

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПУЛА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОВЕЗИКУЛ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО И ТРОМБОЦИТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МИКРОАНГИОПАТИЕЙ

Н. В. Гончарова¹, Л. Н. Анацкая², М. П. Потапнев¹

¹РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь

²РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь

Введение. Структурно-функциональные изменения внутреннего слоя сосудистой стенки при селективном воздействии на эндотелий лейкоцитов признаны ведущим механизмом прогрессирования церебральной микроангиопатии (ЦМА). Циркулирующие в периферической крови внеклеточные везикулы (ВВ) являются производными мембран апоптотических/активированных клеток и представляют собой гетерогенную популяцию субмикронных частиц от 50 нм до 1000 нм, выступают в качестве аутокринных и паракринных эффекторов межклеточного взаимодействия и могут стать эффективными биологическими маркерами эндотелиального гомеостаза, воспаления, гемокоагуляции, ангиогенеза и тромбоза.

Цель. Изучить субпопуляционный состав и фенотипический профиль пула циркулирующих микровезикул эндотелиального и тромбоцитарного происхождения у пациентов с церебральной микроангиопатией.

Материалы и методы. Объект исследования – ВВ периферической крови пациентов с ЦМА (56 человек, средний возраст 62,9±9,4 лет, 53–83 года; средний показатель количества сосудистых факторов риска – 2,3±0,4). Группа контроля – 21 условно здоровый донор крови. Изоляция ВВ осуществлялась путем дифференциального центрифугирования. Фенотипический профиль субпопуляций циркулирующих ВВ выявлялся комбинацией моноклональных антител к CD31, CD309, CD34, CD95, CD36, CD117, CD106, CD102, CD144, CD45, CD146, CD71, CD14, CD62E, CD62P, CD73, CD147, CD61, FLT1, CD54, CD235a и CD69 человека (Beckman Coulter и Becton Dickinson) с учетом экспонирования на внешней мембране фосфатидилсерина. Регистрация и анализ данных производились на проточном цитофлуориметре с использованием программного обеспечения FACSDiva v7.0 (Becton Dickinson, США).

Результаты. Изучена структура пула циркулирующих ВВ у пациентов с ЦМА до начала терапии. Тромбоцитарные ВВ положительны по «якорным» антигенам CD41, CD61, CD31, CD36 (от 96 до 100% для каждого антигена). В структуре пула объектов 300–500 нм экспрессия фосфатидилсерина составляла 0,5–10%, CD41 – 19–36%, CD31 – 11–35%, CD61 – 20–37%, CD36 – 12–36%, CD62P – 7–12%, CD69 – 0,1–1,2%, CD102 – 4–12% и CD147 – 10–36%. В структуре пула объектов менее 300 нм экспрессия тромбоцитарных маркеров составляла 0,7–3,1%, относительное содержание фосфатидилсерина – 0,01–1,2%. Частицы размером более 500 нм экспонировали на внешней мембране фосфатидилсерин до 60%, маркеры тромбоцитов до 92%. Фенотип тромбоцитарных ВВ определен как AnnexinV^{+/–}CD41⁺CD31⁺CD61⁺CD69^{+/–}CD102^{+/–}CD147⁺CD62P⁺. Фенотип эндотелиальных ВВ определен как CD309⁺FLT1^{+/–}CD144^{+/–}CD146⁺CD62E^{+/–}CD31⁺CD147⁺CD54^{+/–}. У пациентов с ЦМА в остром периоде выяв-

лено значимое увеличение относительного содержания тромбоцитарных ВВ с фенотипом CD41⁺CD61⁺CD69⁺CD62P⁺AnnexinV⁺ (79,15±1,72%, p=0,001) и эндотелиальных ВВ с фенотипом CD309⁺CD144⁺CD146⁺CD62E⁺CD31⁺ (7,74±1,19%, p=0,030) относительно уровней условно здоровых лиц (65,38±2,93% и 3,36±0,65% соответственно).

Вывод. Характеристика фенотипического профиля и установление уровней микровезикул эндотелиального и тромбоцитарного происхождения может служить дополнительным критерием оценки целостности эндотелия церебрального микроциркуляторного русла.