

РОЛЬ ДИМЕРИЗАЦИИ РЕЦЕПТОРОВ В АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТА

Свешникова А.Н., Обыденный С.И.¹, Пантелеев М.А.¹

МГУ имени М.В. Ломоносова, физический факультет, 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, 1/2.

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина 4

Тромбоциты, безъядерные клетки, участвующие в свертывании крови, в норме активируются при повреждении сосуда различными растворимыми и нерастворимыми агонистами. Активация тромбоцита приводит к агрегации клеток, выходу активационных гранул и выставлению фосфатидилсерина на поверхности субпопуляции тромбоцитов (т.н. сверхактивированные тромбоциты). Мембраны сверхактивированных тромбоцитов на порядки ускоряют реакции свертывания плазмы крови. На тромбоците существует несколько рецепторов к различным агонистам, большинство из которых связано с Gq-белками, и запускаемые ими сигнальные пути полностью совпадают. Способность связанных с G белками рецепторов к образованию гомо- и гетеродимеров достаточно хорошо известна, однако роль этого процесса в активации тромбоцитов практически не изучалась.

Целью настоящей работы является исследование роли способности к димеризации связанных с G-белками рецепторов в активации тромбоцита на примере рецепторов к тромбину (PAR1 и PAR4) методами компьютерного моделирования, цитофлуорометрии и конфокальной микроскопии. Построенная математическая модель состоит из 42 обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих распространение активационного сигнала от плазматической мембраны тромбоцита в цитозоль, эндоплазматический ретикулум и митохондрии. Интегрирование модели проводилось в стохастическом приближении методом -leap. Для валидации модели и проверки ее предсказаний были поставлены эксперименты по измерению динамики концентрации кальция в суспензии и одиночных клетках (отмытые гель-фильтрованные клетки загружались краской Fura Red, активировались тромбином, SFLLRN (агонист PAR1), AYGKPF (агонист PAR4) и анализировались на проточном цитометре в непрерывном режиме или на конфокальном флуоресцентном микроскопе).

В результате работы показано, что динамика кальциевого ответа тромбоцита при одновременной активации PAR1 и PAR4 рецепторов не может быть представлена как простая суперпозиция сигналов от рецепторов разного типа ни в одном из использованных приближений (модель, суспензия, одиночные клетки). При этом наиболее явные различия наблюдаются при физиологических концентрациях тромбина (около 10 нМ). Для объяснения этого явления необходимо учитывать образование гетеродимеров PAR1 и PAR4 рецепторов, в которых PAR1 рецептор повышает чувствительность PAR4 рецептора к тромбину.

Таким образом, хотя явление гомодимеризации рецепторов не имеет значительного вклада в активацию тромбоцита, гетеродимеризация PAR1 и PAR4 рецепторов является определяющим событием для физиологической активации тромбоцитов.