

РЕЦЕПТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ

А. Г. Муляр, М. Т. Гасанов, Е. Н. Ющук, О. В. Дунаева, Ю. С. Авфукова¹

В статье обсуждаются классификация, функции, эндогенные и экзогенные лиганды тромбоцитарных рецепторов как потенциальные мишени для действия антиагрегационных препаратов.

Подавляющее большинство тромбоцитарных рецепторов, расположенных на поверхности цитоплазматической мембраны, относится к рецепторам, ассоциированным с G-белками [15, 53, 58].

Адренергические рецепторы

На цитоплазматической мембране тромбоцитов располагаются 2 типа рецепторов — α_{2a} и β_2 , ассоциированные с G-белками.

При взаимодействии адреналина с α_{2a} -адренорецепторами возникает сигнал, который приводит к диссоциации G-белков на 2 субъединицы. Первая из них — G_i , снижает активность мембранно-связанного фермента аденилатциклазы (Ац), вторая — G_v уменьшает внутриклеточное содержание циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). В совокупности данные процессы сопровождаются возрастанием концентрации свободных кальциевых ионов внутри тромбоцитов [57].

Возбуждение адреналином мембранных β_2 -адренорецепторов тромбоцитов через активацию G-белков способствует отсоединению от них G_s субъединицы, которая увеличивает активность Ац, вызывает повышение содержания цАМФ и, как следствие, увеличение агрегационной способности.

Серотониновые рецепторы

Серотонин (5-гидрокситриптамин) обнаруживается в тромбоцитах, которые аккумулируют его из плазмы крови посредством активной транспортной системы и вызывают его высвобождение во время агрегации.

Идентифицировано 7 типов (5-НТ₁₋₇) и подтипов (А – D) серотониновых рецепторов для 5-НТ₁ и 5-НТ₂, относящихся к G-белку ассоциированного типа. В настоящее время в тромбоцитах обнаружен только один подтип этих рецепторов: 5-НТ_{2A}, агонистом которого являются кетансерин, ципрогептадин, пизотифен; через G_q -белки они активируют мембранный фермент фосфолипазу С, расщепляющий фосфолипиды мембран до диацилглицерола (ДАГ) и инозитолтрифосфата (ИТФ). Данные вторичные посредники увеличивают концентрацию $[Ca^{2+}]_i$ в цитоплазме тромбоцита, что в конечном итоге инициирует процесс склеивания кровяных пластинок.

Однако в последнее время установлен еще один вторичный посредник, ассоциированный с 5-НТ_{2A}-рецептором — фосфолипаза А₂ (ФлА₂), и это потребова-

ло создания теории функционирования рецепторов, ассоциированных с несколькими вторичными посредниками и объясняющей различие эффектов, возникающих при воздействии на них эндогенных медиаторов и структурно похожих экзогенных агонистов. Общепринятая в настоящее время теория была предложена Kenakin и соавт. (1995) и модифицирована Leff и соавт. (1997), согласно которой (рис. 1) агонист-1 (А-1) взаимодействует с рецептором (Р), образовавшаяся при этом агонист-специфичная конформация рецептора позволяет активировать первый эффекторный путь (Э-1) сильнее, чем второй (Э-2). Когда агонист-2 (А-2) взаимодействует с тем же рецептором на той же клетке, изменение в пространственном строении Р запускает оба эффекторных пути с одинаковой силой. Наконец, когда А-3 взаимодействует с Р, Э-2 начинает превалировать над Э-1.

Leff и соавт. модифицировали теорию Kenakin. Они постулировали следующее: у данного типа рецептора имеются одно неактивное (Р) и два возбужденных состояния (Р* и Р** соответственно). В Р* состоянии наблюдается спонтанная активация эффектора, обеспечивая базальную эффекторную активность, в отсутствие агониста, который может комплексоваться только с Р, переводя его в состояние Р* или Р** (в зависимости от характера агента). Вышеизложенное схематично может быть отображено следующим образом (рис. 2):

Суммируя сказанное можно сделать заключение: теория Kenakin – Leff позволяет объяснить различие эффектов вызываемых эндогенными лигандами (например, серотонином) и экзогенными агонистами, структурно похожими на медиатор, при воздействии на один и тот же рецептор (например, 5-НТ_{2A}).

Пуриновые рецепторы

Представлены двумя основными типами Р₂Y и Р₂X при этом первый относится к G-ассоциированным рецепторам, а второй — к рецепторам связанным с ионными каналами [22, 31, 39]. Р₂Y-рецепторы в зависимости от типа α — субъединицы, присутствующей в структуре G-белка, классифицируются на два подтипа: Р₂Y₁ (G_q) и Р₂Y_{AC} (G_{i2a}). При возбуждении Р₂Y₁-рецептора повышается активность фермента фосфолипазы С (ФлС), что сопровождается увеличением внутриклеточного содержания инозитолтрифосфата (ИТФ) и диацилглицерола (ДАГ) и в итоге приводит к возрастанию в тромбоцитах концентрации $[Ca^{2+}]_i$. Активация Р₂Y_{AC}-рецептора вызывает ингибирование цАМФ.

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, 127473, ул. Делегатская, 20/1.

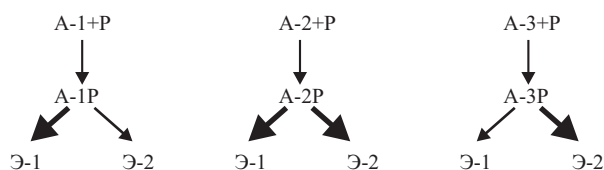


Рис. 1. Схематическое отображение теории Kenakin и соавт. (1995).

