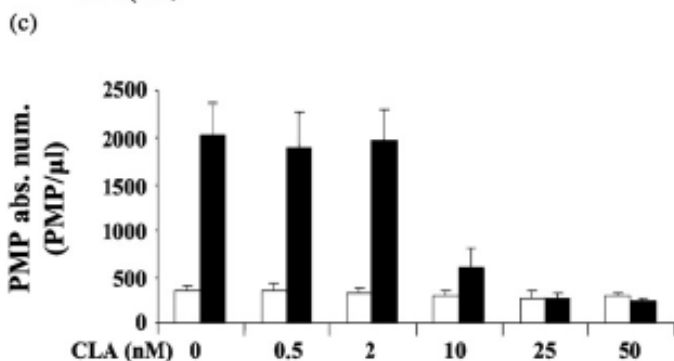
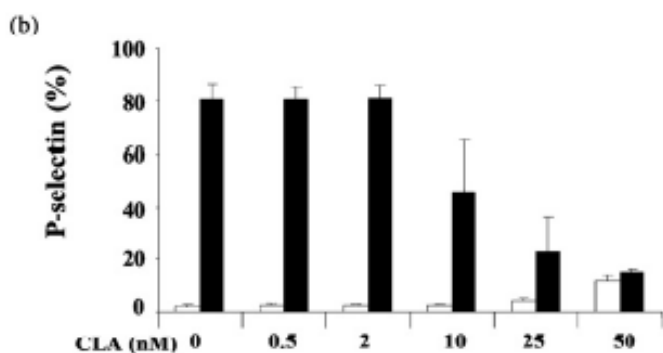
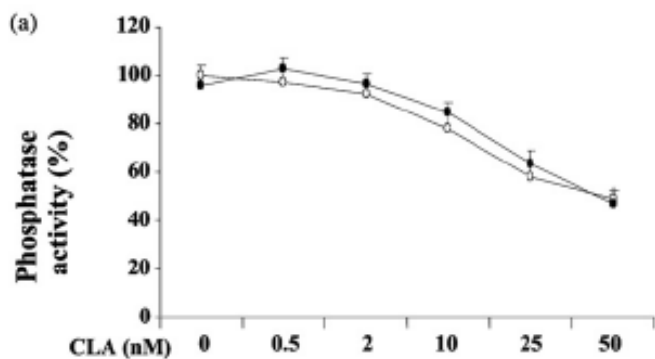
Kutatási beszámoló (2008-2012)

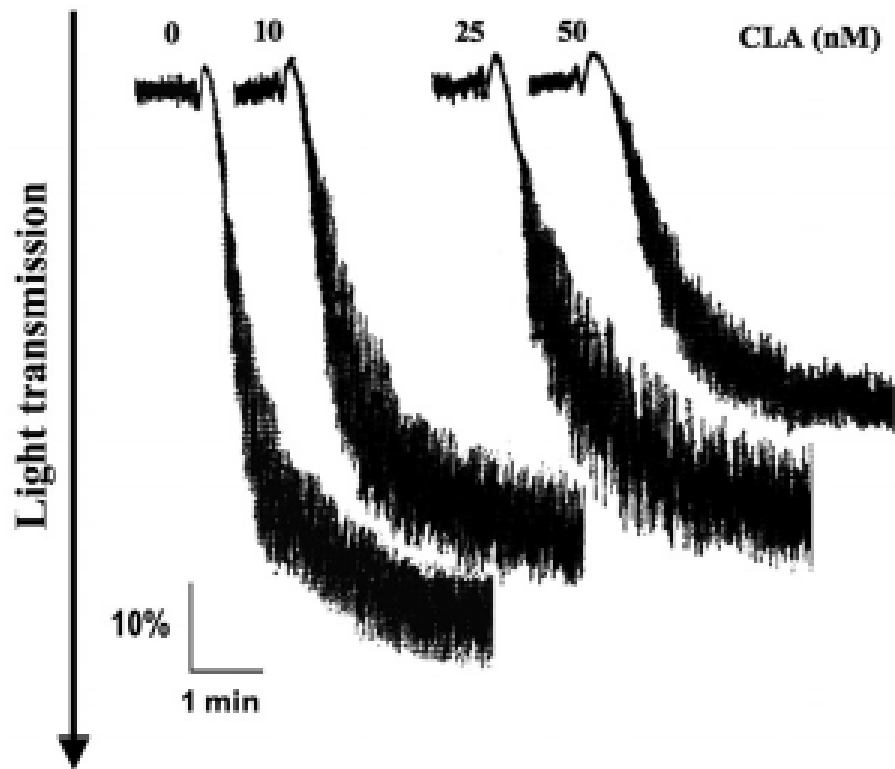
A thrombocyták aktivációja alapvető jelentőségű a thrombotikus betegségek kialakulása szempontjából. A pályázat során ezen aktivációs folyamatok mechanizmusait vizsgáltuk.

