

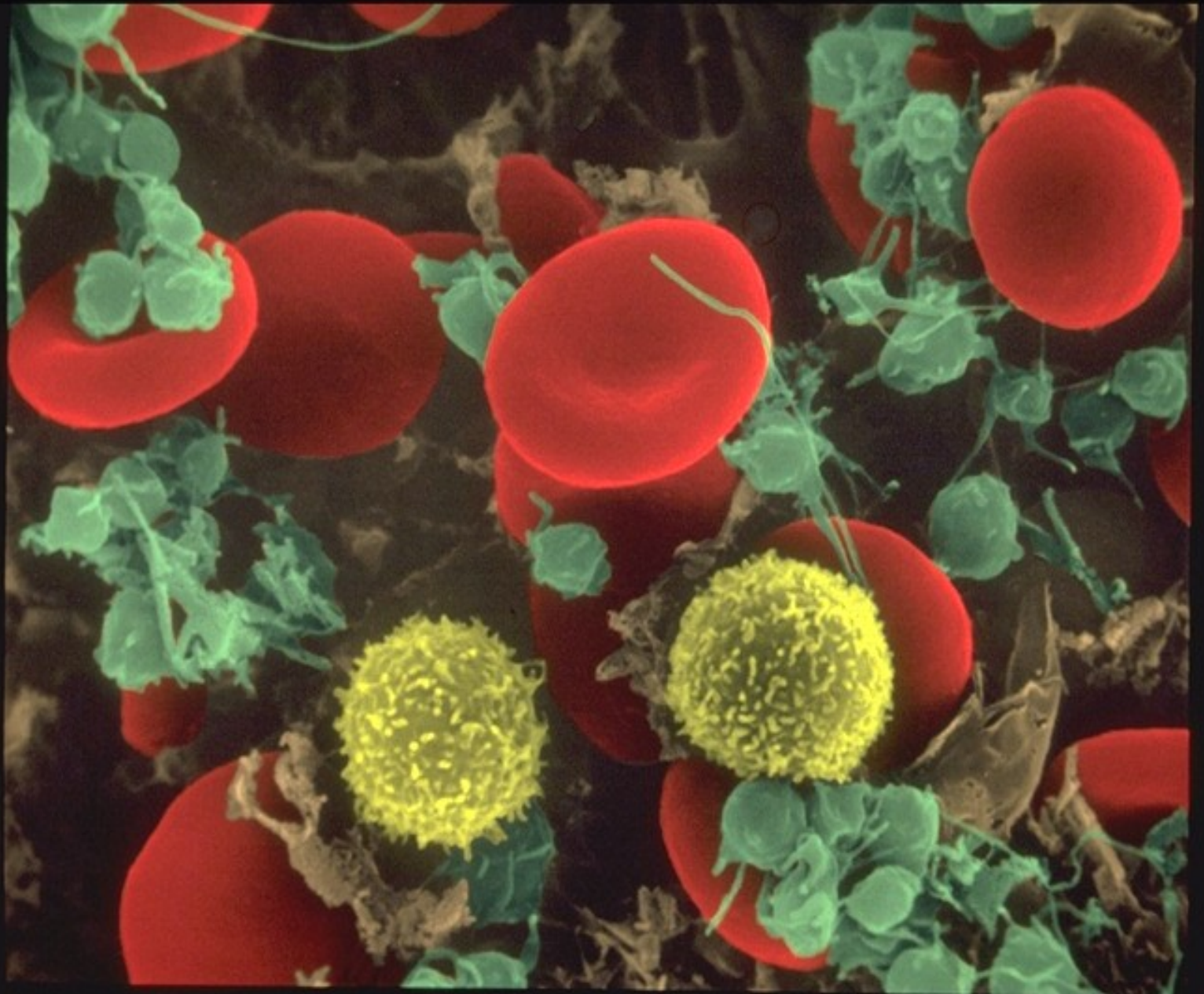
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

ΜΑΓΔΑ Ι. ΤΣΕΚΟΥΡΑ
ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

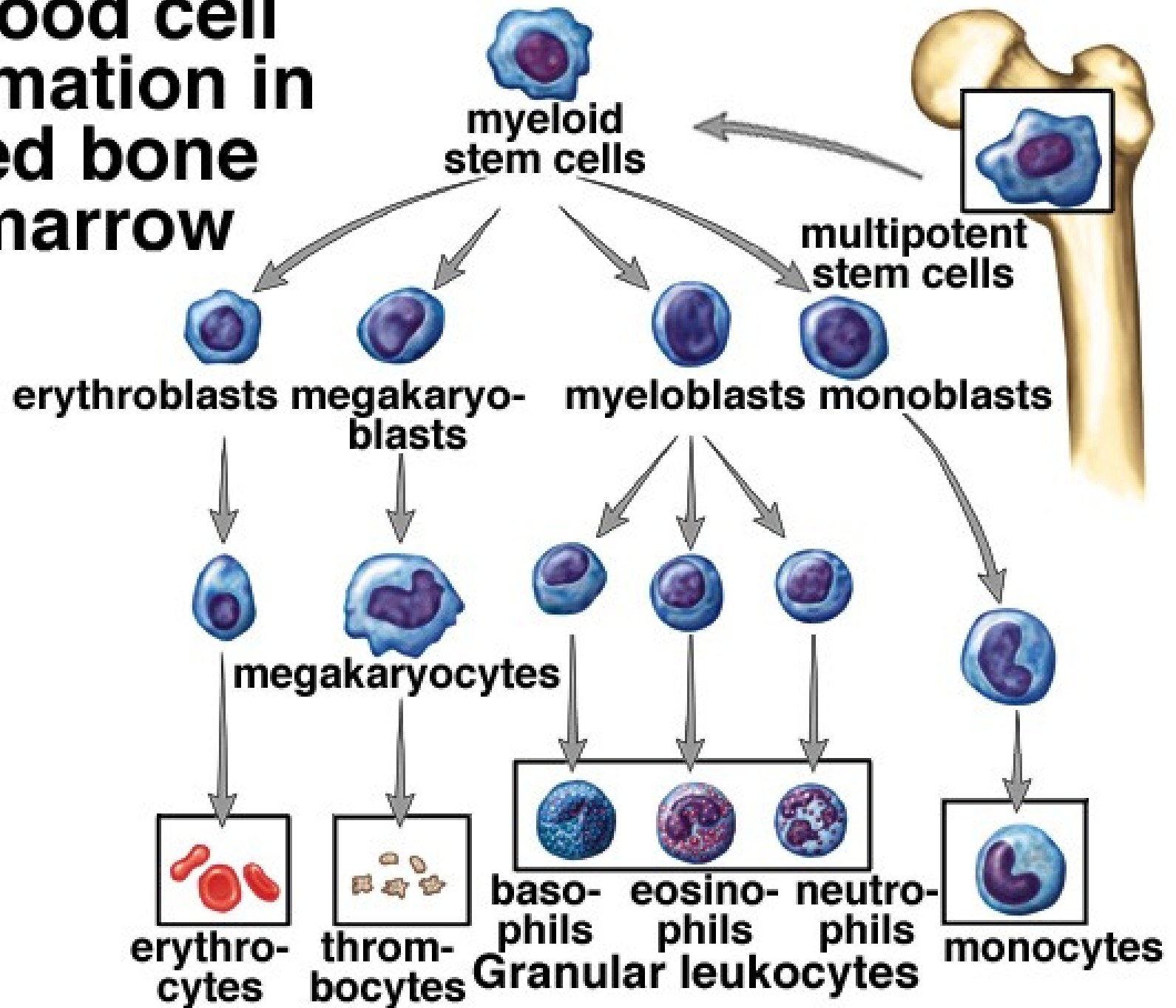
ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ -ΘΡΟΜΒΟΚΥΤΤΑΡΑ

- Δισκοειδείς σχηματισμοί
- Διάμετρος 2-4μm
- Όγκος 7 μl
- Απύρρηνα
- Μεγακαρυοκύτταρο(3000-4000αιμοπετ.)
- Διάρκεια ζωής 9 – 10 μέρες
- Φυσ.τιμές 150 -400 χ 10⁹/L



Blood cell formation in red bone marrow



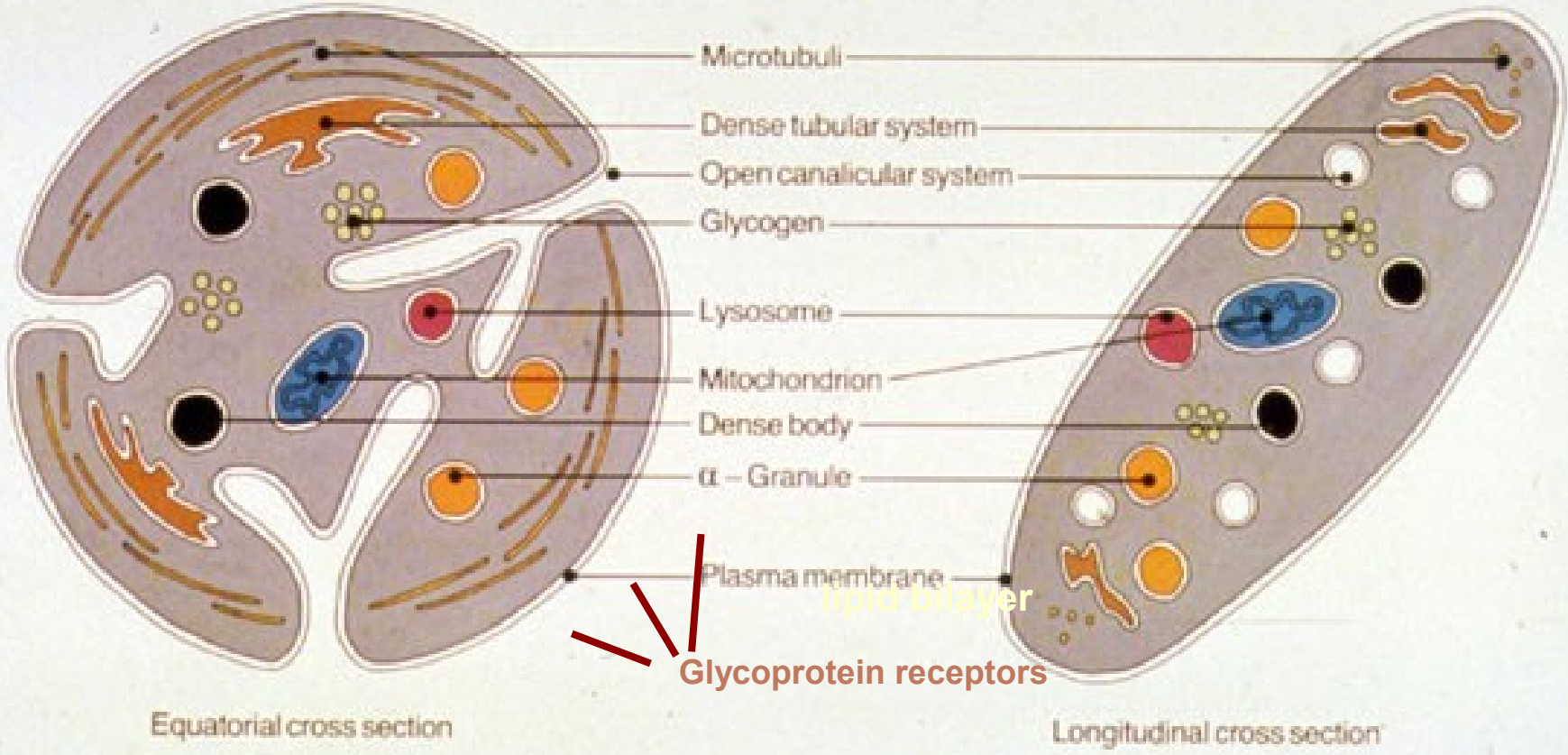
Δομή Αιμοπεταλίων

- Γλυκοκάλυκας
- Μembrάνη (διπλό στρώμα λιπιδίων)
- Κυτταρικός σκελετός
- Κυτταρόπλασμα

ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ

- Κοκκία (α-κοκκία και δ -κοκκία)
- Λυσοσωματικά ένζυμα, θρομβοξάνη A2
- Μιτοχόνδρια