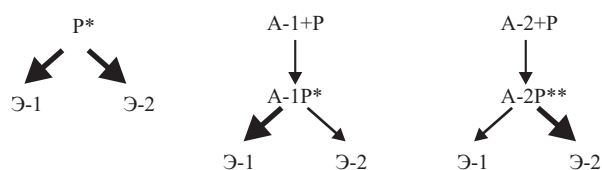


Рис. 2. Схематическое отображение теории Kenakin и соавт. (1995) в модификации Leff и соавт. (1997).

Эндогенными лигандами для обоих подтипов P_2Y -рецепторов является аденозиндифосфорная кислота (АДФ), а антагонистами АТФ — аденозин-2,5-дифосфат и аденозин-3,5-дифосфат [8, 16, 19, 24, 25, 28, 40, 67, 68].

При возбуждении P_2X_1 -рецептора в цитоплазматической мембране тромбоцитов наблюдается открытие каналов для входа ионов кальция, что приводит к резкому повышению его содержания в цитоплазме. Селективные агонисты для данного подтипа пуриновых рецепторов неизвестны, а избирательным их антагонистом является сурамин [27, 33, 41, 44, 55, 56, 64, 66, 71, 72].

Протеиназоактивируемые рецепторы

В настоящее время известны четыре их основных подтипа: PAR_1 , PAR_2 , PAR_3 , PAR_4 , которые относятся к G-ассоциированному типу рецепторов (табл. 1), номенклатура которых обусловлена механизмом их активации — протеиназы (или устаревший термин протеазы): тромбин, трипсин и др., отщепляют от N-конца внеклеточные терминалы олигопептидов, что приводит к индукции связанных с ними G-белков [1]. Выше описанный механизм возбуждения данных рецепторов является обязательным только для PAR_1 подтипа. В дальнейших исследованиях было установлено, что PAR -рецепторы могут активироваться небольшими синтетическими олигопептидами, содержащими 5 или 6 аминокислотных остатков. Другим из возможных путей индукции является возбуждение PAR_1 -рецептора рядом расположенными PAR_1 или PAR_2 -рецепторами. Подобно другим, PAR -рецепторы выполняют двойную функцию: первая — распознавание активирующего лиганда и вторая — запуск внутриклеточного ответа. Механизм активирующего действия экзогенных лигандов на PAR -рецепторы осуществляется за счет образования электростатических связей между

вазии — протеиназы (или устаревший термин протеазы): тромбин, трипсин и др., отщепляют от N-конца внеклеточные терминалы олигопептидов, что приводит к индукции связанных с ними G-белков [1]. Выше описанный механизм возбуждения данных рецепторов является обязательным только для PAR_1 подтипа. В дальнейших исследованиях было установлено, что PAR -рецепторы могут активироваться небольшими синтетическими олигопептидами, содержащими 5 или 6 аминокислотных остатков. Другим из возможных путей индукции является возбуждение PAR_1 -рецептора рядом расположенными PAR_1 или PAR_2 -рецепторами. Подобно другим, PAR -рецепторы выполняют двойную функцию: первая — распознавание активирующего лиганда и вторая — запуск внутриклеточного ответа. Механизм активирующего действия экзогенных лигандов на PAR -рецепторы осуществляется за счет образования электростатических связей между

Таблица 1. Основные характеристики подтипов протеиназоактивируемых рецепторов (PAR)

Рекомендуемое название IUPHAR	PAR_1	PAR_2	PAR_3	PAR_4
Локализация	Тромбоциты, эндотелиоциты, гладкие мышцы клеток сосудов, ЖКТ, эпителий, фибробласты, нейроны, тучные клетки	Эндотелиоциты, лейкоциты, ЖКТ, легкие, гладкие мышцы сосудов и дыхательных путей, нейроны, тучные клетки, каратиноциты, легочные фибробласты, клетки почечных канальцев	Гладкие мышцы дыхательных путей, тромбоциты	Тромбоциты, мегакариоциты
Функциональная роль	Активация тромбоцитов, противовоспалительное действие, развитие эмбриона, регуляция сосудистого тонуса	Противовоспалительное действие, участие в ноцицепции, защита дыхательных путей, регуляция сосудистого тонуса	Кофактор для PAR_4	Активация тромбоцитов
Аминокислотный состав	425 аминокислоты	397 аминокислот	374 аминокислоты	385 аминокислот
Протеиназы-агонисты	Тромбин > трипсин	Трипсин, триптаза, трипсин 2, матриптаза/MT-серин протеиназа 1	Тромбин > трипсин > фактор Ха Активация протеиназами рецептора, не приводит к индукции кальциевого сигнала	Тромбин > трипсин, катепсин G, факторы VIIa/X
Протеиназы-антагонисты	Катепсин G, протеиназа 3, эластаза, плазмин, химаза	Неизвестно	Неизвестно	Неизвестно
Строение лиганда-миметика	SFLLR TFRIFD	SLIGKV SLIGKV-NH ₂ , SLIGRL-NH ₂	TFRGAP	GYPGQV GYPGKF-NH ₂
Антагонисты	Транс-циннамоил-парафлюоро-phe-парагуанидина-phe-beu-arg-arg-NH ₂ , Меркаптопропионил-phe-cha-arg-lys-pro-lys-pro-asn-asp-lys-NH ₂ (*)			Транс-циннамоил-YPGKF-NH ₂
Механизмы передачи сигнала	$G_{q/11}$ (увеличение ИТФ и ДАГ), G_i ; $G_{12/13}$	Неизвестно	Неизвестно	Неизвестно

кислотными группами, расположенными во второй внеклеточной петле рецептора (аспартамовая кислота в положении 256, глутамин в положении 260) и щелочными группами в третьей внеклеточной петле (глутамин в положении 347).

