

ОЦЕНКА СТАТУСА ДЕСИАЛИРОВАНИЯ ТРОМБОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНО МЕЧЕННЫХ ЛЕКТИНОВ

М. Д. Сысоев, А. А. Игнатова, Е. В. Сунцова, М. А. Пантелеев

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Измерение уровня десИАлирования (снижения количества сиАловых кислот) тромбоцитов как маркера тяжелого течения иммунной тромбоцитопении (ИТП) представляет большой научно-клинический интерес. Уровень десИАлирования измеряется с помощью меченых лектинов [1].

Целью данной работы является определение параметров связывания (EC_{50}) лектинов с тромбоцитами и подбор условий для разработки оптимизированного протокола измерения уровня десИАлирования тромбоцитов.

Для измерения содержания сиАловых кислот на поверхности тромбоцитов использовалась комбинация трех флуоресцентно меченых лектинов: SNA и MAL-II, связывающиеся с различными формами сиАловой кислоты, и RCA-I, связывающийся с десИАлированными углеводными остатками. Такой выбор лектинов позволяет более корректно охарактеризовать статус десИАлирования тромбоцитов. В качестве метода измерения флуоресценции лектинов, связанных с тромбоцитами, использовалась точная цитофлуориметрия. В качестве положительного контроля используются пробы с добавленной нейраминидазой.

В ходе работы были получены EC_{50} связывания лектинов SNA, MAL-II и RCA-I с отмытыми тромбоцитами в суспензии – 2,9, 3,6 и 7,1 мкг/мл соответственно. Также были получены зависимости связывания лектинов от концентрации тромбоцитов, где был показан интервал 10^3 – 10^4 тромбоцитов/мкл, в пределах которого связывание лектинов значительно не меняется. Полученные данные позволяют увидеть, в каких пределах концентраций лектинов и тромбоцитов находится зона насыщения.

На основе полученных параметров и зависимостей нами предложены концентрации лектинов и тромбоцитов, определенные как наиболее оптимальные для измерения уровня десИАлирования. В текущее время протокол измерения используется нами в апробации с участием здоровых доноров и пациентов с хронической ИТП.

Авторы выражают благодарность фонду “Наука – детям” за поддержку исследования.

Библиографические ссылки

1. Measuring beta-galactose exposure on platelets: Standardization and healthy reference values / D. Lasne [et al.] // Res. Pract. Thromb. Haemost. 2020. Vol. 4, iss. 5. P. 813–822.