Schematic representation of a blood platelet

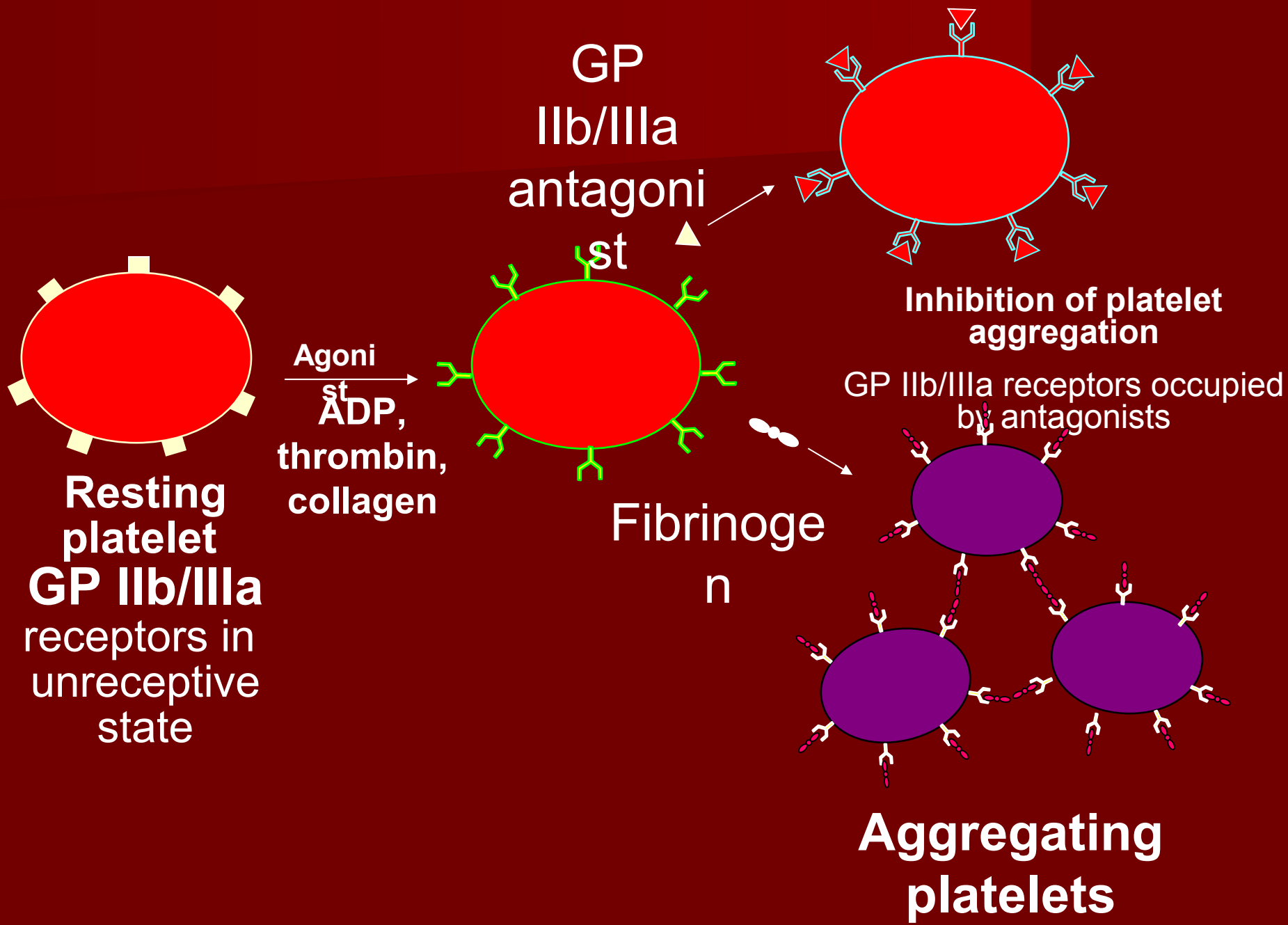


Equatorial cross section

Longitudinal cross section

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

- Έχουν ειδικότητα για συγκεκριμένες προσκολλητικές ουσίες.
- Γλυκοπρωτεϊνικά συμπλέγματα
- Τροποποιούνται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, εκφράζοντας διαφορετικούς επιτόπους



Υποδοχείς και προσκολλητικές ουσίες

- GPIa/IIa → κολλαγόνο
- $\alpha_2\beta_1$ → κολλαγόνο
- $\alpha_5\beta_1$ → φιμπρονεκτίνη
- GPI_b/IX → vWF
- α_{IIb}/β_3 → vWF
- GPII_b/III_a → ινωδογόνο
- $\alpha_{IIb}\beta_3$ → ινωδογόνο

ΦΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

- Π ρ ω τ ο π α θ ή ς (αιμοπετάλια και ενδοθήλιο)
- Δ ε υ τ ε ρ ο π α θ ή ς (σχηματισμός ινικής)
- Τ ρ ι τ ο π α θ ή ς (διάλυση του πύγματος ινικής-ενεργοποίηση πλασμινογόνου)

ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

- Είναι σημαντικά στην πήξη του αίματος
- Απελευθέρωση σεροτονίνης και ελάττωση της ροής αίματος στην περιοχή
- Διατήρηση της ακεραιότητας του τοιχώματος του αιμοφόρου αγγείου (με την έκκριση αυξητικών παραγόντων)
- Φυσιολογικά βρίσκονται μακριά από το ενδοθήλιο με την δράση της προστακυκλίνης
- Δεν δημιουργούν πήγμα σε φυσιολογικό αγγείο
- Επιπλέον εμπλέκονται στην ιστική βλάβη, στη φλεγμονή, και στην επούλωση πληγής ελκύνοντας και συνδέοντας λευκοκύτταρα

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

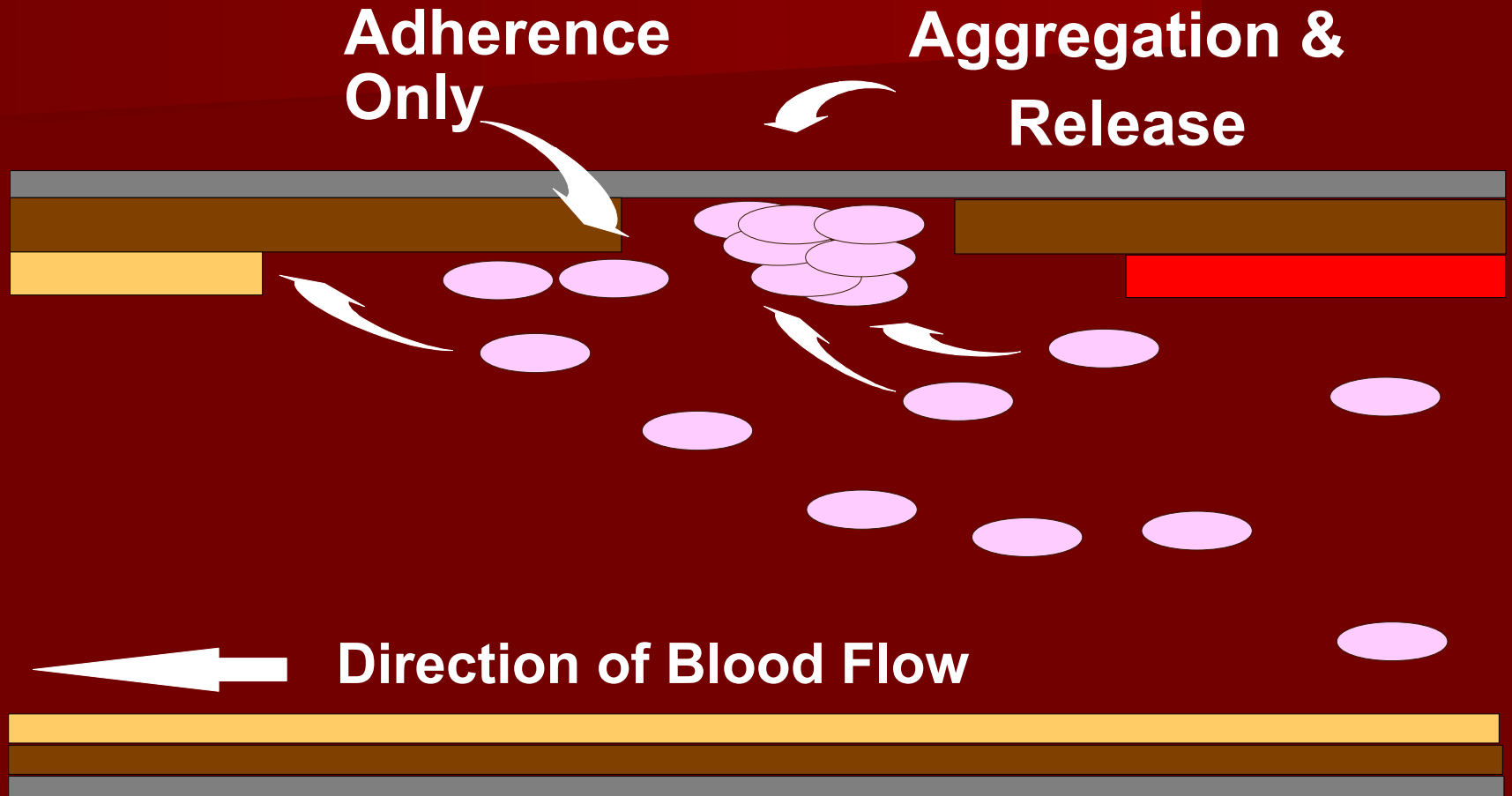
Κατά την βλάβη του αγγείου εκτείνεται ο υποενδοθηλιακός ιστός στο αίμα , τὰ ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν von Willebrand παράγοντα και τὰ αιμοπετάλια εκφράζουν 4 ιδιότητες-λειτουργίες

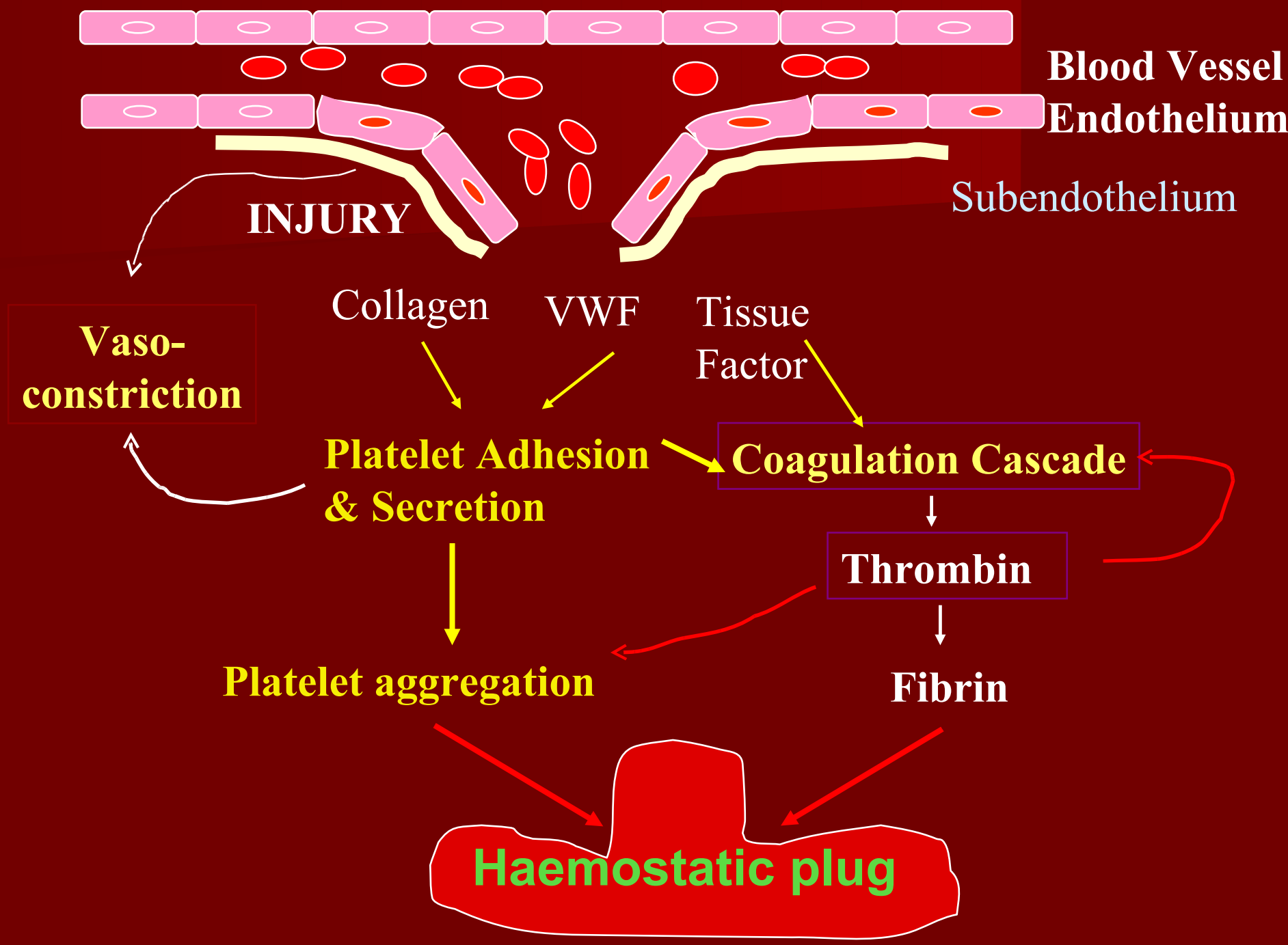
- ❖ Προσκόλληση στο κολλαγόνο του υποενδοθηλίου με την βοήθεια υποδοχέα για το κολλαγόνου και την συμμετοχή του παράγοντα von Willebrand
- ❖ Αλλαγή του αιμοπεταλιακού σχήματος
- ❖ Ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου και απελευθέρωση ουσιών από τὰ κοκκία(ADP,σεροτονίνη,θρομβοξάνη A2)
- ❖ Συσσώρευση αιμοπεταλίων και σχηματισμός της πρωτοπαθούς αιμοστατικής πλάκας

ΆΛΛΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΟΥ

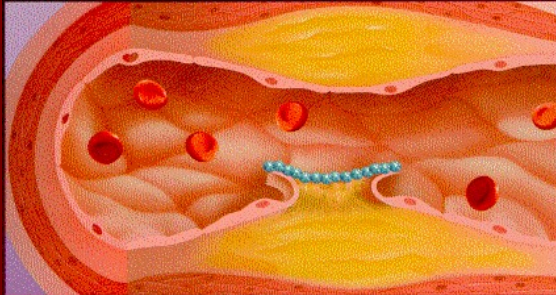
- Πήξη αίματος(ινωδογόνο, FV, FXI, παράγων von Willebrand)
- Προαγωγή της πήξης με φωσφολιπιδική επιφάνεια
- Συστολή θρόμβου(ακτομυοσίνη)
- Σταθεροποίηση ινώδους(f XIII)
- Αγγειοσύσπαση(σεροτονίνη, TXA2)
- Αποκατάσταση αγγείου (PGF, θρομβογλοβουλίνη)

Platelet Function

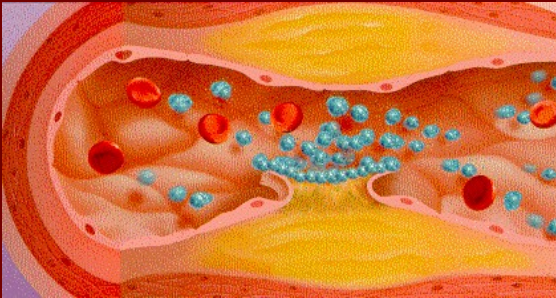




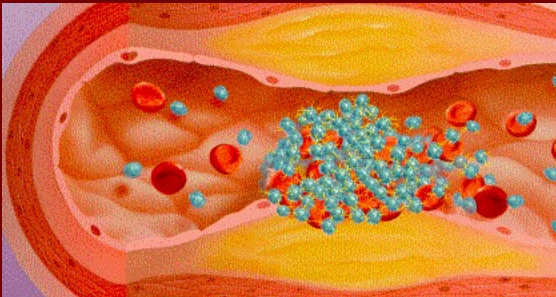
Events Leading to Thrombus Formation



Adhesion



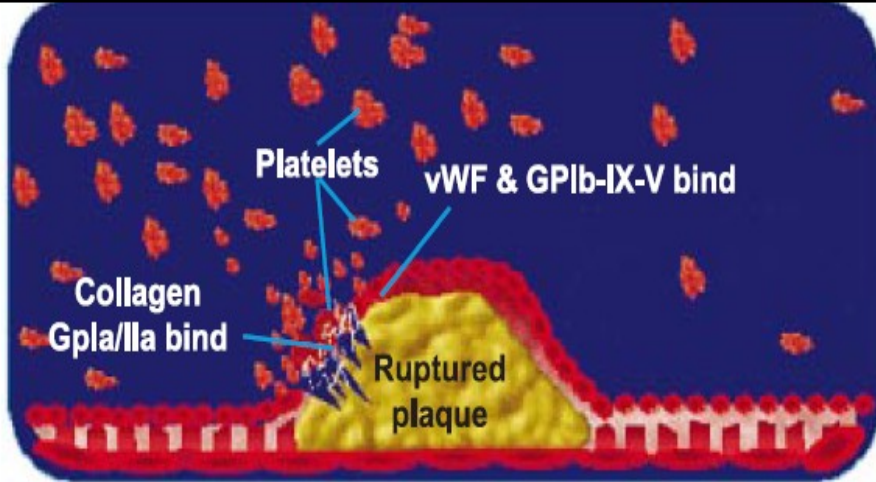
Activation



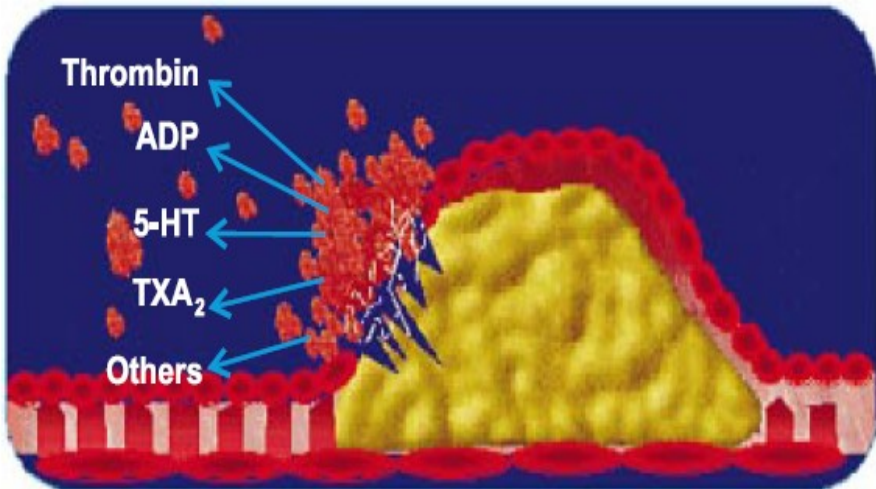
Aggregation

Role of Platelets in Acute Ischaemic Event

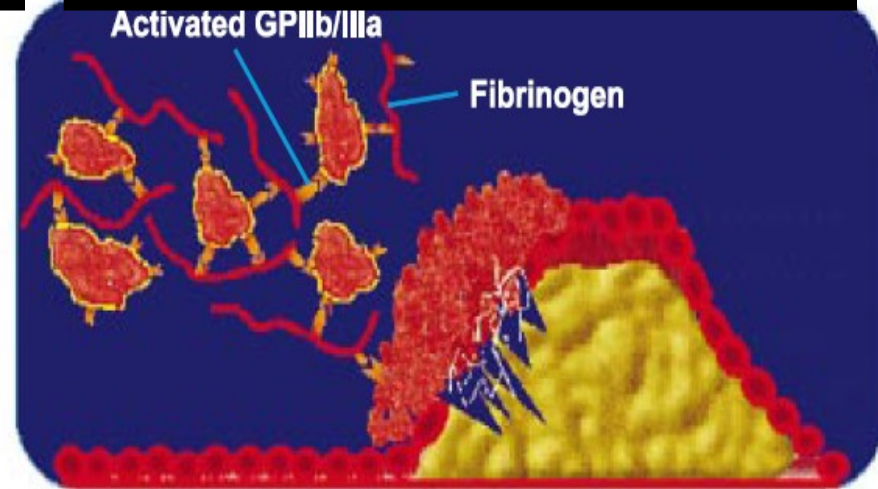
1. Growth of atherosclerotic plaque



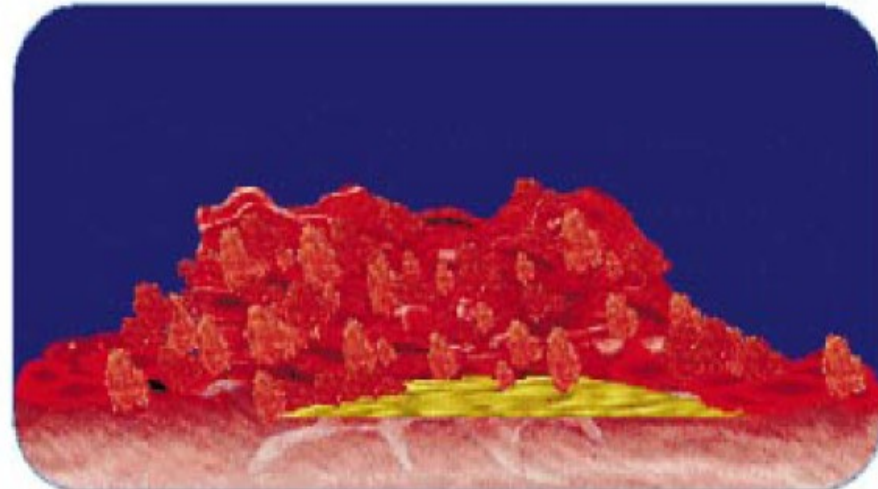
2. Plaque rupture



3. Thrombus formation



4. Occlusion



ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

❖ ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

- παθολογική κατανομή
- αποτέλεσμα αραίωσης
- ελαττωμένη παραγωγή
- αυξημένη καταστροφή

❖ ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

- A)κληρονομικές
- B)επίκτητες
 - φάρμακα
 - χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
 - καρδιοπνευμονικό bypass

ΕΛΑΤΤΩΜΕΝΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

- ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗ
 - Λευχαιμία
 - Φάρμακα, λοιμώξεις
 - Αναστολή δράσης θρομβοποιητίνης(κληρονομικά η επίκτητα προβλήματα), σύνδρομο Wiscott-Aldrich)
- ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ
 - Άνοση(ITP, άνοση φαρμακευτική πορφύρα, ισοανοσοποίηση)
 - Μηχανική(DIC, αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο/TTP, συγγενής καρδιακή νόσος)
- ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΟΣ
 - Υπερσπληνισμός
 - Γιγάντιο αιμαγγείωμα

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων είναι σπανιότερες από τις ποσοτικές διαταραχές

□ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ

- Νόσος Glanzmann(Συγγενής ανεπάρκεια του GP IIb-IIIa ,ανεπάρκεια συσσωρευσης)
- Νόσος Bernard-Soulier(Συγγενής ανεπάρκεια του υποδοχέα του παράγοντα von Willebrand----μεγάλα αιμοπετάλια,ανεπάρκεια προσκόλλησης)

□ ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ

- NSAIDS και άλλα φάρμακα
- Ουραιμία
- Κίρρωση
- Ανεπάρκεια B₁₂ η βιταμίνης C
- Αλκοολισμός