Вторичный фармакологический ответ в результате возбуждения PAR-рецепторов связывающими лигандами длится от 2 до 10 мин в зависимости от типа клетки, и проявляется повышением концентрации $[Ca^{2+}]_i$ за счет воздействия на Gq-белки и угнетением Ац в результате активации G_i-белков.

Все вышесказанное характерно для PAR₁, PAR₂ и PAR₄-рецепторов. PAR₃-подтип выступает только в качестве кофактора для PAR₄ [21, 35, 60].

Поскольку, PAR-рецепторы могут возбуждаться лигандами, не способными к самостоятельной диссоциации, данное семейство рецепторов обладает быстрым механизмом десенситизации.

Возвращение рецепторов в неактивное состояние осуществляется за счет фосфорилирования внутриклеточного С-конца киназой, ассоциированной с G-белками (для PAR₁-рецептора), и протеинкиназой С для (PAR₂-рецептора). Наряду с данными ферментами ключевая роль в процессе десенситизации принадлежит β-аррестину и динамину.

Тромбин — основной эндогенный активатор для PAR₁ и PAR₄-рецепторов, опосредующих тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов, а основным лигандом для PAR₂-рецепторов является трипсин. Помимо индуцирования процесса склеивания кровяных пластинок, данный класс рецепторов принимает участие и в других физиологических и патологических процессах организма человека.

Простаноидные рецепторы

Простаноиды — это продукты распада арахидоновой кислоты (АК) высвобождающейся из фосфолипидов клеточных мембран под действием фермента ФлА₂ [18, 54]. К продуктам деградации АК, а именно простагландинам (ПГ) D₂, E₂, F_{2α}, I₂ и тромбоксану (Тх) А₂ имеются специфические (простаноидные) рецепторы, которые относятся к суперсемейству родопсиновых и типу ассоциированных с G-белками [12, 47, 48, 73]. Согласно международной классификации, они обозначаются следующим образом: для ТхА₂-ТР, для ПГ I₂-IP, для ПГ E₂-EP, для ПГ F_{2α}-FP и для ПГ D₂-DP [13, 37, 38, 69]. Среди EP-рецепторов выделяют EP₁ [11], EP₂, EP₃ и EP₄ подтипы [3, 4, 10]. Все они опосредуют различные эффекты простаноидов, включая сокращение или расслабление различных гладкомышечных клеток, усиление или блокаду высвобождения нейромедиаторов, генерирование лихорадки, индукцию сна, секреторную и моторную активность ЖКТ, транспорт ионов и воды в почках, апоптоз, дифференцировку клеток, онкогенез, а также повышение или снижение агрегационной способности тромбоцитов [5, 17, 30, 42].

В настоящее время клонировано 2 типа тромбоксановых рецепторов [36]. Первый из них TR_α обнаружен в эндотелии, второй TR_β — в плаценте, и оба в тромбоцитах. Отличаются они друг от друга только карбоксильной группой их концов. TR_α и TR_β через G_q-белки связаны с ферментом ФлС. Возбуждение данных рецепторов проявляется активацией фермента ФлС и, как следствие, накоплением в клетке ИТФ и ДАГ; повышение концентрации первого сопровождается увеличением содержания в цитоплазме $[Ca^{2+}]_i$, а накопившийся ДАГ вызывает активацию фермента протеинкиназы С. Однако между этими рецепторами существует функциональная разница по их действию на Ац: TR_α — угнетает ее активность, а TR_β, наоборот, усиливает, что приводит к уменьшению или накоплению содержания цАМФ внутри клетки [70].

Антиагрегационное действие ТхА₂ наблюдается при использовании его в относительно высоких концентрациях (которые в доступной нам литературе не указаны) и обусловлено возбуждением TR_β-рецепторов, что приводит к возбуждению Ац и накоплению в клетки цАМФ. В небольших количествах ТхА₂ вызывает активацию ФлС и снижает функционирование Ац, причем по двум независимо протекающим механизмам, которые обусловлены связыванием рецептора с различными видами G-белков и регулируется карбоксильным концом третьей цитоплазматической петли TR-рецептора.

Установлено, что самостоятельно ПГЕ₂ не способен вызвать склеивание тромбоцитов, а его проагрегантный эффект, проявляющийся в высоких концентрациях ($< 10^{-4}$ М), обусловлен потенцированием действия других индукторов агрегации, снижающих концентрацию цАМФ в клетке, и связан с возбуждением G_i-белков EP₃-рецепторов [20, 43, 46, 49]. В низких концентрациях ($< 10^{-6}$ М) происходит перегруппировка EP₃-рецепторов с G_s-белками, и как следствие, возникает простоциклиноподобное действие, т.е. торможение агрегации тромбоцитов за счет увеличения содержания в тромбоцитах внутриклеточного цАМФ.

Таким образом, ПГЕ₂ может быть причислен к группе медиаторов, включая адреналин и АДФ [61], которые модулируют агрегацию тромбоцитов, за счет изменения содержания в них цАМФ, а дозозависимое действие данного простаноида может быть объяснено на основании вышеописанной теории Kenakin-Leff [65].