1. In vitro aktivált vérlemezkék esetén hígított teljes vérben és mosott thrombocytákon megtörtént aktivációs markerek vizsgálata hagyományos (TRAP) és inflammatorikus (LPS) aktivátorok hatására. A vizsgálatok során a különböző típusú LPS-ek közül egyik sem okozott P-selectin, vagy CD63 fokozott expressziót. Ugyancsak nem kaptunk hatást a mikropartikula képződésre sem LPS hatására, míg a kontrollként alkalmazott TRAP stimuláció esetén a thrombocyta eredetű mikropartikulák (PMP) száma 4-5-szörös emelkedést kaptunk. Az LPS nem emelte a heterotipikus aggregátumok (leukocyta, thrombocyta) arányát sem viszont a rövid LPS (LPS_{re}) fokozta a CD40 ligand expresszióját a thrombocytákon teljes vérben történt kísérletek során. Különböző típusú mintákon végzett analízissel tisztáztuk, hogy ezen emelkedést valószínűleg a plazmában lévő szolubilis CD40 thrombocyta-képződés asszociációjából fakad, mert mosott thrombocytákon hasonló emelkedést nem kaptunk. Az LPS-izoformák közül csak ez Re-LPS tudott aktivációt (aggregáció potenciózása, mikropartikula képződés, CD40L expresszió) létrehozni. Az előkísérletek során bizonyítottuk, hogy az LPS aktív mivel rövidíti a mononukleáris sejtek prokoaguláns idejét (A rész) és kötődik a vérlemezkékhez (B rész). A további vizsgálatokban, pedig bizonyítani tudtuk, hogy a két vizsgált LPS izoforma (Re-LPS és S-LPS) közül csak az előbbi tud hatást kifejteni (C-F ábrarészek). Az erről szóló publikációt (Kappelmayer J et al. J. Thromb Haemost) már beküldtük és „minor revision” javaslattal jelenleg folyik az átdolgozása. A legfőbb eredményeket a mellékelt ábra mutatja be.