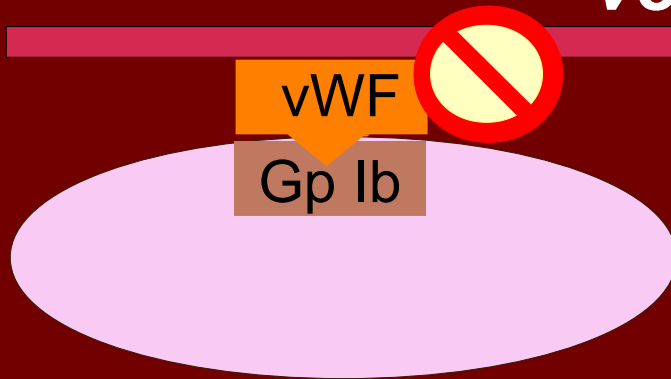
INHERITED PLATELET DISORDERS

MAIN CHARACTERISTICS

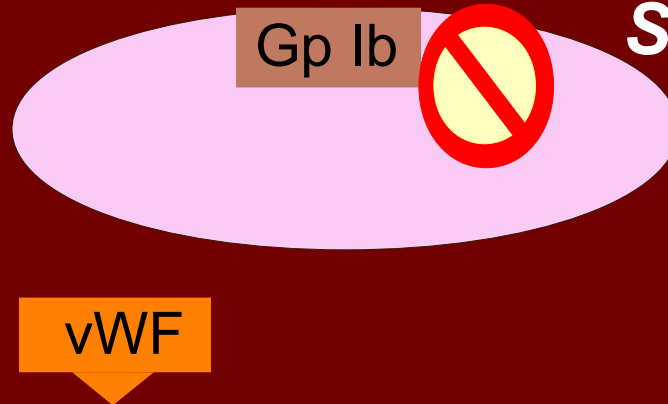
PLATELET FUNCTION	DISORDER	BT	NUMBER	PLATELETS MORPHOLOGY SIZE - VOLUME	CLOT RETRACTION
AGGREGATION	<ul style="list-style-type: none"> Glanzmann Thrombasthenia GPIIbIIIa ↓ 	↗↗↗ or ↗	N	N	O or ↓
ADHESION	<ul style="list-style-type: none"> Bernard Soulier Syndrome GPIb IX V ↓ others <ul style="list-style-type: none"> * platelet pseudo Willebrand GPIb ↗ * collagen reactivity ↓ GPIa ↓ 	↗ or ↗↗	↓	Size ↗↗↗ giant platelets	N
SECRETION [adhesion ↓ aggregation ↓]	<ul style="list-style-type: none"> Storage Pool Disease δ granules ↓ 	↗ or N	N or ↓	Size N	N
	<ul style="list-style-type: none"> Gray platelet Syndrome α granules ↓ 	↗	N or ↓	N granules ↓	N
ACTIVATION [release ↓ aggregation ↓]	<ul style="list-style-type: none"> Ca⁺⁺ fluxes abn. Prostaglandins synthesis decreased <ul style="list-style-type: none"> * COX ↓ * TX synthase ↓ 	↗ ±	N	N	?
COAGULANT ACTIVITIES	<ul style="list-style-type: none"> Platelet F.3 ↓ 	N	N	N	?

Platelet Adherence

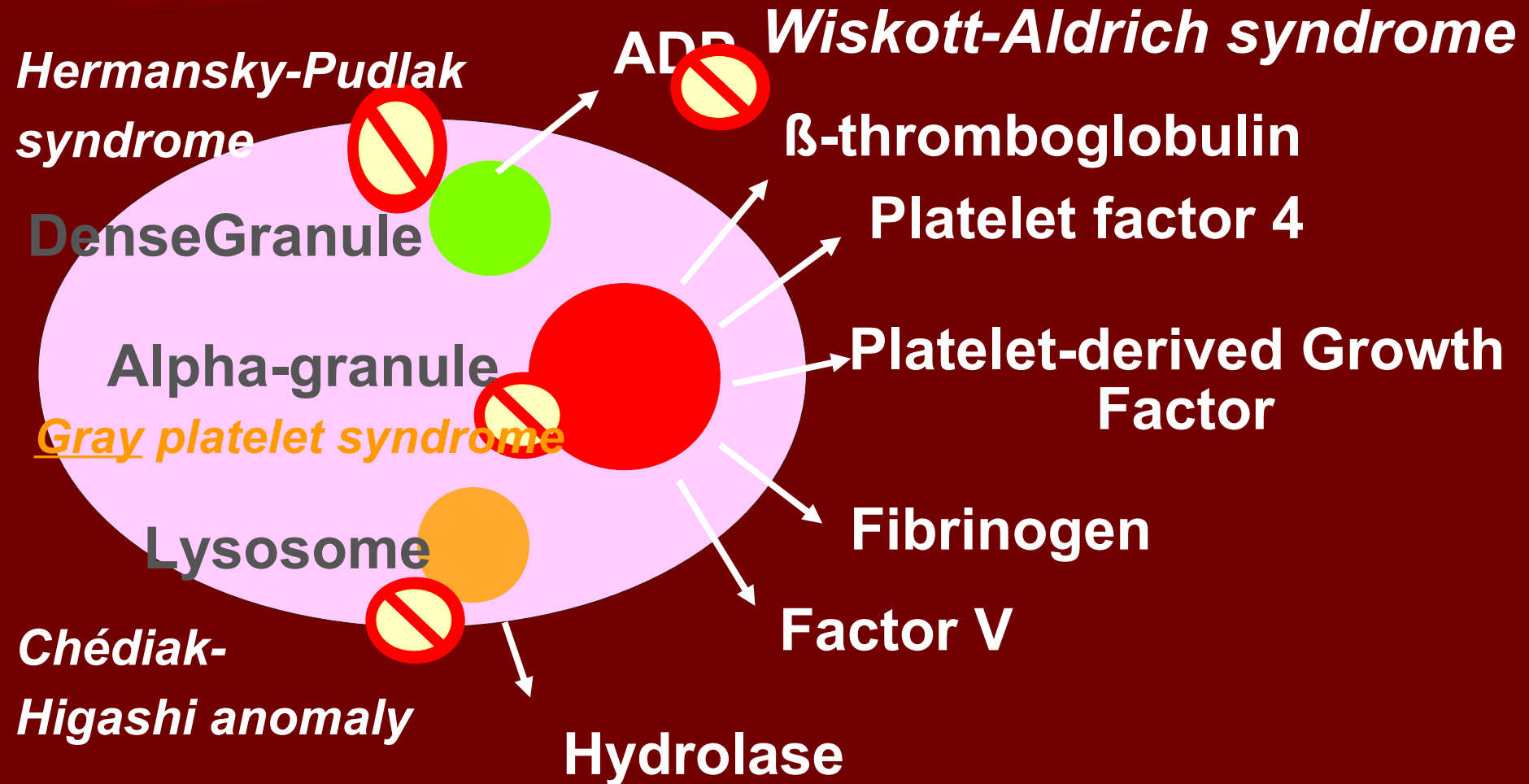
von Willebrand Disease



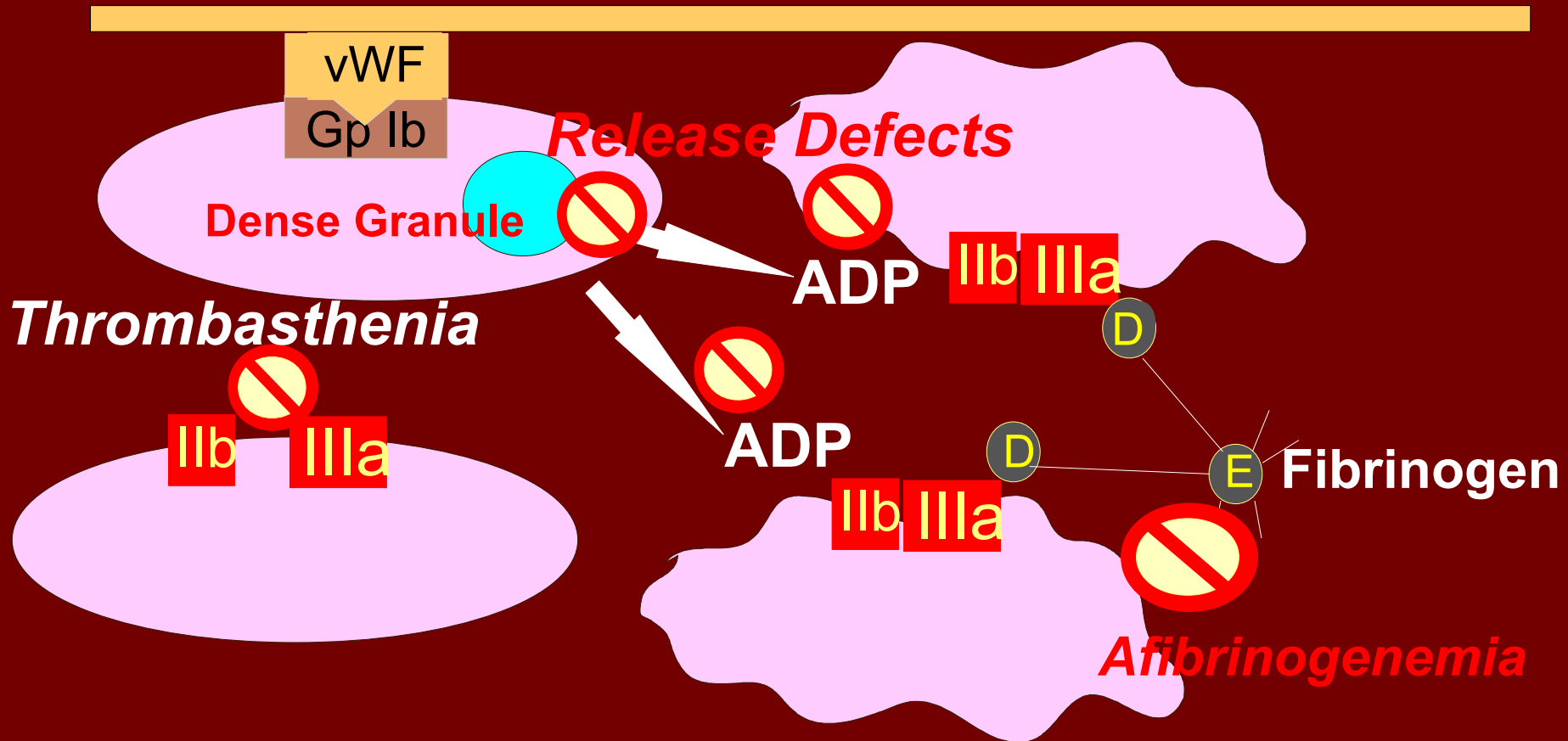
Bernard-Soulier Syndrome



Platelet Release Function



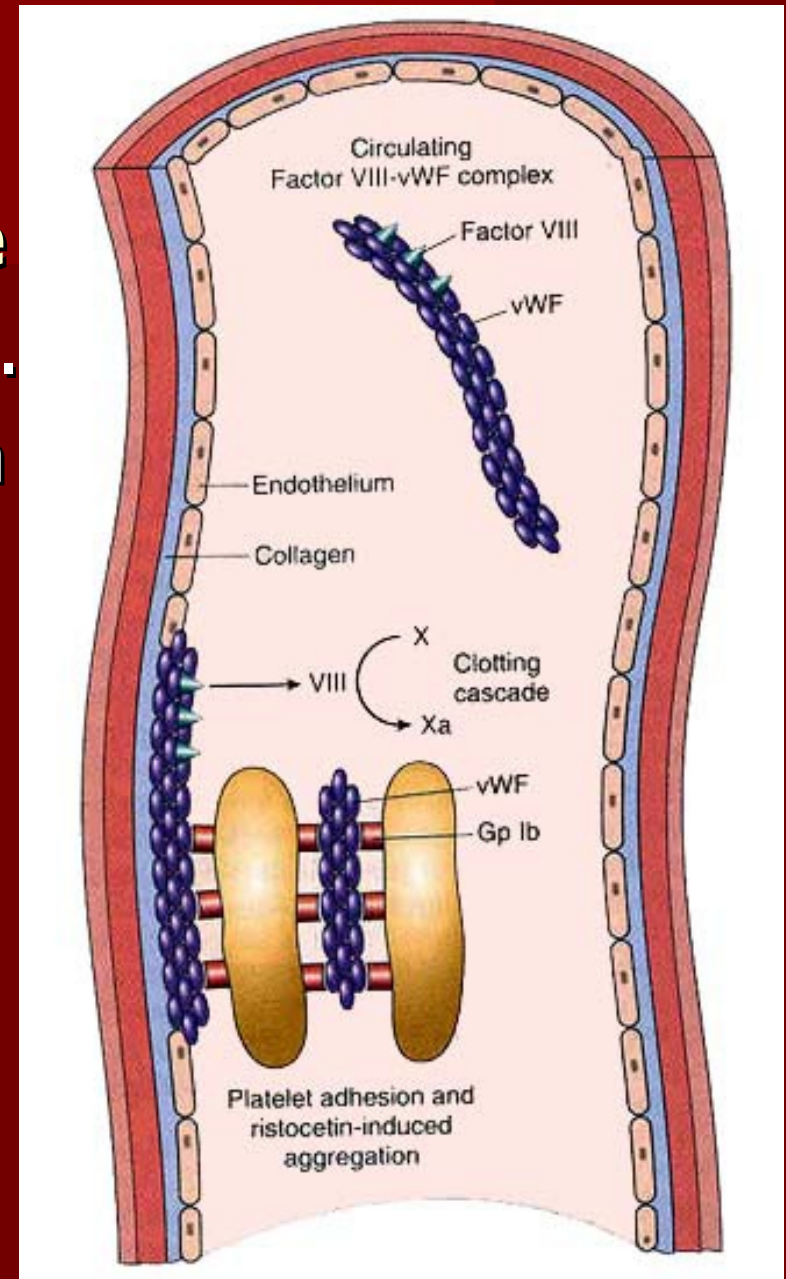
Platelet Aggregation



ΠΑΡΑΓΩΝ von WILLEBRAND ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ von WILLEBRAND