Интегриновые рецепторы

Термин “интегрин”, был введен 1987 г. для описания семейства структурно, иммунохимически и функционально родственных поверхностных клеточных рецепторов, которые связывают внеклеточный матрикс с внутриклеточным цитоскелетом тромбоцитов и опосредуют миграцию и адгезию клеток. Они состоят из α и β-субъединиц. К настоящему времени идентифицировано восемь β и семнадцать α подтипов субъединиц, которые ассоциируются между собой при по-

Таблица 2. Внеклеточные лиганды интегриновых рецепторов

Интегрин	Лиганд
$\alpha_1\beta_1, \alpha_2\beta_1, \alpha_{11}\beta_1, \alpha_{1b}\beta_3$	Коллагены
$\alpha_5\beta_1, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_{11b}\beta_3$	Денатурированный коллаген
$\alpha_M\beta_2$	Фактор X
$\alpha_2\beta_1, \alpha_3\beta_1, \alpha_4\beta_1, \alpha_4\beta_7, \alpha_5\beta_1, \alpha_8\beta_1, \alpha_\nu\beta_1, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_\nu\beta_5, \alpha_5\beta_6, \alpha_5\beta_8, \alpha_{11b}\beta_3$	Фибронектин
$\alpha_5\beta_1, \alpha_M\beta_2, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_X\beta_2, \alpha_{11b}\beta_3$	Фибриноген
$\alpha_1\beta_1, \alpha_2\beta_1, \alpha_6\beta_1, \alpha_7\beta_1, \alpha_6\beta_4, \alpha_\nu\beta_3$	Ламинин
$\alpha_{11b}\beta_3$	Плазминоген
$\alpha_\nu\beta_3, \alpha_{11b}\beta_3$	Протромбин
$\alpha_3\beta_1, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_{11b}\beta_3$	Тромбоспондин
$\alpha_\nu\beta_1, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_\nu\beta_5, \alpha_{11b}\beta_3$	Витронектин
$\alpha_\nu\beta_3, \alpha_{11b}\beta_3$	Фактор Виллебранта

мощи нековалентных связей, образуя более двадцати различных интегринов [29].

Как и к любым рецепторам, к интегринам имеются специфические лиганды эндогенного и экзогенного происхождения (табл. 2).

В последнее время, с целью получения интегрин-специфичных препаратов, во многих лабораториях ведутся поиски искусственных (экзогенных) лигандов минимально возможного размера, способных вызывать клеточный ответ, и получивших название распознающих структур. В этом направлении достигнуты определенные успехи (табл. 3).

Все интегрины являются металлопротеинами и имеют в своем составе двухвалентные ионы действующие как эффекторы (способствующие связыванию лиганда), антагонисты (препятствуя взаимодействию лиганда с рецептором) или как регуляторы (изменяя специфичность лигандов). В структуре интегрин обнаружены два класса ионсвязывающих сайтов: первый класс отвечает за связывание с лигандом, а второй — ингибирует действие первого. Места связывания, относящиеся к первому классу, способны взаимодействовать с ионами кальция, магния и марганца.

Наибольший интерес с точки зрения регуляции функциональной активности тромбоцитов представля-

ют интегриновые рецепторы к ламинину, фибронектину и фактору Виллебранда (ФВ).

Ламининовые рецепторы представляют собой комплекс GP Ic/IIa ($\alpha_6\beta_1$). Медиатором для данных рецепторов является ламинин — обязательный структурный компонент базальной пластинки, отвечающий за стабильность внеклеточного матрикса и адгезию клеток к базальной мембране. В структуре данного 3-х компонентного GP выделяют одну тяжелую цепь обозначаемую α (A) и 2 легкие цепи, обозначаемые β (B_1) и γ (B_2), связанные между собой дисульфидными связями образующими сложную асимметричную структуру. Выделяют 7 видов тканеспецифичных ламининов проявляющих различные виды биологической активности, в частности: процессы адгезии, рост, деление и дифференцировку различных клеточных популяций. Основными представителями семейства ламининов являются: ламинин 1 (EHS-ламинин), содержащий $\alpha_1\beta_1\gamma_1$ субъединицы; ламинин 2 (мерозин или ламинин M) присутствует в базальной мембране скелетных мышц, плацентарных трофобластах и Шванновских клетках, состоит из $\alpha_2\beta_1\gamma_1$ цепей; ламинин 3 (S-ламинин, синаптический ламинин) обнаруживается в нервно-мышечных соединениях и образован из $\alpha_1\beta_2\gamma_1$ цепей; ламинин 5 (каллинин, или же ницеин) идентифицирован в кератиноцитах человека, состоит из $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ субъединиц.

Фибриноектиновые рецепторы представляют собой комплекс GP Ic/IIa ($\alpha_5\beta_1$), расположенный на поверхности цитоплазматической мембраны (ЦПМ) тромбоцита [7]. Эндогенными лигандами для данного рецептора являются фибронектины - α_2 -SB GP (α_2 опсоины; SIG, SCP; CAF; GAP A; LETS; Zeta белок) — высокомолекулярные, многофункциональные GP обнаруживаемые на поверхности клеток, в плазме крови, матриксе соединительной ткани и большинстве базальных мембран. Они играют важную роль не только в системе гемостаза, но и в процессах малигнизации, фагоцитоза, апоптоза, хемотаксиса, дифференцировки эмбриональных клеток и функционирования ретикулоэндотелиальной системы. Выделяют две основные формы фибронектина: плазменную (функционально