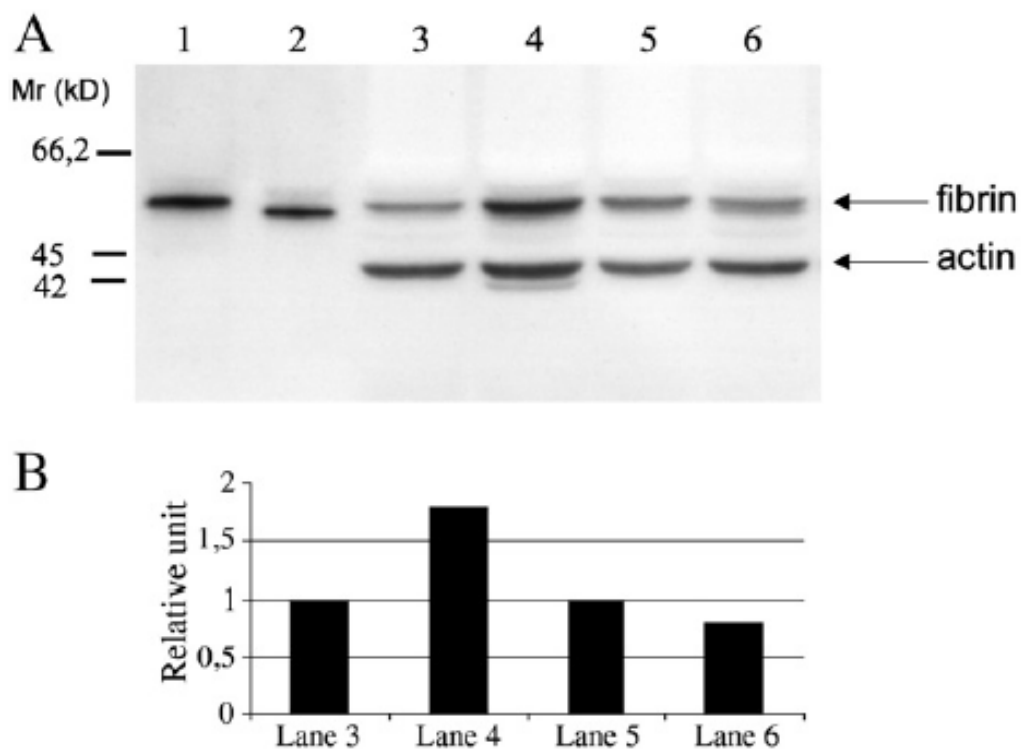
2. A foszfatáz gátlók hatásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a calyculin A (CLA) dóziszfüggő módon gátolja a thrombin-receptor-aktivátor peptid (TRAP) által létrehozott P-selectin és CD63 expressziót és a legjelentősebb gátló hatása a thrombocyta mikropartikula (PMP) képződésre van. Fenti kísérletekben a hatást áramlási citometriai módszerekben mértük le, míg a CLA foszfatáz gátló aktivitását radioizotópos módszer és Western blotting technikával igazoltuk. A korábban leírt aggregációs vizsgálatokhoz hasonló rendszerben itt azt tudtuk kimutatni, hogy a CLA dóziszfüggően gátolja a vérlemezke aggregációt, melyet Chrono-Log lumiaggregometriás készülékkel vizsgáltunk. (lásd mellékelt ábrák). Ezen eredményeket két évvel ezelőtt közöltük (Simon Zs et al. Platelets, 2010).