- Ο παράγων von Willebrand προάγει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων, βοηθά στην προσκόλληση τους και σταθεροποιεί τον παράγοντα VIII
- Υπάρχουν 3 τύποι της νόσου
 - ✓ Τύπος1 -----Ελαττωμένο ποσό φυσιολογικής πρωτεΐνης
 - ✓ Τύπος2-----Παθολογική πρωτεΐνη
 - ✓ Τύπος3-----Έλλειψη πρωτεΐνης

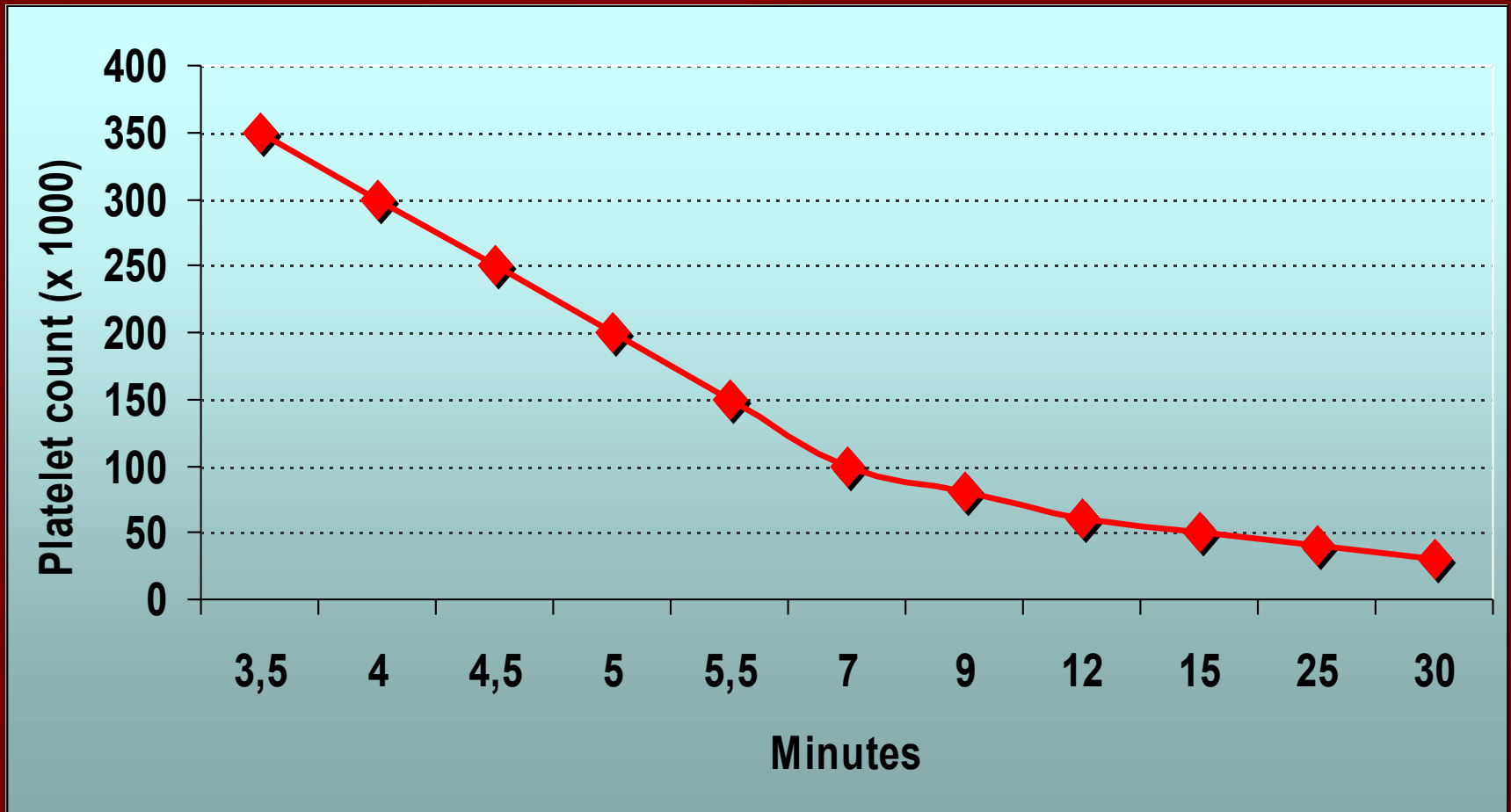
- **Von-Willebrand Disease**
- vWF: F-VIII & PLT function.
- Defective Platelet Adhesion
- Skin Bleeding
- Prolonged Bleeding time.
- Low Factor VIII levels.



ΜΕΛΕΤΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

- ❖ ΔΟΜΗ(ηλεκτρονικό μικροσκόπιο)
- ❖ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ(μονοπάτια signalling, φωσφορυλίωσης, εισροής Ca^{++})
- ❖ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ(χρόνος ροής, δοκιμασίες συσώρευσης, σχηματισμός θρόμβου, PFA-100, προσδιορισμός προϊόντων από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια)
- ❖ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ(κυτταρομετρία ροής)

BLEEDING TIME vs. PLATELET COUNT



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ

- Συσσωρόμετρα (aggregometers)
- Μελέτη της *in vitro* συσσωρεύσεως των PLTs παρουσία κάποιας ουσίας
ADP, επινεφρίνης,
κολλαγόνου, ριστοκετίνης, αραχιδονικού
οξέος

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ *in vitro* ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ

- Η θολερότητα του πλάσματος(πλουσίου σε αιμοπετάλια) ελαττώνεται μετά το σχηματισμό σωρών αιμοπεταλίων με την προσθήκη μιάς από τις ουσίες που προαναφέρθησαν
- Έτσι η δίοδος φωτεινής δέσμης μέσω του πλάσματος είναι ευχερέστερη
- Η φωτεινή δέσμη μετατρέπεται σε καμπύλη παρουσία φωτοκυττάρου και γαλβανομέτρου

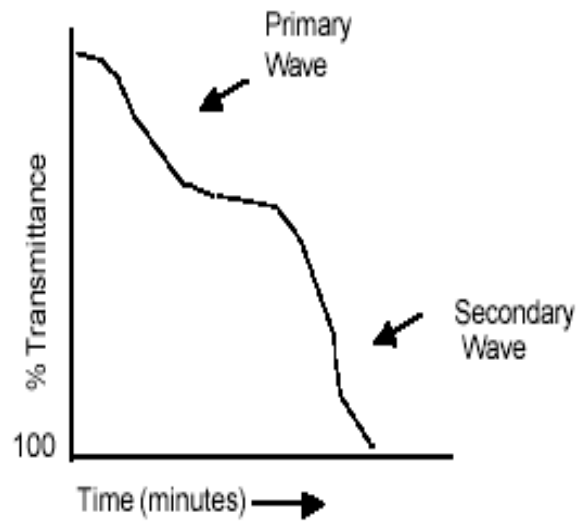
ΕΛΑΤΤΩΜΕΝΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ

- Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια(αυξημένα επίπεδα νιτρικού οξειδίου)
- Μεγάλη έλλειψη ινωδογόνου(ΔΕΠ)
- Έλλειψη GPIIb/IIIa(θρομβασθένεια Glanzmann)
- Λήψη ασπιρίνης
- Μετά χορήγηση δεξτράνης,πενικιλίνης,πεντοξυφυλλίνης

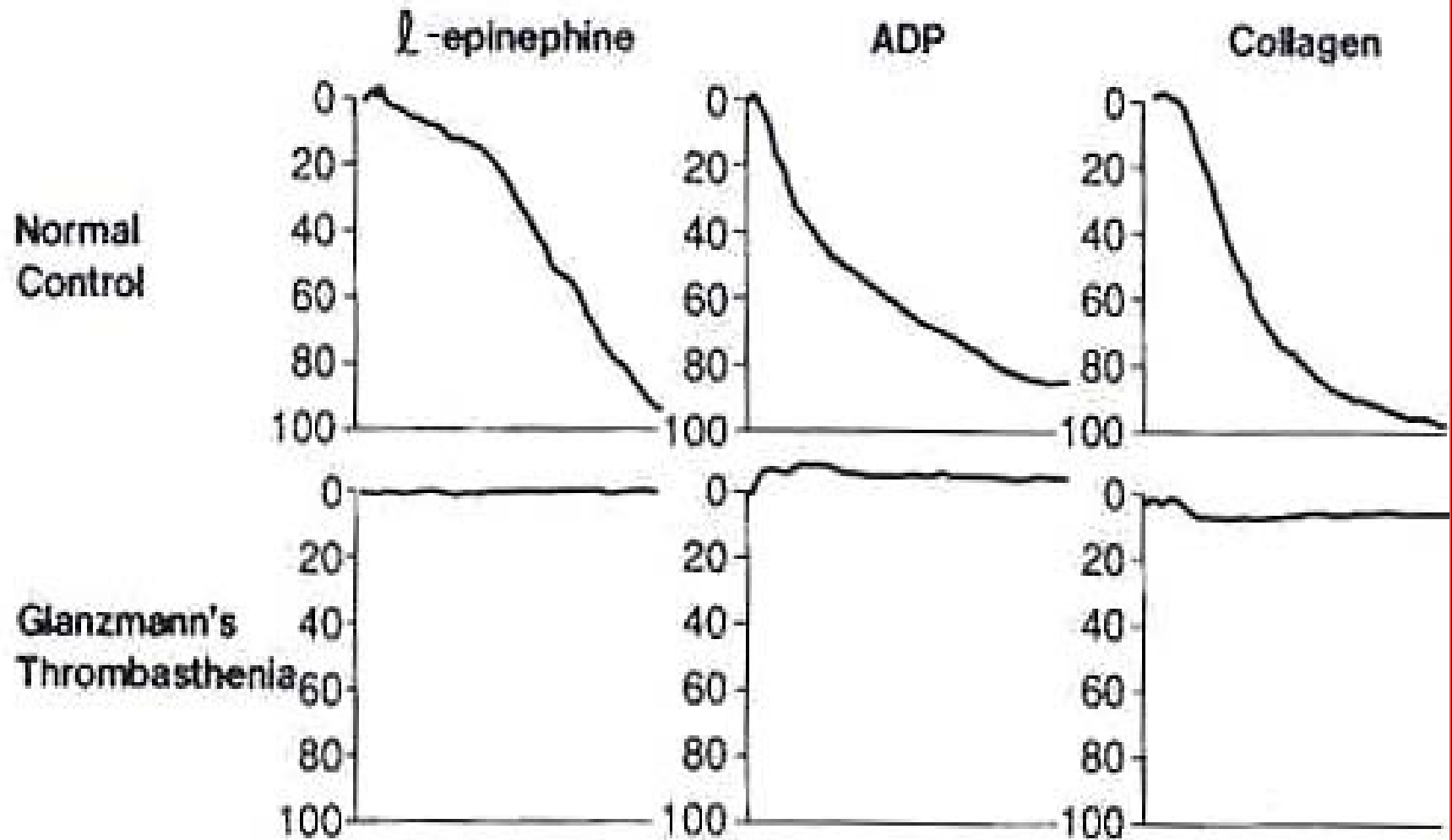
ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