Таблица 3. Распознающие структуры интегрин

Интегрин	Распознающая структура (условное обозначение)	Лиганд
$\alpha_3\beta_1, \alpha_5\beta_1, \alpha_8\beta_1, \alpha_\nu\beta_1, \alpha_\nu\beta_3, \alpha_\nu\beta_5, \alpha_\nu\beta_6, \alpha_{11b}\beta_3$	RGD	Коллаген, фибриноген, фибронектин, протромбин, тромбоспондин, витронектин, ФВ
$\alpha_{11b}\beta_3$	HHLGGAKQAGDV	γ -цепочка фибриногена
$\alpha_X\beta_2$	GPR	α -цепочка фибриногена
$\alpha_M\beta_2$	P ₁ -белок	γ -цепочка фибриногена
$\alpha_M\beta_2$	P ₂ -белок	γ -цепочка фибриногена
$\alpha_4\beta_1, \alpha_4\beta_7$	CS ₁ -белок	Фибронектин
$\alpha_4\beta_1$	CS ₅ -белок	Фибронектин
$\alpha_4\beta_1$	IDAPS	Фибронектин
$\alpha_1\beta_1, \alpha_2\beta_1$	GFOGER	Коллаген

не активную) и клеточную (обладающую активностью). Обе состоят из нескольких субъединиц соединенных между собой дисульфидными мостиками. Они имеют одинаковый аминокислотный состав, углеводородные структуры, а также вторичную и третичную пространственную конфигурацию. Различаются данные изоформы фибронектина по их эффектам на клеточную морфологию, гемагглютинацию, растворимость, а также количеством субъединиц, входящих в их состав.

Первоначально растворимый фибронектин связывается с поверхностью клетки посредством N-конца фрагмента с массой 70 kDa. Это процесс обратимый. В дальнейшем, протомерный фибронектин переводится в мультимерную структуру за счет образования между его молекулами дисульфидных связей.

Рецепторами осуществляющими взаимодействие фибриноектина с тромбоцитами являются GP комплексы (интегрины) $\alpha_5\beta_1$ и $\alpha_{IIb}\beta_3$.

ФВ имеет высокую молекулярную массу (около 16 млн дальтон), но его связывающие функции локализованы в отдельных доменах [14]. Домен для контакта с фактором VIII расположен на N-конце зрелого ФВ в области аминокислотного остатка 272; места объединения с гликопротеином Ib, гепарином и коллагеном на аминокислотах 449 – 728; и дополнительный домен связывания с коллагеном — на аминокислотах 911 – 1114. Домен связывания с гликопротеином с Пб/Ша в ФВ локализован на аминокислотном участке 1744 – 1747 [45, 74].

Согласно общепринятой теории [32], интегрин α_{IIb}/β_3 играет исключительную роль в склеивании тромбоцитов между собой через взаимодействие с фибриногеном или ФВ. Доказано, что в зависимости от интенсивности кровотока, данный процесс может требовать соединения ФВ с гликопротеином Ib_α . Иницированное гликопротеином Ib_α взаимодействие с ФВ для запуска процесса агрегации требует ассоциации этого фактора с интегрином.

Образование комплекса GP Ib_α -ФВ запускает процесс склеивания тромбоцитов между собой в условиях быстрого кровотока. При этом процесс адгезии под воздействием данного комплекса носит обратимый характер [6].

Формирование комплекса ФВ — интегрин, также запускает процесс агрегации; при этом процесс носит необратимый характер. Однако необходимо отметить, что в условиях быстрого кровотока, он может быть относительно длительным [62, 63].

Синергизм взаимодействия рецептор-лиганд, протекающий с различной скоростью демонстрирует, что агрегация тромбоцитов, возникающая при различном состоянии скорости кровотока, приводит к образованию контактов между клетками в циркулирующей крови. Этот феномен лежит в основе таких физиологических процессов как: иммунный ответ, воспаление и аллергические реакции, с участием не только тромбо-

цитов, но и эозинофилов и базофилов. Аналогично, лимфоциты используя рецепторы тромбоцитов могут принимать участие в формировании гетеротипичных агрегатов.

Исследования подтверждают современную концепцию в интерпретации механизма агрегации тромбоцитов. Согласно этой теории наряду с интегрином, важное значение отводится ФВ и $GP1b_\alpha$. Эта теория открывает новые перспективы поиска антиагрегантов, а именно, при необходимости уменьшить риск тромбообразования в зонах с высокой интенсивностью кровотока, можно использовать препараты избирательно блокирующие GP рецепторы $1b_\alpha$.

Коллагеновые рецепторы

На мембране тромбоцитов имеются рецепторы к 2 типам коллагена: I и III. Рецепторы к коллагену I типа относятся к 2-м семействам — 1-е интегриновое [23, 34], содержащее гетеродимеры, включая GP Ia – IIa ($\alpha_2\beta_1$) и GP IIb – IIIa ($\alpha IIb\beta_3$). 2-е — семейство неинтегриновых рецепторов, содержащее одноцепочечные или белковые с гомодимерами, рецепторы. Сюда относятся белки с молекулярной массой 65 kD и 63 kD (обозначается как β_2), GPIV и GPVI.

Наиболее изученным из неинтегриновых рецепторов является протеин с молекулярной массой 65 kDa. В структуре данного рецептора выделяют 3 трансмембранных домена со следующими аминокислотными (амк) последовательностями (1 – 21 для первого домена, 35 – 55 для второго, 213 – 233 для третьего) с коротким N концом и внеклеточным доменом (амк остатки с 56 по 212). Взаимодействие коллагена I типа с вышеописанными рецепторами, особенно с белком с молекулярной массой 65 kD, приводит к агрегации тромбоцитов.

