

Małgorzata Gałka

Received: 19.05.2006

Accepted: 05.06.2006

Published: 30.09.2006

## Rola markerów aktywacji płytek krwi u pacjentów po udarze mózgu

The role of platelet activation markers in patient with ischemic stroke

Klinika Neurologii i Epileptologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny Nr 2 im. WAM

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Andrzej Klimek

Adres do korespondencji: Klinika Neurologii i Epileptologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny Nr 2 im. WAM, ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź, tel.: 042 639 35 91

Praca finansowana ze środków własnych

### Streszczenie

Aktywacja płytek krwi odgrywa istotną rolę w chorobach pochodzenia zakrzepowo-zatorowego. Podczas aktywacji dochodzi na płytkach do ekspresji różnych glikoprotein powierzchniowych. Należy do nich m.in. P-seklytyna, jeden z ważniejszych markerów aktywacji płytek. Jest to przezbłonowe białko  $\alpha$ -ziarnistości, które w następstwie aktywacji ulega przemieszczeniu na powierzchnię płytek. P-seklytyna pośredniczy w interakcji pomiędzy płytkami i leukocytami poprzez specyficzny ligand dla P-seklytyny na leukocytach (PSGL-1). Konsekwencją tej reakcji jest tworzenie kompleksów leukocytarno-płytkowych oraz uwalnianie cytokin i chemokin, co prowadzi do nasilenia procesów zapalnych. Glikoproteina GP53 (CD63) jest obecna w błonach lizosomalnych i ulega również przemieszczeniu na powierzchnię błony plazmatycznej podczas aktywacji płytek. Nadmierna aktywność płytek krwi jest obserwowana u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu. Różne badania wykazały, że płytki krwi wykazują nadmierną aktywację zarówno w ostrej, jak i przewlekłej fazie udaru. Dlatego też odnalezienie testu monitorującego funkcję płytek może okazać się pierwszym krokiem w kierunku identyfikacji pacjentów, którzy mogą osiągnąć korzyści z zastosowania terapii antypłytkowej.

**SŁOWA KLUCZOWE:** aktywacja płytek, P-seklytyna, glikoproteina 53, kompleksy płytkowo-leukocytarne, udar niedokrwienny mózgu

### Summary

Platelet activation plays an important role in atherothrombotic disease. Several glycoproteins are expressed on the platelet surface during platelet activation. One of them is P-selectin (CD62P), the more important platelet activation marker. P-selectin is transmembrane protein of the  $\alpha$ -granules, which is translocated to the cell surface following activation. The interaction between platelet P-selectin and the specific ligand for P-selectin on leukocytes, P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1), resulting in the formation of platelet-leukocyte complexes, and secretion cytokines and chemokines leading to aggravate the inflammatory processes. Glycoprotein 53 (CD63) which is present in lysosomal membranes also translocates to the plasma membrane during platelet activation. Platelet hyperactivation has been reported in patients with ischemic stroke. Several studies have suggested that platelets are excessively activated in the acute and chronic phases after cerebral ischemia. Therefore, finding platelet function test, could be the first step toward identifying patients who would benefit from antiplatelet treatment.

**KEY WORDS:** platelet activation, P-selectin, glycoprotein 53, platelet-leukocyte complexes, ischemic stroke

Udar mózgu jest jedną z głównych przyczyn umieralności na świecie. Szacuje się, że jest to trzecia, a w niektórych krajach nawet druga co do częstości, przyczyna zgonów<sup>(1)</sup>. Czynniki ryzyka, takie jak źle kontrolowane nadciśnienie i cukrzyca, dieta bogatotłuszczowa oraz nikotynizm czy alkoholizm, przyczyniają się nie tylko do zwiększonej zapadalności na udary mózgu, lecz wpływają także na przebieg udaru i jego ciężkość<sup>(2)</sup>. Dane statystyczne podają, że ryzyko ponownego udaru niedokrwiennego mózgu, w ciągu pierwszego roku od udaru, sięga 6-12%, natomiast w okresie 5 lat zwiększa się do 40-50%. Ponadto w ciągu 2 lat 15% chorych doznaje zawału serca i 15% umiera z przyczyn naczyniowych<sup>(3)</sup>.