- Σέ τραυματισμούς
- Εγκαυμα
- Εγχειρήσεις
- Υπερλιπιδαιμία, αθηροσκλήρυνση
- Δρεπανοκυτταρική νόσο
- Μυελοϋπερπλαστικά
- Χρήση οιστρογόνων

Biphasic Platelet Aggregation Curve



Platelet Aggregation Curves



ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΜΠΥΛΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ

- Νόσος Glanzmann, με προσθήκη ADP, κολλαγόνου η επινεφρίνης
- Νόσος von Willebrand, με προσθήκη ριστοκετίνης
- Σύνδρομο Bernard-soulier με προσθήκη ριστοκετίνης, ADP, αδρεναλίνης
- Λήψη ασπιρίνης, με προσθήκη κολλαγόνου η αραχιδονικού

ΑΛΛΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ

- Νόσος κενών αποθηκών
- Θρομβοπενία από χρήση ηπαρίνης
- Παρακολούθηση δράσης ηπαρίνης
- Προεγχειρητικό screening
λειτουργικότητας αιμοπεταλίων
- Παρακολούθηση ασθενών με αυξημένο κίνδυνο θρομβώσεων ή αιμορραγικού επεισοδίου (αυξημένη ή ελαττωμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων)

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΟΣΚΟΛΗΣΗΣ

- Χρήση φίλτρων με σφαιρίδια
 - Υπολογισμός της % προσκόλλησης
(PLTs πριν – PLTs μετά τη χρήση φίλτρου) / PLTs πριν
 - Φ.Τ (30 – 65)%
-
- Περιορισμοί: Ht < 30 % , Ht > 50%

ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΡΟΣΚΟΛΗΣΗ

- Σε τραυματισμούς
- Εγκαυμα
- Εγχειρήσεις
- Υπερλιπιδαιμία, αθηροσκλήρυνση, δρεπανοκυτταρική νόσο
- Σε μυελοϋπερπλαστικά
- Χρήση οιστρογόνων

Δηλαδή σε συνθήκες όπου συμβαίνει και αυξημένη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Όλες αυτές οι καταστάσεις προδιαθέτουν σε Θ Ρ Ο Μ Β Ω Σ Ε Ι Σ

Ελαττωμένη προσκόλληση

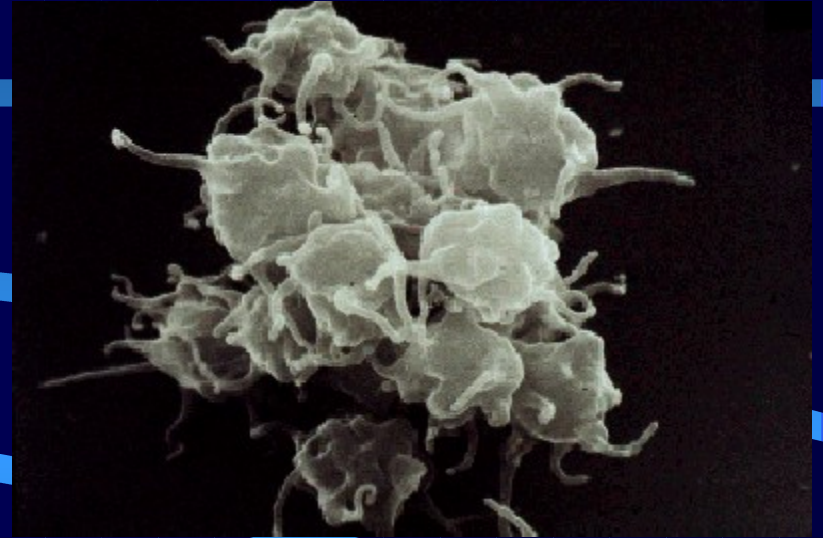
- Νόσος vWF
- Σύνδρομο Bernard-Soulier(γιγάντια PLT_s -έλλειψη GPI_b)
- Νόσος storage pool(έλλειψη α και κυρίως δ-κοκκίων)
- Λήψη ασπιρίνης

Υπό φυσιολογικές συνθήκες

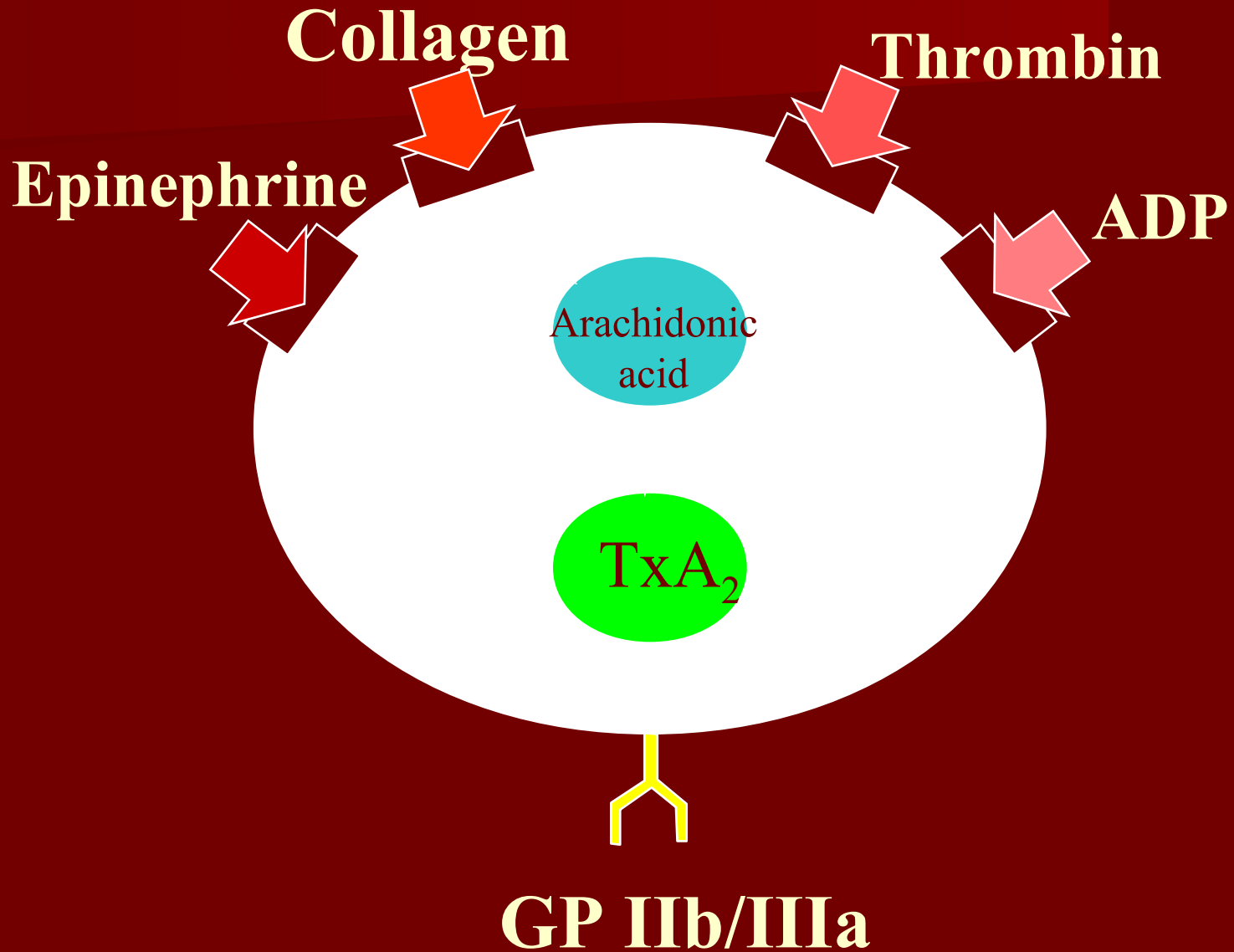
- Μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια λόγω
α) του αρνητικού φορτίου β) του
δισκοειδούς σχήματος
- Τά αιμοπετάλια στην μη ενεργό
κατάσταση λέγονται `resting`
`platelets`