Рецепторы к тромбоцитарному GP VI относятся к суперсемейству иммуноглобулинов (Ig). Данный рецептор состоит из 339 амк в том числе 23 амк в качестве сигнальной субъединицы рецептора и 19 амк трансмембранного домена, который расположен между 247 и 265 аминокислотами [2, 26, 59]. Внеклеточная часть рецепторной цепочки представлена двумя IgG-подобными доменами, связанными между собой дисульфидными связями. Передача сигнала осуществляется через систему тирозинкиназы, приводящей к мобилизации внутриклеточного кальция. Можно предположить, что активация данного рецептора и, как следствие, возрастание функциональной активности тромбоцитов играет ключевую роль при иммунных воспалительных реакциях, протекающих с участием Ig класса G и натуральных киллеров (NK клеток). Селективным экзогенным лигандом для данного типа рецепторов является конвуксин (белок из яда змей). Рецептор GP VI является необходимым, но недостаточным компонентом передачи сигналов, возникающих при взаимодействии коллагена с тромбоцитами [50 – 52].

Для коллагена III типа существуют свой рецептор, отличающийся от таковых у коллагена I типа.

Таблица 4. Основные характеристики тромбоцитарных рецепторов

№	Класс рецепторов	Тип	Подтип	Изоформа	Тип G-белков	Вторичные посредники	Лиганды		Антагонисты					
							Экзогенные	Эндогенные						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
1.	Адренергические	α	α_2	$\alpha_{2\alpha}$	G_i	\downarrow Ац	Адреналин	Адреналин	фентоламин					
		β	β_2		G_s	\uparrow Ац \Rightarrow \uparrow цАМФ	Адреналин	Адреналин	β -адрено-блокаторы					
2.	Серотониновые	5-НТ	5-НТ ₂	5-НТ _{2A}	G_q	\uparrow ФЛС \Rightarrow \uparrow ДАГ и \uparrow ИТ-Ф \Rightarrow \uparrow [Ca ²⁺]	α -метил-5-гидрокситриптамин		Амперозид MDP-100907, Пизотифен, Ритансерин, Нифазодон, Кетансерин					
3.	Пуриновые	P_2Y	P_2Y_1		G_q	\uparrow ФЛС \Rightarrow \uparrow ДАГ и ИТФ \Rightarrow \uparrow [Ca ²⁺]	АДФ	АДФ	АТФ, А ₂ P ₅ P, А ₃ P ₅ P					
			P_2Y_{AC}		$G_{i2\alpha}$	\downarrow цАМФ	АДФ	АДФ	АТФ, А ₂ P ₅ P, А ₃ P ₅ P					
		P_2X	P_2X_1		ионотропный	\uparrow [Ca ²⁺]	Неизвестно	Неизвестно						
4.	Протеиназо-активируемые	PAR	PAR ₁				α -тромбин	α -тромбин						
			PAR ₂											
			PAR ₃											
			PAR ₄					γ -тромбин	γ -тромбин					
5.	Простаноидные	DP	EP	EP ₁	G_s	\uparrow цАМФ	Простагландин D ₂		НПВС					
					неустановлен	\uparrow [Ca ²⁺]	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_s	\uparrow цАМФ	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_s	\uparrow цАМФ	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_i	\downarrow цАМФ	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_s	\uparrow цАМФ	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_s	\uparrow цАМФ	Простагландин E ₂		НПВС					
					G_s G_i G_q	\downarrow цАМФ, \uparrow цАМФ, ФИ-ответ	Простагландин E ₂							
					G_q	ФИ-ответ	Простагландин F _{2α}		НПВС					
					G_q , G_s	\uparrow цАМФ, ФИ-ответ	Простагландин I ₂		НПВС					
					G_{i2} , G_q	\downarrow цАМФ, ФИ-ответ	Тромбоксан A ₂		НПВС					
					G_s	\uparrow цАМФ, ФИ-ответ	Тромбоксан A ₂		НПВС					
6.	GP	Интегриновые	$\alpha_{IIb}\beta_3$				Фибриноген фактор Виллебранта Коллаген I	Коллаген	Абциксимаб Эптифибатид Тирофибан					
										$\alpha_2\beta_1$				
										$\alpha_5\beta_1$			Фибронектин Коллаген I	
										$\alpha_6\beta_1$			Ламинин Коллаген I	
		Неинтегриновые	p65	p47					Коллаген I	Коллаген III				
			TII CBR		G?	Фосфорилирование белков \Rightarrow \uparrow активности тромбоцитов \Rightarrow высвобождение серотонина	Коллаген III							
										GP VI			Коллаген фактор Виллебранта	Конвульсин
										GP Ib-IX-V			Фактор Виллебранта внеклеточный матрикс	
7.	Инозитолтрифосфатные	IP ₃ -R	IP ₃ -R ₁			\uparrow [Ca ²⁺]	Мио-инозитол 1,4,6-трифосфотиат	Мио-инозитол 1,3,6-трифосфотиат	Аденофостин А					
			IP ₃ -R ₂											
			IP ₃ -R ₃											

Примечание. \uparrow — повышение активности, \downarrow — снижение активности, \Rightarrow — как следствие. ФИ-фосфатидилинозитол.

Данный рецептор не относится к классу интегринов и обозначается как ТПКСВР, представляет собой октапептид и отвечает за первоначальную фазу взаимодействия тромбоцитов с коллагеном III типа. Он состоит из 2 симметричных трипептидов. При взаимодействии тромбоцитов с данным типом рецепторов происходит фосфорилирование сигнальных белков, что приводит к активации тромбоцитов, сопровождающейся высвобождением из них серотонина и последующей адгезии кровяных пластинок.