## PŁYTKI KRWI

Wiadomo, że jednym z czynników predysponujących do wystąpienia incydentów naczyniowych jest zwiększona aktywność płytek<sup>(4,5)</sup>. Badania na zwierzętach potwierdziły, że niewielkie uszkodzenie śródbłonna tętnicy szyjnej wspólnej powoduje wielowarstwową adhezję i agregację płytek krwi<sup>(6)</sup>.

Aktywowane płytki krwi uwalniają z ziarnistości wewnątrzpłytkowych wiele czynników wazoaktywnych i prozakrzepowych.. Reakcja uwalniania związana jest m.in. z pojawieniem się na powierzchni płytki molekuly GMP-140 (*granule membrane protein*), CD62P, inaczej PADGEM (*platelet activation-dependent granule-external membrane protein*), czyli P-selektyna. Stanowi ona składnik błony ziarnistości  $\alpha$  płytek krwi. Po aktywacji płytek dochodzi do uwalniania zawartości magazynowanych wewnątrz  $\alpha$ -ziarnistości i fuzji ziarnistości z błoną powierzchniową krwinki<sup>(7)</sup>. Obecność P-selektyny na powierzchni płytek uznano za typowy marker ich aktywacji i wystąpienia reakcji uwalniania. Selektyna P pełni również funkcję receptora dla cząsteczki Sialyl Lewis X obecnej na powierzchni fagocytów<sup>(8)</sup>. Adhezja płytek do leukocytów powoduje tworzenie tzw. rozetek leukocyty/płytki, czyli zjawisko „satelityzmu” leukocytów przez płytki<sup>(9)</sup>. Zjawisko to może decydować o poważnych konsekwencjach toksycznego działania w stosunku do otaczających tkanek. Może ułatwiać rozwój zjawiska „transkomórkowego” metabolizmu niektórych substancji o silnym działaniu toksycznym. Przykładem takiego działania jest przetwarzanie w płytkach syntetyzowanego pierwotnie w leukocytach, leukotrienu A do leukotrienu C, będącego jednym z najsilniejszych endogennych jonoforów  $Ca^{2+}$ . Tworzone również we współpracy tych komórek lipoksyny, czy znaczne ilości PAF, mogą potęgować chemotaksję, aktywować płytki i komórki fagocytarne oraz wtórnie nasilać niszczenie zdrowych tkanek<sup>(10)</sup>. Istotnym markerem aktywacji płytek krwi jest również glikoproteina 53 (CD63). Jest to molekula stanowiąca składnik błon lizosomalnych krwinek płytkowych i obecna jest jedynie na powierzchni płytek aktywowanych. Mechanizmy krzepnięcia są ściśle powiązane z hemo-

stazą płytkową. Płytki krwi dostarczają fosfolipidów (fosfatydyloseryna, fosfatydyloetanolamina), na których zachodzi aktywacja krzepnięcia w układzie wewnątrz-pochodnym. W fazie spoczynkowej fosfolipidy te nie są dostępne dla czynników krzepnięcia, gdyż zlokalizowane są w wewnętrznej warstwie błony komórkowej płytki. Pod wpływem czynników aktywujących (trombina, kolagen) zachodzą zmiany, które powodują odsłonięcie tych fosfolipidów. Powierzchnia aktywowanych płytek przyspiesza kaskadę krzepnięcia zachodzącą przy udziale jonów wapnia i osoczowych czynników krzepnięcia, prowadząc do przejścia fibrynogenu w przestrzenną sieć fibryny<sup>(11)</sup>. Istotne znaczenie w procesach krzepnięcia przypisuje się również tworzeniu tzw. mikrocząsteczek płytkowych, nazywanych także mikroplytkami. Są one fragmentami aktywowanych płytek krwi lub ich błon komórkowych. Fragmenty te, posiadając antygen CD61 i CD41, są zdolne do tworzenia sprawnego receptora dla fibrynogenu GP IIb/IIIa i glikoproteiny wiążącej czynnik von Willebranda (vWF) GP Ib. Obecność tych receptorów oraz stwierdzenie na powierzchni mikroplytek zagęszczenia fosfolipidów o działaniu prokoagulacyjnym, potwierdzają istotną rolę mikroplytek w hemostazie. Mogą one wiązać zarówno unieruchomiony, jak i rozpuszczony fibrynogen i wspólnie z płytkami ulegać agregacji<sup>(12,13)</sup>. Obecnie najlepszą metodą oceny stopnia aktywacji płytek w krążeniu *in vivo* oraz ich reaktywności w warunkach *in vitro* jest cytometria przepływowa. Jest to w pełni ilościowa, obiektywna i powtarzalna technika badawcza. Jedną z jej głównych zalet jest możliwość prowadzenia badań we krwi pełnej, bez konieczności izolowania płytek. Ponadto badania mogą być przeprowadzone przy użyciu minimalnej objętości krwi (około 2 ml). Poza możliwością oceny stopnia ekspresji markerów aktywacji i reakcji uwalniania płytek, cytometria przepływowa umożliwia określenie frakcji agregatów płytkowych, z różnicowaniem na agregaty płytkowo-płytkowe, płytkowo-leukocytarne oraz ocenę płytek zużytych czyli tzw. mikroplytek<sup>(14)</sup>.