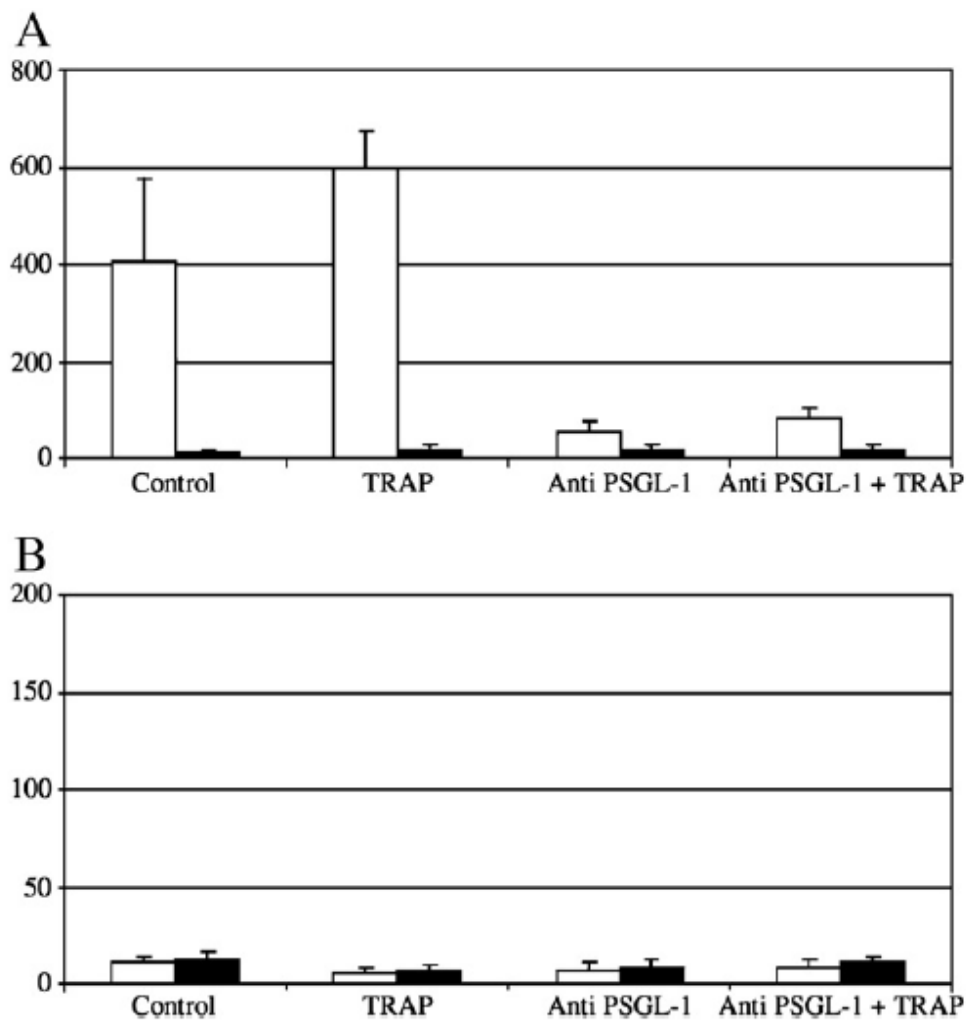


3. A P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) knock out, egér modellben leírtuk, hogy a PSGL-1 hiánya protektív szereppel bír a thrombosis kialakulása során (Misztiblasius et al. Thrombosis Research, 2011). Ezen eredményeket az egerek kollagén-epinephrin adás utáni túlélési görbéje a tüdőben a PSGL-1 hiányban lerakódott csökkent fibrin-mennyiség alapján (1. ábra), az immunmorfológiai vizsgálatokban képződött kevesebb thrombotizált ér, valamint a PSGL-1 antitesttel gátolható hetrotypikus aggregátumok mennyisége alapján állítottuk (2. ábra).

1. ábra



2. ábra



4. A veleszületett thrombocytá rendellenességek közül kollaborációs vizsgálataink során meghatároztuk, hogy Glanzmann thrombasthenia variáns formája esetén a thrombocytá felszíni receptorok közül a P-selectin (CD62), valamint a CD42b és a CD41 expresszióját és megvizsgáltuk ezek TRAP aktiváció után megjelenő szintjét, valamint a PAC-1 és fibrinogén kötődést. (Bagoly et al. Thrombosis Research 2011). Eredményeinket korreláltattuk Western blot és funkcionális tesztekkel.

További klinikai kollaborációs vizsgálataink eredményeként két beteg populációban (obesitas és perifériás artériás betegség vagyis PAD) mutattunk ki jelentős vérelemezke aktivációt illetve ezek összefüggését a betegség alatti egyéb változókkal

(Csongrádi et. al Thrombosis and Haemostasi 2011, valamint Shemirani et. al Platelets 2011).

Legújabbban a kollagén és thrombin által létrehozott speciális COAT-platelet populáció előfordulását analizáltuk essenciális thrombocythemiában (ET). Itt több más paraméterrel összhangban azt találtuk, hogy kevesebb COAT-platelet képződik mely a globális thrombocyta funkciós tesztben (PFA-100) is hosszabb megnyúlási idővel jár így és ez a defektus hidroxyurea kezeléssel korrigálható, leginkább azon esetekben, ahol JAK2 mutáció volt kimutatható (Reményi et al, Platelets, 2012).