Инозитол-1,4,5-трифосфатные рецепторы тромбоцитов

Большое количество гормонов, нейромедиаторов и других биоактивных веществ вызывает гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат, а в дальнейшем, расщепляющегося на инозитол-1,4,5-трифосфат (ИТФ) — внутриклеточный посредник. ИТФ высвобождает кальций из внутриклеточного депо за счет связывания с собственными рецепторами — мультигенным семейством кальций-высвобождающих каналов, представленных тремя основными типами: IP_3R_1 , IP_3R_2 и IP_3R_3 . Данные рецепторы локализованы в головном мозге (мозжечок), гепатоцитах и тромбоцитах. Изменение концентрации ионов кальция в цитоплазме оказывает регулирующее действие на активность данных рецепторов по принципу как положительной, так и отрицательной обратной связи (в зависимости от подтипа рецептора). IP_3R_1 активируется низкими концентрациями ионов кальция в цитоплазме и ингибируется высоким содержанием данного иона внутри клетки. IP_3R_3 может блокироваться кальмодулином и высокими концентрациями внутриклеточного кальция. При возбуждении IP_3R_2 , по принципу положительной обратной связи, резко повышает содержание ионов кальция в цитоплазме. Все изложенные данные приведены в табл. 4.

ЛИТЕРАТУРА

1. H. Andersen, D. L. Greenberg, Fujikawa, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 11189 – 11193 (1999).
2. B. T. Atkinson, M. J. Stafford, C. J. Pears, et al., *Eur J Biochem.*, **268**, 5242 – 5248 (2001).
3. L. P. Audoly., X. Ruan, V. A. Wagner, et al., *Am. J. Physiol.*, **280**, 327 – 333 (2001).
4. H. Baba, T. Kohno, K. A. Moore, et al., *J. Neurosci.*, **21**, 1750 – 1756 (2001).
5. Y. Bao, M. L. Pucci., B. S. Chan, et al., *Am. J. Physiol.*, **282**, 1103 – 1110 (2002).
6. W. Bergmeier, K. Rackebrandt, W. Schroder, et al., *Blood.*, **95**, 886 – 893 (2000).
7. S. Beumer, G. J. Heijnen-Snyder, J. W. Ijsseldijk M., et al., *Arterioscler. Thromb.*, **20**, 16 – 25 (2000).
8. J. L. Boyer, M. Adams, R. G. Ravi, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **135**, 2004 – 2010 (2002).
9. M. D. Breyer and R. M. Breyer., *Annu. Rev. Physiol.*, **63**, 579 – 605 (2001).
10. R. M. Breyer, *Mol. Pharmacol.*, **59**, 1357 – 1359 (2001).
11. R. M. Breyer, C. K. Bagdassarian, S. A. Myers, et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **41**, 661 – 690 (2001).
12. T. Brock, R. McNish, and M. Peters-Golden, *J. Biol. Chem.*, **274**, 11660 – 11666 (1999).
13. J.-P. Brouland, T. Egan, J. Roussi, et al., *Arterioscler Thromb.*, **19**, 3055 – 3062 (1999).
14. S. Butenas, K. M. Cawthern, C. van't Veer, et al., *Blood.*, **97**, 2314 – 2322 (2001).
15. J. L. Daniel, C. Dangelmaier, J. Jin, et al., *Thromb. Haemost.*, **82**, 1322 – 1326 (1999).
16. F. Degraeve, M. Bolla, S. Blaie, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**, 46849 – 46855 (2001).
17. K. Egan, S. Austin, E. Smyth, et al., *Circulation.*, **102**, 176 – 185 (2000).
18. K. Enjyoji, et al., *Nat. Med.*, **5**, 1010 – 1017 (1999).
19. J.-E. Fabre, M. Nguyen, K. Athirakul, et al., *J. Clin. Invest.*, **107**, 603 – 610 (2001).
20. T. R. Faruqi., E. J. Weiss, M. J. Shapiro, et al., *J. Biol. Chem.*, **275**, 19728 – 19734 (2000).
21. C. J. Foster, D. M. Prosser, J. M. Agans, et al., *J. Clin. Invest.*, **107**, 1591 – 1598 (2001).
22. D. L. French and U. Seligsohn, *Arterioscler. Thromb.*, **20**, 607 – 610 (2000).
23. J. Geiger, et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19**, 2007 – 2011 (1999).
24. S. Goto, N. Tamura, K. Eto, et al., *Circulation.*, **105**, 2531 – 2536 (2002).
25. S. Goto, N. Tamura, S. Handa, et al., *Circulation.*, **106**, 266 – 272 (2002).
26. N. J. Greco, G. Tonon, W. Chen, et al., *Blood.*, **98**, 100 – 107 (2001).
27. B. Grobden, P. Claes, K. Van Kolen, et al., *J. Neurochem.*, **78**, 1325 – 1338 (2001).
28. K. Gupta, P. Gupta, A. Solovey, et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, **63**, 1543 (1999).
29. H. F. G. Heijnen, A. E. Schiel, R. Fijnheer, et al., *Blood.*, **94**, 3791 – 3799 (1999).
30. G. Hollopeter, et al., *Nature.*, **409**, 202 – 207 (2001).
31. D. D. Hu, C. A. White, S. Panzer-Knodle, et al., *J. Biol. Chem.*, **274**, 4633 – 4639 (1999).
32. S. M. Jung and M. Moroi, *Eur. J. Biochem.*, **268**, 3513 – 3522 (2001).
33. S. M. Jung and M. Moroi, *J. Biol. Chem.*, **275**, 8016 – 8026 (2000).
34. M. L. Kahn, M. Nakanishi-Matsui, M. J. Shapiro, et al., *J. Clin. Invest.*, **103**, 879 – 887 (1999).
35. S. D. Katugampola and A. P. Davenport, *Br. J. Pharmacol.*, **134**, 1385 – 1392 (2001).
36. T. Kobayashi, F. Ushikubi, and S. Narumiya, *J. Biol. Chem.*, **275**, 24294 – 24303 (2000).
37. O. A. Lawler, S. M. Miggin, and B. T. Kinsella, *J. Biol. Chem.*, **276**, 33596 – 33607 (2001).
38. C. Léon, B. Hechler, M. Freund, et al., *J. Clin. Invest.*, **104**, 1731 – 1737 (1999).
39. C. Leon, M. Freund, C. Ravanat, et al., *Circulation.*, **103**, 718 – 723 (2001).
40. M. P. Mahaut-Smith, S. J. Ennion, M. G. Rolf, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **131**, 108 – 114 (2000).
41. Z. Mallat, H. Benamer, B. Hugel, et al., *Circulation.*, **101**, 841 – 843 (2000).
42. C. Mehats, G. Tanguy, E. Dallot, et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**, 5358 – 5365 (2001).
43. M. P. Meyer, J. D. Clarke, K. Patel, et al., *Dev. Dyn.*, **214**, 152 – 158 (1999).
44. A. D. Michelson, M. I. Furman, P. Goldschmidt-Clermont, et al., *Circulation.*, **101**, 1013 – 1018 (2000).
45. R. B. Moreland, H. Albadawi, C. Bratton, et al., *Am. J. Physiol.*, **281**, 552 – 558 (2001).