## MARKERY AKTYWACJI PŁYTEK KRWI

### W UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU

P-selektyna jest przezbłonową proteiną obecną w  $\alpha$ -ziarnistościach płytek i ciałach Weibla-Palade'a komórek endotelium. Następująca aktywacja powoduje ich gwałtowne przemieszczenia na powierzchnię komórki. Wykazano, że ekspresja P-selektyn na płytkach jest podwyższona w chorobach związanych z zakrzepami tętniczymi, takimi jak choroba naczyń wieńcowych, ostry zawał mięśnia sercowego, udar mózgu i choroby tętnic obwodowych. P-selektyna pośredniczy w reakcji rolowania płytek i leukocytów na zaktywowanym śródbłonku naczyń, jak również w interakcji płytek z leukocytami. Płytkowa P-selektyna wchodzi w interakcje z PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein ligand*) na leukocytach tworząc agregaty płyt-

kowo-leukocytarne. Interakcja ta indukuje uwalnianie czynników tkankowych, wielu cytokin zawartych w leukocytach oraz produkcję działających prozakrzepowo mikroplatek, przez to przyczynia się do wytworzenia stanu sprzyjającego zakrzepom. P-selektyna zaangażowana jest także w agregację płytek, która jest jednym z głównych czynników zakrzepicy w tętnicach. P-selektyny, oddziałując z sulfatydami płytkowymi, tworzą agregaty płytkowe formowane przez mosty GPIIb/IIIa – fibrynogenowe. Zahamowanie interakcji pomiędzy P-selektyną i sulfatydami prowadzi do odwrócenia płytkowej agregacji. Dlatego P-selektyny odgrywają znaczącą rolę w płytkowej agregacji i interakcjach płytkowo-leukocytarnych, dwóch ważnych mechanizmach w rozwoju zakrzepów tętnicznych<sup>(15)</sup>. W tworzenie agregatów leukocytarno-płytkowych zaangażowane są szczególnie monocyty. Sugeruje się, że ocena agregatów monocytarno-płytkowych jest czulszym testem aktywacji płytek niż ekspresja powierzchniowa P-selektyny, ze względu na to, że degranulacja powoduje gwałtowną utratę P-selektyny przez płytki. Istotne znaczenie przypisuje się tworzeniu i odczepianiu od płytek tzw. mikrocząstek płytkowych (mikropłytek). Fragmenty te posiadają antygeny, CD61 i CD41, zdolne do tworzenia funkcjonalnie sprawnego receptora dla fibryngenu GPIIb/IIIa. Obecność receptora dla fibrynogeny, glikoproteiny Ib, tworzącej receptor dla czynnika von Willebranda (vWF) oraz stwierdzane na ich powierzchni zagęszczenie prokoagulacyjnych fosfolipidów, potwierdzają istotną rolę mikroplatek w hemostazie. Niedawno pojawiły się doniesienia o wzroście ekspresji P-selektyny (CD62P) w ostrej<sup>(16,17)</sup>, podostrej<sup>(18)</sup> i przewlekłej fazie po udarze niedokrwiennym<sup>(19)</sup>. Część prowadzonych badań wykazała, że liczba zaktywowanych płytek krwi ulega istotnemu wzrostowi w ostrej fazie udaru, a następnie wraca do wartości wyjściowych. Natomiast inne doniesienia sugerują, że również w przewlekłej fazie udaru utrzymuje się zwiększona aktywność płytek. Rozbieżność pomiędzy wynikami może wynikać z różnic w liczebności badanych grup oraz z różnic w metodologii badań cytometrią przepływową. Niemniej, hamowanie płytkowej agregacji uważane jest za jedną z ważniejszych strategii postępowania we wtórnej prewencji udarów niedokrwiennych mózgu, a korzyści z terapii antyagregacyjnej potwierdziły również kliniczne obserwacje<sup>(20)</sup>. Badania, prowadzone przez Yip i wsp. w grupie pacjentów po udarze niedokrwiennym mózgu, wykazały, że w ostrej fazie udaru dochodzi do znaczącego wzrostu ekspresji CD62P. Natomiast już po 21 dniach następuje jej znaczne obniżenie, by w ciągu pierwszych 3 miesięcy wróciła ona do normalnego poziomu<sup>(21)</sup>. Wyniki te są potwierdzeniem prowadzonych wcześniej badań przez Marquardta i wsp.<sup>(22)</sup> Wykazały one bowiem istotny wzrost ekspresji CD62P i CD63 już pierwszego dnia po udarze, a następnie gwałtowny spadek CD62P. Natomiast znacząco podwyższony poziom ekspresji CD63 utrzymywał się do 90 dnia po incydencie niedokrwiennym<sup>(22)</sup>.