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

- Αλλαγή του σχήματος
- Συσώρευση τους
- Έκκριση ουσιών

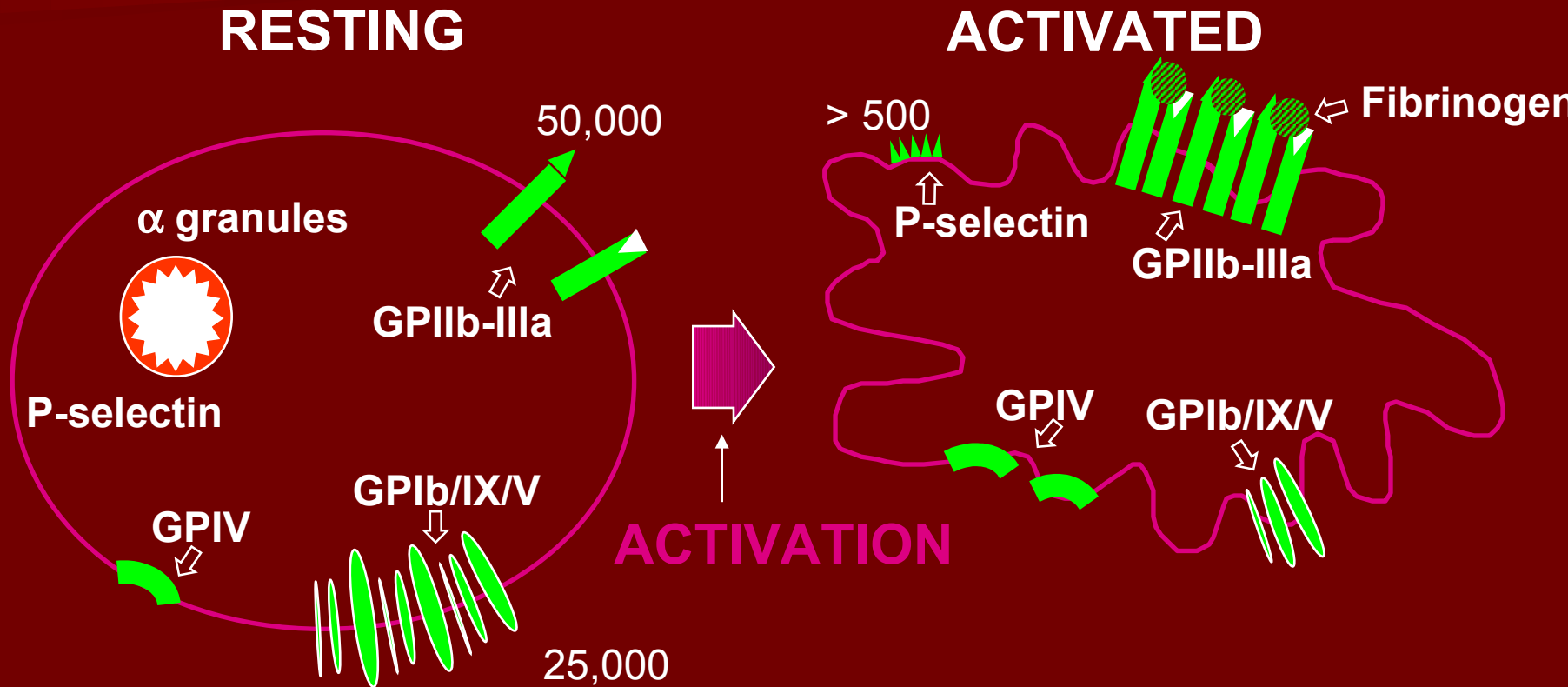


Platelet Activation Pathways

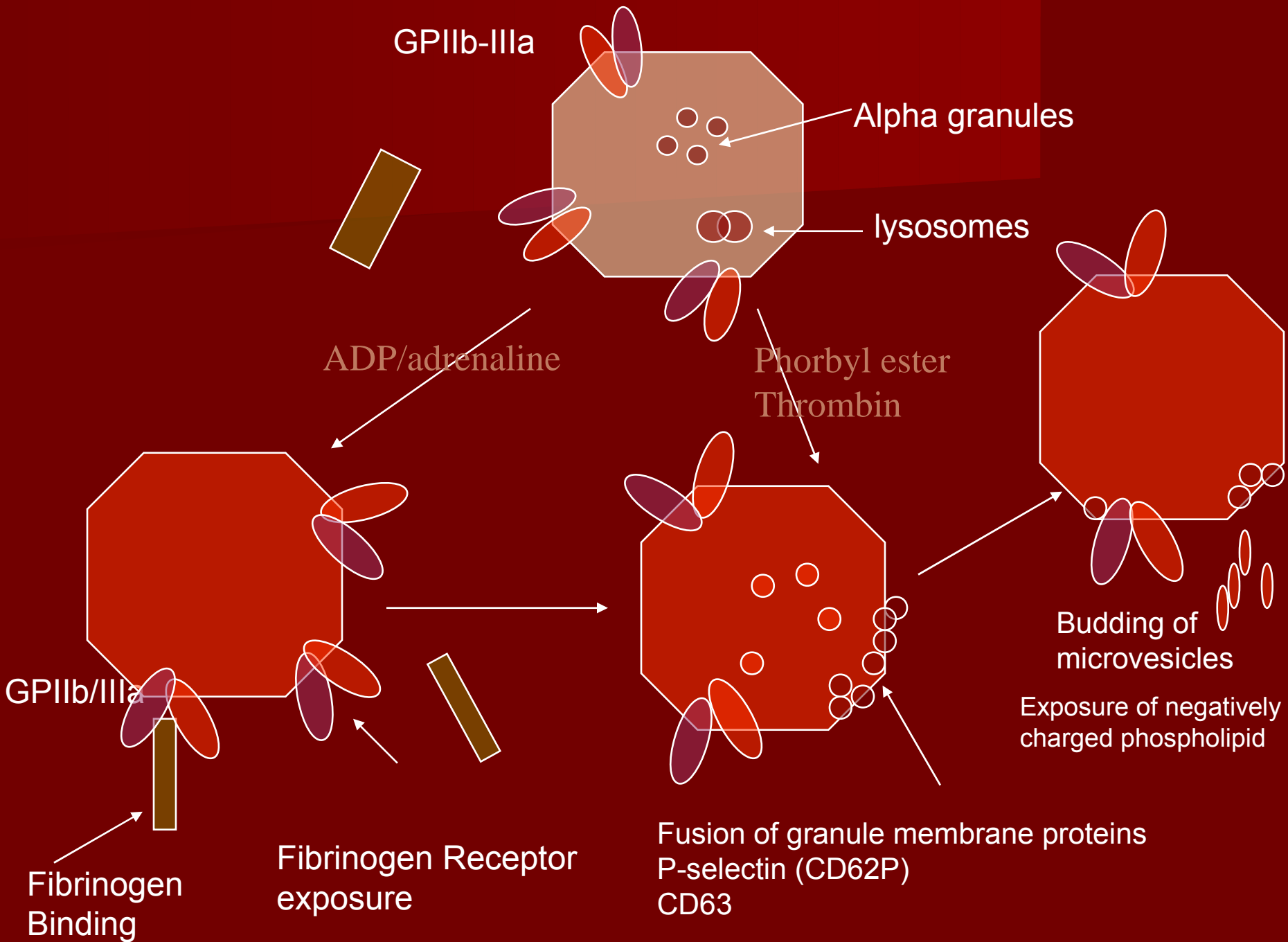


ASSESSMENT OF PLATELET FUNCTION

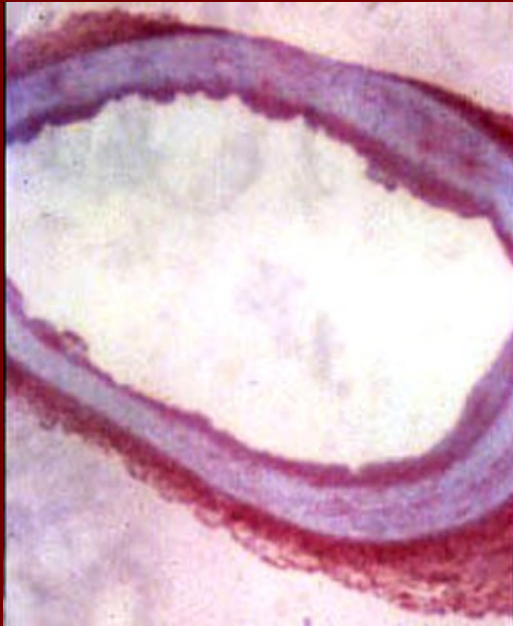
TRANSLOCATION OF PLATELET GLYCOPROTEINS AND P-SELECTIN DURING PLATELET ACTIVATION



- ACTIVATION :**
- GPIb IX V : internalized
 - GPIIbIIIa : 1) membrane expression increased
2) complex occupied by fibrinogen, v. Willebrand Factor ...
 - P-selectin : translocated to the membrane



Activating Factors for Platelets in Cardiovascular Disease



✦ **Disturbed blood flow -**

→ shear stresses, narrowing of arteries, turbulence



✦ **Others**

Low density lipoprotein or oxidised LDL

✦ **Bacteria - myocardial infarction?**

✦ **Immune Complexes - present in MI**

ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΡFA-100

- Ολικό αίμα σε citrate
- Cartridges επικαλυμμένα με κολλαγόνο/ερί
- Cartridges με κολλαγόνο/ADP
- Δίοδος του αίματος από τριχοειδικό άνοιγμα υπό σταθερή αρνητική πίεση
- Άντληση αίματος στη μεμβράνη που επικαλύπτεται με τους ενεργοποιητές
- Προσκόλληση των PLTs ,ενεργοποίηση τους, συσσώρευση και σχηματισμός αιμοπεταλιακής πλάκας
- Ό χρόνος που χρειάζεται για να αποφραχθεί το άνοιγμα λέγεται C L O S U R E T I M E

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΡFA-100

ΕΠΙΝΕΦΡ.

Φυσιολ.

παθολ.

Παθολ.

ADP

φυσιολ.

Φυσιολ.

Παθολ.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Φυσιολ.λειτουργία

Ασπιρίνη

Παθολ. Λειτουργία

v.βαλβ. Καρδιάς

Νεφρική νόσος

v.von

Willebrand

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ PFA-100

- Έχει υψηλή αρνητική προγνωστική αξία
- Δεν είναι ευαίσθητη σε όλα τὰ ελαττώματα αιμοπεταλιακής λειτουργίας
- Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα σε storage pool disease, πρωτοπαθή ελαττώματα έκκρισης, ήπιου τύπου Ι νόσος von Willebrand
- Περιστασιακά δίνει ψευδώς θετικά αποτελέσματα(επιβεβαίωση με επιπρόσθετες δοκιμασίες)
- Οριακά παθολογικές τιμές σε λήψη φαρμάκων και υπό ορισμένες διαιτητικές συνθήκες

ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ

■ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ

Προσδιορισμός του περιεχομένου κοκκίων

- ❖ **Α-κοκκίων**(β-θρομβογλοβουλίνη,PF4,ινωδογόνο)_RIA,ELISA
- ❖ **Πυκνών κοκκίων** ADP,ATP,ιόντων ασβεστίου,σεροτονίνης)_φθορισμός,HPLC,ραδιοσήμανση

Προσδιορισμός P-selectin

Προσδιορισμός παράγοντα von Willebrand

Προσδιορισμός TXA2 και μεταβολιτών της

- ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ
- ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ
- ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

- Έχει τὰ μεγαλύτερα πλεονεκτήματα στην εκτίμηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων
- Απαιτεί για την εκτέλεση της ένα ακριβό όργανο, το κυτταρόμετρο ροής
- Απαιτεί έμπειρο προσωπικό
- Έχει ένα ευρύ φάσμα κλινικά χρήσιμων εφαρμογών
- Έχει ένα ευρύ φάσμα ερευνητικών εφαρμογών
- Μελέτη κληρονομικών και επίκτητων διαταραχών των αιμοπεταλίων(υποδοχείς και εκκρινόμενες από τὰ αιμοπετάλια ουσίες)
- Μελέτη αλλαγών της διαμόρφωσης των αιμοπεταλιακών γλυκοπρωτεϊνών

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

- Επιτρέπει μεγαλύτερη αναλυτική ευαισθησία
- Χρησιμοποιεί σαν πηγή φωτός laser
- Δίνει πληροφορίες για το μέγεθος και την εσωτερική δομή (forward scatter και side scatter)
- Πληροφορίες για δείκτες με φθορίζοντες ανιχνευτές (φυκοερυθρίνη-ερυθρός φθορισμός και φλουορεσεΐνη-πράσινος φθορισμός)

ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

■ Πρίν την ενεργοποίηση

CD41 (GPIIb/IIIa)

CD42a (GPIX)

CD42b (GPIb)

και CD61 (α_vβ₃, υποδοχέας βιτρονεκτίνης)

■ Μετά την ενεργοποίηση

PAC-1 (ενεργοποιημένος IIb/IIIa)

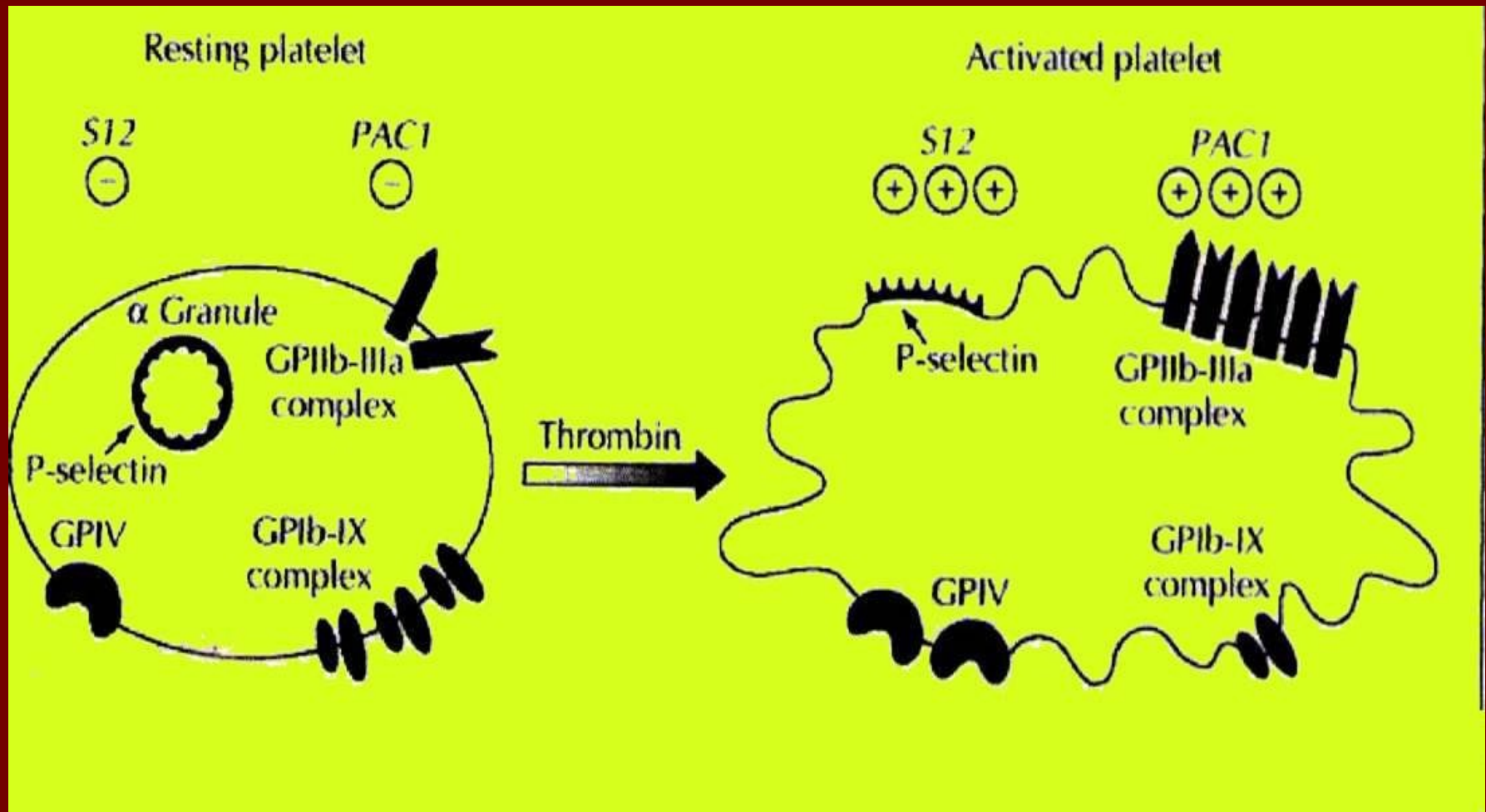
CD62P (P-selectin)