46. S. Narumiya and G. A. Fitzgerald, *J. Clin. Invest.*, **108**, 25 – 30 (2001).
47. S. Narumiya, A. Sugimoto, and F. Ushikubi, *Physiol. Rev.*, **79**, 1193 – 1226 (1999).
48. C. Nataraj, D. W. Thomas, S. L. Tilley, et al., *J. Clin. Invest.*, **108**, 1229 – 1235 (2001).
49. H. Ni, V. Ramakrishnan, Z. M. Ruggeri, et al., *Blood.*, **98**, 368 – 373 (2001).
50. B. Nieswand, W. Bergmeier, A. Eckly, et al., *Blood.*, **97**, 3829 – 3835 (2001).
51. B. Nieswandt, V. Schulte, W. Bergmeier, et al., *J. Exp. Med.*, **193**, 459 – 470 (2001).
52. S. Offermanns, *Biol. Chem.*, **381**, 389 – 396 (2000).
53. J. T. O'Flaherty, B. A. Chadwell, M. W. Kearns, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**, 24743 – 24750 (2001).
54. P. Ohlmann, A. Eckly, M. Freund, et al., *Blood.*, **96**, 2134 – 2139 (2000).
55. C. Oury, E. Toth-Zsamboki, J. Vermynen, et al., *Blood.*, **99**, 2275 – 2277 (2002).
56. B. Z. Paul, J. Jin, and S. P. Kunapuli, *J. Biol. Chem.*, **274**, 29108 – 29114 (1999).
57. P. F. Piguet, C. Da Laperrousaz, C. Vesin, et al., *Infect. Immun.*, **68**, 3822 – 3829 (2000).
58. T. M. Quinton, F. Ozdener, C. Dangelmaier, et al., *Blood.*, **99**, 3228 – 3234 (2002).
59. V. Ramakrishnan, F. DeGuzman, M. Bao, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **98**, 1823 – 1828 (2001).
60. J. Reilly, M. Miralles, W. Wester, et al., *Surgery.*, **126**, 624 – 628 (1999).
61. Z. M. Ruggeri, J. A. Dent, and E. Saldivar, *Blood.*, **94**, 172 – 178 (1999).
62. R. J. Shlansky-Goldberg, *Vasc. Interv. Radiol.*, **13**, 229 – 246 (2002).
63. J. Simon, A. K. Filippov, S. Goransson, et al., *J. Biol. Chem.*, **277**, 31390 – 31400 (2002).
64. M. D. Southall and M. R. Vasko, *J. Biol. Chem.*, **276**, 16083 – 16091 (2001).
65. R. F. Storey, et al., *Br. J. Haematol.*, **110**, 925 – 934 (2000).
66. S. Takano, J. Kimura, I. Matsuoka, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **372**, 305 – 309 (1999).
67. N. A. Turner, J. L. Moake, and L. V. McIntire, *Blood.*, **98**, 3340 – 3345 (2001).
68. R. Vezza, J. Rokach, and G. A. Fitzgerald., *Mol. Pharmacol.*, **59**, 1506 – 1513 (2001).
69. M.-T. Walsh and B. T. Kinsella, *Br. J. Pharmacol.*, **131**, 601 – 609 (2000).
70. A. Weber, T. Hohlfeld, and K. Schror, *Platelets.*, **10**, 238 – 241 (1999).
71. D. Woulfe, J. Yang, and L. Brass, *J. Clin. Invest.*, **107**, 1503 – 1505 (2001).
72. D. H. Wright, D. Abran, M. Bhattacharya, et al., *Am. J. Physiol.*, **281**, 1343 – 1360 (2001).
73. Y. Yuan, S. Kulkarni, P. Ulsemer, et al., *J. Biol. Chem.*, **274**, 36241 – 36251 (1999).
74. J. Zhang and S. A. Rivest, *J. Neurochem.*, **74**, 2134 – 2145 (2000).

Поступила 26.11.02

RECEPTOR-MEDIATED REGULATION OF THROMBOCYTE ACTIVITY

A. G. Mulyar, M. T. Gasanov, E. N. Yushchuk, O. V. Dunaeva, and Yu. S. Avfukova

Moscow State Medical Stomatology University, ul. Delegatskaya 20/1, Moscow, 127473 Russia

Classification of thrombocyte receptors is given, their functions are discussed, and their endogenous and exogenous ligands are considered as potential targets for antithrombotic drugs.