Gwałtowny spadek ekspresji P-selektyny może wynikać z jej szybkiego uwalniania z powierzchni komórki do osocza. Mimo to jej ekspresja może być pożytecznym biologicznym markerem dla klinicznej oceny przebiegu aktywacji płytek u pacjentów po udarze niedokrwiennym mózgu. Natomiast utrzymujący się podwyższony poziom CD63 może okazać się dobrym markerem dla badań nad czynnikami ryzyka ponownego udaru. Badania Yip i wsp. sugerują ponadto, że pacjenci z podwyższoną aktywnością płytek krwi, powinni być monitorowani w celu oceny krótko- i długoterminowego ryzyka wystąpienia ponownych incydentów naczyniowych. Również badania oceniające stężenie rozpuszczalnej formy P-selektyny oraz mikroplatek wykazały, że w okresie 7 dni od początku udaru ulegają one istotnemu wzrostowi. Natomiast w okresie 3-6 miesięcy stężenie rozpuszczalnej formy P-selektyny znacząco spada, zaś stężenie mikroplatek pozostaje podwyższone. To utrwalone podwyższenie stężenia mikroplatek może także być markerem zwiększonego ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu<sup>(23)</sup>. Sugeruje się, że tworzenie mikroplatek nie jest związane z reakcją uwalniania i dlatego ich pojawienie się traktowane jest jako niezależny, wczesny marker aktywacji płytek krwi. Z kolei badania prowadzone przez Cha i wsp.<sup>(24)</sup> wykazały, że zwiększona aktywność płytek krwi w udarze niedokrwiennym mózgu wywołanym zmianami miażdżycowymi utrzymuje się przez co najmniej 3 miesiące po incydencie naczyniowym. Wcześniejsze doniesienia tego autora wykazały ponadto brak różnic w poziomie P-selektyny i CD63 pomiędzy grupą pacjentów z udarem niedokrwiennym na tle miażdżycy oraz grupą z bezobjawową stenozą (>50%) tętnic szyjnych<sup>(25)</sup>. Sugeruje to, że wzrost ekspresji glikoprotein powierzchniowych wywołany jest raczej przez stan trwającego uszkodzenia naczynia niż incydent niedokrwienny. Ten znaczący wzrost płytkowej aktywacji w miażdżycy dużych naczyń może wynikać – po pierwsze stąd, że bogatopłytkowa skrzeplina znajdująca się głównie w blaszkach miażdżycowych dużych naczyń. A po drugie – proces zapalny uważany za główną przyczynę miażdżycy tych naczyń; może również aktywować płytki krwi. Badania Marquardta stwierdzające spadek ekspresji P-selektyny w fazie przewlekłej, prowadzone były w udarach niedokrwiennych mózgu, bez uwzględnienia ich podtypów. Obecnie wstępne badania wykazały, że ekspresja płytkowej P-selektyny i CD63 w udarach sercowo-zatorowych i lakunarnych gwałtownie spada już po 72 godzinie od incydentu niedokrwiennego<sup>(24)</sup>. Również badania prowadzone przez McCabe i wsp. wykazały nadmierną płytkową aktywację w ostrej (<4 tyg.) i przewlekłej fazie (>3 miesięcy) po udarze niedokrwiennym mózgu<sup>(20)</sup>. Zarówno grupa pacjentów w fazie ostrej jak i przewlekłej miała podniesiony poziom krążących kompleksów monocytarno-płytkowych i ponadto istniała pozytywna korelacja pomiędzy ekspresją CD62P i poziomem kompleksów monocytarno-płytkowych. Wyniki