CD31 (PECAM)

καί CD63

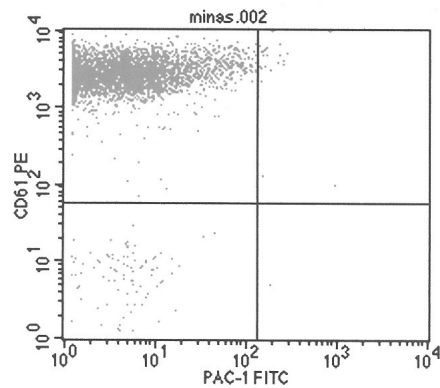
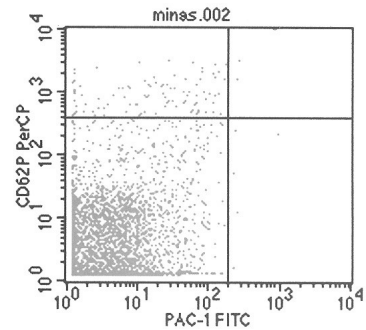
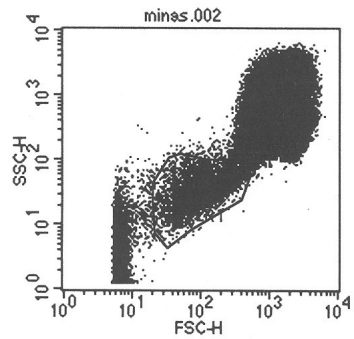
Binding of monoclonal antibodies to resting platelets & the relative change in binding after activation

(Modified from Kestin et al. 1993)



ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΟ

- Προπηκτική δραστηριότητα (έκθεση σε ανιονικά φωσφολιπίδια)
- Μέτρηση ενεργοποίησης αιμοπεταλίων *in vitro* σε απάντηση σε κλασσικούς αγωνιστές
- Προσδιορισμός ποικιλίας διαφορετικών δεικτών ενεργοποίησης. Τα αιμοπεταλιακά αντιγόνα υφίστανται τροποποιήσεις εξαρτώμενες από ενεργοποίηση.
- Προσδιορισμός νεοεκφραζόμενων γλυκοπρωτεϊνών των α-κοκκίων όπως CD62P και CD63
- Προσδιορισμός ακόμη και της έκτασης της έκκρισης
- Προσδιορισμός microparticles από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια



File: minas.002

X Parameter: FL1-H PAC-1 FITC (Log)

Quad % Gated

UL 1.96

UR 0.08

LL 97.86

LR 0.10

File: minas.002

Acquisition Date: 04-Oct-06

X Parameter: FL1-H PAC-1 FITC (Log)

Y Parameter: FL2-H CD61 PE (Log)

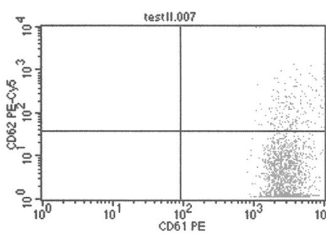
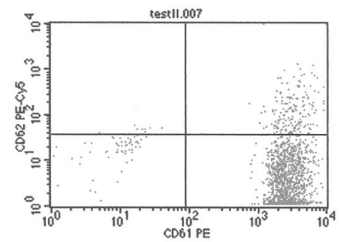
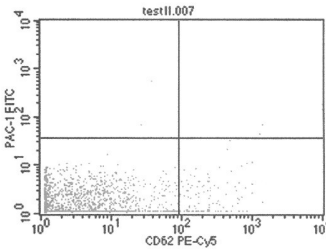
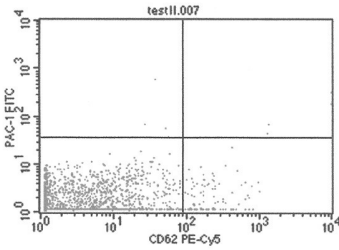
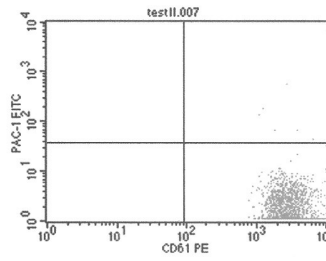
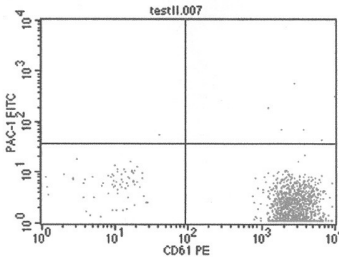
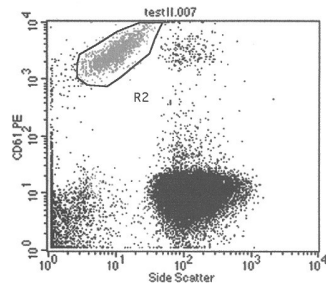
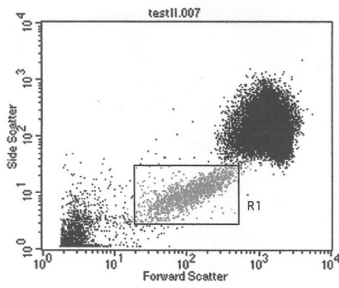
Quad % Gated

UL 97.80

UR 0.46

LL 1.72

LR 0.02



INNOKPATEIO

12-7-06

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΩΝ PLTs ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

- Διάγνωση αιμοπεταλιακών διαταραχών (Θρομβασθένεια Glanzman, σύνδρομο Bernard Soulier, Νόσος Storage pool, HIT, σύνδρομο Scott)
- Ποσοτικοποίηση αιμοπεταλιακών γλυκοπρωτεϊνών
- Επίδραση πολυμορφισμών γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων

ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ

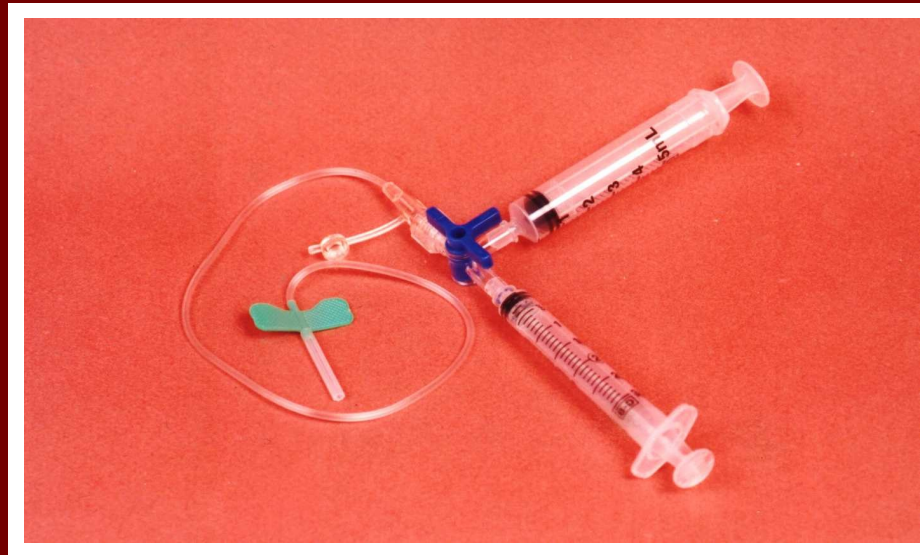
- IgG συνδεδεμένα με αιμοπετάλια (άνοση θρομβοκυτταροπενία - προσδιορισμός αλλοαντισωμάτων)
- Παρακολούθηση ασθενών με ΙΤΡ υπό θεραπεία

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΑΣ

- Έλεγχος παραγωγής αιμοπεταλίων (αιμοπετάλια με δίκτυο – reticulated platelets)
- Ακριβής αρίθμηση αιμοπεταλιών – Νέα μέθοδος αναφοράς –PLT/RBC λόγος

Methodological development

- **Blood drawing** (Shattil SJ. 1987)
 - Standardized technique
 - Venepuncture done by 20-gauge butterfly needle in anticubital vein
 - No tourniquet used (Ritchie JL. 2000)
 - 2mls sample were used for activation analysis while initial 8mls were used for other laboratory parameters.





Copyright © 2004, Tock Chon Chat

<http://www.neystadt.org/john/album/>



ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ!

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

- 9,5 ημέρες
- Καταστάσεις που μειώνουν το χρόνο ζωής(σπληνομεγαλία,σήψη,φάρμακα,DIC,αλλοαντισώματα,ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων,ενεργοποίηση αιμοπεταλίων)

ΑΛΛΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

- λ-κοκκία (περιέχουν λυσοσωματικά ένζυμα)
- Μιτοχόνδρια και θρομβοξάνη (TXA2)

PF4

- Προάγει την συσσώρευση των PLTs
- Συνδέεται με ηπαρίνη(αντιηπαρίνη)
- Κυτταροκίνη → ανασταλτική δράση στη μεγακαρυοκυτταρική και ερυθρά σειρά-ιδιοπαθής θρομβοκυτταραιμία

β-TG (β-θρομβογλοβουλίνη)

- Συνδέεται με ηπαρίνη
- Και με ινοβλάστες(επιδιόρθωση ενδοθηλίου)
- **Τά επίπεδα τόσο του PF4 ,όσο και της β-TG αποτελούν δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Προσδιορισμός με RIA και ELISA. Παρακολούθηση ασθενών με έμφραγμα, φλεβική θρόμβωση κ.ά**

P-σελεκτίνη

- Α-κοκκία PLTs
- Στα μεγακαρυοκύτταρα
- Και στα ενδοθηλιακά κύτταρα
- Διεκολύνει αντιδράσεις PLTs – PMNs
- Διεκολύνει αντιδράσεις PLTs –ενδοθηλίου
- Και συμμετοχή στη συνεργασία PLTs – PMNs σε φλεγμονές ,θρομβώσεις
- Δείκτης **ενεργοποίησης** PLTs

ΠΡΟΣΚΟΛΗΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

- vWF
- κολλαγόνο
- F β (για προσκόλληση στο ενδοθήλιο)
- Ινωδογόνο
- Ca $^{++}$
- Υπάρχουν διαφορετικοί υποδοχείς για τη σύνδεση τους

ΜΟΡΙΑ ΣΥΝΔΕΣΗΣ(ligands)

Είναι προσκολλητικές ουσίες ,σάν **γ έ φ υ ρ ε ς** μεταξύ κυτταρικών επιφανειών και υποδοχέων για προσκολλητικές ουσίες

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ vWF

- ❖ Νόσος von Willebrand
- ❖ Αυξημένα επίπεδα παράγοντα von Willebrand παρατηρούνται σέ
 - νοσήματα του συνδετικού ιστού
 - καρκίνο
 - αθηροσκλήρυνση
 - μετά χορήγηση δεσμοπρεσσίνης

Η ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΡFA-100 ΜΗ ΕΥΑΙΣΘΗΤΗ

- Σε ελαττώματα της πήξης π.χ
Αιμορροφιλία Α και Β (σε μεγάλο βαθμό)
- Σε ελαττώματα παραγόντων V, VII, XI και
XII (σε μεγάλο βαθμό)

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

- Ασπιρίνη
- Κλοπιδογρέλη
- Ανταγωνιστές
GpIIb/IIIa

ΆΛΛΕΣ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ PLTs ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ

- Ποσοτικοποίηση πυκνότητας
Gυποδοχέα(ελαττώματα αιμοπεταλιακών
υποδοχέων, επίδραση πολυμορφισμών
υποδοχέων, CD62p, CD63, CD40L,
διαμόρφωση (conformation) του
GpIIb/IIIa, έκθεση φωσφολιπιδίου(PS)

Good Luck!!!!!!

ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ

- Κολλαγόνο GPVI $\alpha_2\beta_1$ υπό ανάπτυξη
- vWf GPIIb-IX-V -
- TxA₂ TP_a TP_b ασπιρίνη
- ADP P2Y₁₂ P2Y₁ κλοπιδογρέλη
- Ινωδογόνο $\alpha_{IIb}\beta_3$ abciximab , κλπ
- Θρομβίνη PAR-1 PAR-4 ηπαρίνη,
ιρουδίνη
κλπ