tych badań są zgodne z ostatnimi doniesieniami o wzroście kompleksów monocytarno-płytkowych, ale nie neutrofilowo-płytkowych, w ostrej (30 godz.) i przewlekłej fazie (>3 miesięcy) po udarze niedokrwiennym mózgu<sup>(26)</sup>. Nie jest jasne, czy wyższy poziom CD62P i kompleksów monocytarno-płytkowych związany jest z wcześniejszym wzrostem aktywacji płytek u pacjentów z chorobami mózgowo-naczyniowymi, czy też zmiany te nastąpiły jako skutek wtórnej odpowiedzi na ogniskowe niedokrwienie. Również nadmierna aktywacja leukocytów może przyczynić się do wzrostu odsetka kompleksów leukocytarno-płytkowych w tej grupie pacjentów. Jednakże utrzymujący się podwyższony poziom CD62P i kompleksów monocytarno-płytkowych w fazie przewlekłej i pozytywna korelacja pomiędzy odsetkiem CD62P i odsetkiem kompleksów monocytarno-płytkowych mogą wskazywać na istniejący stały bodziec dla płytkowej aktywacji co najmniej 3 miesiące po wystąpieniu objawów.

Powierzchniowa P-selektyna uważana jest za „złoty standard” w ocenie aktywacji płytek krwi. W badaniach prowadzonych na zwierzętach (na pawianach) zaobserwowano, że zaktywowane płytki krwi wykazują *in vitro* szybką agregację z leukocytami, a *in vivo* gwałtowną utratę powierzchniowej P-selektyny. Po infuzji zaktywowanych płytek bardzo gwałtownie dochodziło do tworzenia agregatów z monocytami i neutrofilami. Po 30 minutach odsetek krążących kompleksów monocytarno-płytkowych utrzymywał się na wysokim poziomie, natomiast odsetek krążących agregatów neutrofilowo-płytkowych i powierzchniowej P-selektyny niezagregowanych płytek powrócił do wartości wyjściowej. Również badania przeprowadzone u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym wykazały większą czułość krążących agregatów monocytarno-płytkowych jako markera aktywacji płytek *in vivo*, niż powierzchniowa P-selektyna płytek<sup>(27)</sup>.

Leukocyty i płytki mogą mieć aktywujący lub hamujący wpływ na siebie nawzajem, a tworzenie kompleksów leukocytarno-płytkowych przy udziale CD62P prawdopodobnie ułatwia oddziaływanie pomiędzy tymi dwoma rodzajami komórek<sup>(28)</sup>. Może to prowadzić zarówno do aktywacji płytek i leukocytów, jak również potencjalnie zaostrzać zapalno-niedokrwienną kaskadę w obszarze niedokrwiennej penumbry lub strefy niedokrwienia, pogarszając rokowanie. Monocyty w kompleksach z płytkami wykazują zwiększoną adhezję do zaktywowanego endotelium. Wiązanie płytek z monocytami powoduje wzrost adhezji monocytów do ICAM-1, VCAM-1 i fibronektyny oraz odpowiedzialne jest za wzrost migracji monocytów do śródbłonka naczyniowego. Tak więc, monocyty w kompleksach monocytarno-płytkowych znajdują się w podwyższonym stanie aktywacji i mogą przez to nasilać rozwój miażdżycy<sup>(29)</sup>. Płytki dostarczają ponadto cholesterol do monocytów, które z kolei rozwijają się w makrofagi obciążone lipidami<sup>(30)</sup>. Wykazano również, że płytkowa CD62P indukuje ekspresję czynników tkankowych na monocytach, co z kolei może prowadzić do

aktywacji kaskady krzepnięcia i zwiększać ryzyko powikłań zatorowo-zakrzepowych.

Obecne wyniki badań, mówiące że płytki krwi uczestniczą w rozwoju miażdżycy jako choroby zapalnej, pozwalają postawić nam pytanie, czy aktywują one również normalny zdrowy śródbłonek. Dożylne wprowadzenie zaktywowanych płytek do młodych myszy prowadziło do tworzenia przejściowych agregatów płytkowo-leukocytarnych i powodowało ogólnoustrojowy wzrost zjawiska rolowania leukocytów po śródbłonku 2-4 godzin po infuzji. Reakcja ta powracała do poziomu wyjściowego po 7 godzinach. Wprowadzenie zaktywowanych płytek pozbawionych P-selektyny nie indukowało rolowania leukocytów, wskazując, że płytkowe P-selektyny zaangażowane były w aktywację endotelium. Oddziaływanie leukocytów ze śródbłonkiem następowało jedynie poprzez interakcję śródbłonkowej P-selektyny i leukocytarnej glikoproteiny PSGL-1. Śródbłonkowa P-selektyna jest magazynowana z czynnikiem von Willebranda (vWF) w ciałach Weibel-Palade'a. Reakcja uwalniania z ciał Weibel-Palade'a podczas infuzji zaktywowanych płytek była wykazana zarówno poprzez wzrost poziomu vWF w osoczu, jak i wzrost barwienia *in vivo* śródbłonkowej P-selektyny. Sądzić można, że obecność zaktywowanych płytek w krążeniu sprzyja ostremu zapaleniu poprzez aktywację sekrecji z ciał Weibel-Palade'a oraz poprzez pośredniczenie P-selektyn w zjawisku rolowania leukocytów<sup>(31)</sup>.

W ostrej jak i przewlekłej fazie po udarze niedokrwiennym obserwowano także wzrost poziomu vWF. Jest to kolejny dowód na istnienie stałego bodźca dla aktywacji płytkowo-śródbłonkowej w niedokrwiennych incydentach mózgowych<sup>(32)</sup>. Jest to szczególnie interesujące, ponieważ wzrost poziomu vWF zwiększa jednocześnie adhezję płytek do trombogenicznej powierzchni, a przy zwiększonym tworzeniu kompleksów monocytarno-płytkowych może to ułatwiać śródbłonkową migrację monocytów przyłączonych do płytek, z zaostrzeniem zapalenia i kaskady niedokrwiennej.

Wyniki nadmiernej aktywacji płytkowo-śródbłonkowej i wzrost tworzenia kompleksów monocytarno-płytkowych w ostrej i przewlekłej fazie po udarze niedokrwiennym może częściowo tłumaczyć, dlaczego pacjenci ci mają umiarkowanie wysokie ryzyko nawrotów incydentów naczyniowych pomimo leczenia terapią antypłytkową<sup>(20,33)</sup>.

## PODSUMOWANIE

Oprócz roli, jaką odgrywają płytki w procesie hemostazy i tworzeniu zakrzepów, są one również w dużym stopniu zaangażowane w rozwój miażdżycy. Płytki reprezentują ważne ogniwo pomiędzy zapaleniem i procesem miażdżycowym. Współdziałając z komórkami zapalnymi, takimi jak leukocyty i komórki śródbłonka, indukują procesy zapalne w ścianie tętnicy, powodując rozwój uszkodzenia miażdżycowego i jego progresję. Rola jaką odgrywa płytkowa P-selektyna w mechanizmach rozwoju zakrze-

pów tętniczych jest niezaprzeczalna. Dzieje się to głównie poprzez zwiększoną agregację płytek, jak również interakcje płytek z leukocytami indukującymi uwalnianie czynników tkankowych, cytokin oraz działających prozakrzepowo mikroplatełek. Do niedawna za „złoty standard” w ocenie aktywacji płytek krwi uważana była powierzchniowa P-selektyna. Liczne badania potwierdziły wzrost jej ekspresji w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu, jednakże istnieją sprzeczne doniesienia o zachowaniu się jej w fazie przewlekłej udaru. Dlatego coraz większe nadzieje w ocenie aktywacji płytek wiąże się z agregatami monocytarno-płytkowymi. Sugeruje się, że ocena agregatów monocytarno-płytkowych jest czulszym testem aktywacji płytek niż ekspresja powierzchniowa P-selektyny – ze względu na gwałtowną utratę P-selektyny przez płytki podczas degranulacji. Należy zwrócić również uwagę na ocenę zachowania się mikroplatełek, w ostrej i przewlekłej fazie udaru niedokrwienego mózgu. Mogą one bowiem okazać się skutecznym markerem aktywacji płytek krwi. Wyniki prowadzonych dotychczas badań nie dają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy zwiększona aktywacja płytek jest zjawiskiem pierwotnym, czy wtórnym do wystąpienia incydentów niedokrwienych mózgu. Jednakże nie ma wątpliwości co do istotnej roli, jaką odgrywają one w etiopatologii udaru niedokrwienego mózgu. Badania nad coraz to nowszymi markerami aktywacji płytek pozwalają na coraz dokładniejszą analizę ich czynności oraz interakcji międzykomórkowych. Jednocześnie dają perspektywy na wdrożenie skutecznej terapii zapobiegającej powtórnym incydentom niedokrwinnym.

#### PIŚMIENNICTWO:

1. European Stroke Initiative: European Stroke Initiative recommendation for stroke management. *Cerebrovasc. Dis.* 2000; 10: 335-351.
2. Wolfe C.D.A., Giroud M., Kolominsky-Rabas P. i wsp.: Variations in stroke incidence and survival in 3 areas of Europe. *Stroke* 2000; 31: 2074-2079.
3. Easton J.D.: Epidemiology of stroke recurrence. *Cerebrovasc. Dis.* 1997; supl. 1: 2-4.
4. Jeremy J.Y., Mehta D., Bryan A.J. i wsp.: Platelets and saphenous vein graft failure following coronary artery bypass surgery. *Platelets* 1997; 4: 2-7.
5. Breddin H.K., Lippold R., Bittner M. i wsp.: Spontaneous platelet aggregation as a predictive risk factor for vascular occlusion in healthy volunteers? Results of the HAPARG Study. *Atherosclerosis* 1999; 144: 211-219.
6. Nishimura H., Naritomi H., Iwamoto Y. i wsp.: In vivo evaluation of antiplatelet agents in gerbil model of carotid artery thrombosis. *Stroke* 1996; 27: 1099-1103.
7. Polgar J., Matuskova J., Wagner D.D.: The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3 (8): 1590-1596.
8. Golański J., Watała C.: Mechanizmy molekularne przekazywania sygnału aktywacji przez wybrane receptory błonowe płytek krwi. *Acta Universitatis Lodzensis, Folia Biochimica et Biophysica* 2001; 15: 21-44.
9. Jungi T.W., Spycher M.O., Nydegger U.E. i wsp.: Platelet-leukocyte interaction: selective binding of thrombin-stimulated platelets to human monocytes, polymorphonuclear leukocytes and related cell lines. *Blood* 1986; 67: 629-636.
10. Lindgren J.A., Edenius C.: Transcellular biosynthesis of leukotrienes and lipoxins via leukotriene A4 transfer. *Trends Pharmacol. Sci.* 1993; 14: 351-354.
11. Kopeć M., Łopaciuk S.: Płytki krwi. W: Łopaciuk S. (red.): *Zakrzepy i zatory*. PZWL, Warszawa 2002, 19-28.
12. McGregor L., Martin J., McGregor J.L.: Platelet-leukocyte aggregates and derived microparticles in inflammation, vascular remodelling and thrombosis. *Front Biosci.* 2006; 1: 830-837.
13. Holme P.A., Solum N.O., Brosstad F. i wsp.: Microvesicles bind soluble fibrinogen, adhere to immobilized fibrinogen and coaggregate with platelets. *Thromb Haemost.* 1998; 79: 389-394.
14. Watała C., Golański J.: Postępy w metodach badań aktywacji płytek krwi – trudności i ograniczenia. Część II. *Cytometria przepływowa*. *Acta Haemat. Pol.* 1999; 30: 125-132.
15. Merten M., Thiagarajan P.: P-selectin in arterial thrombosis. *Z. Kardiol.* 2004; 93: 855-863.
16. Grau A.J., Ruf A., Vogt A. i wsp.: [w] Increased fraction of circulating activated platelets in acute and previous cerebrovascular ischemia. *Thromb. Haemost.* 1998; 80: 298-301.
17. Marquardt L., Ruf A., Mansmann U. i wsp.: Course of platelet activation markers after ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33: 2570-2574.
18. Yamazaki M., Uchiyama S., Iwata M.: Measurement of platelet fibrinogen binding and P-selectin expression by flow cytometry in patients with cerebral infarction. *Thromb. Research* 2001; 104: 197-205.
19. Konstantopoulos K., Grotta J.C., Sills C. i wsp.: Shear-induced platelet aggregation in normal subjects and stroke patients. *Thromb. Haemost.* 1995; 74: 1329-1334.
20. McCabe D.J.H., Harrison P., Mackie I.J. i wsp.: Platelet degranulation and monocyte-platelet complex formation are increased in the acute and convalescent phases after ischaemic stroke or transient ischaemic attack. *Brit. Haematol.* 2004; 125: 777-787.
21. Yip H.K., Liou C.W., Chang H.W. i wsp.: Link between platelet activity and outcomes after an ischaemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 20: 120-128.
22. Marquardt L., Ruf A., Mansmann U. i wsp.: Course of platelet activation markers after ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33: 2570-2574.
23. Cherian P., Hankey G.J., Eikelboom J.W. i wsp.: Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. *Stroke* 2003; 34: 2132-2137.
24. Cha J.K., Jo W.S., Shin H.C. i wsp.: [w]: Increased platelet CD63 and P-selectin expression persist in atherosclerotic ischemic stroke. *Platelets* 2004; 15: 3-7.
25. Cha J.K., Jeong M.H., Jang J.Y. i wsp.: Serial measurements of CD63, P-selectin and CD40 ligand on platelets in atherosclerotic ischemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2003; 16: 376-382.
26. Garlich C.D., Kozina S., Fateh-Moghadam S. i wsp.: Upregulation of CD40-Cd40 ligand (CD154) in patients with acute cerebral ischemia. *Stroke* 2003; 34: 1412-1418.
27. Michelson A.D., Barnard M.R., Krueger L.A. i wsp.: Circulating monocyte-platelet aggregates are more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104: 1533-1537.

28. Li N., Hu H., Lindqvist M. i wsp.: Platelet-leukocyte cross talk in whole blood. *Arteriosclerosis, Thromb. Vascular Biol.* 2000; 20: 2702-2708.
29. Martins P.A., van Gils J.M., Mol A. i wsp.: Platelet binding to monocytes increases the adhesive properties of monocytes by up-regulating the expression and functionality of  $\beta$  1 and  $\beta$  2 integrins. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79: 499-507.
30. Golledge J., Greenhalgh R.M., Davies A.H.: The symptomatic carotid plaque. *Stroke*, 2000; 31: 774-781.
31. Dole V.S., Bergmeier W., Mitchell H.A. i wsp.: Activated platelets induce Weibel-Palade-body secretion and leukocyte rolling in vivo: role of P-selectin. *Blood* 2005; 106: 2334-2339.
32. Catto A.J., Carter A.M., Barrett J.H. i wsp.: von Willebrand factor and VIII: C in acute cerebrovascular disease. Relationship to stroke subtype and mortality. *Tromb and Haemost.* 1997; 77: 1104-1108.
33. Helgason C.M., Tortorice K.L., Winkler S.R. i wsp.: Aspirin response and failure in cerebral infarction. *Stroke* 1993; 24: 345-350.

## Informacja dla autorów!

Chcąc zapewnić naszemu czasopismu „Aktualności Neurologiczne” wyższą indeksację KBN i Index Copernicus, zwracamy się do autorów o dopełnienie poniższych warunków podczas przygotowywania pracy do publikacji:

- Publikację należy opatrzyć afiliacją z podaną nazwą ośrodka i jego pełnym adresem oraz numerem telefonu.
- Praca oryginalna powinna być poprzedzona **streszczeniem** zawierającym **od 200 do 250 słów**, a poglądowa i kazuistyczna – **150-200**. Streszczeniu pracy oryginalnej należy nadać budowę strukturalną: wstęp, materiał i metoda, wyniki, wnioski.
- Liczba **słów kluczowych** nie może być mniejsza niż 5. Słowa kluczowe nie powinny być powtórzeniem tytułu. Najlepiej stosować słowa kluczowe z katalogu MeSH.
- **Praca oryginalna** winna zawierać elementy: wstęp, materiał i metoda, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo.
  - **Piśmiennictwo** powinno być ułożone w **kolejności cytowania**.

Pełny Regulamin ogłaszania prac znajduje się na stronie 145.