

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО РОЛІ ТРОМБОЦИТАРНИХ РЕЦЕПТОРІВ У ПРОЦЕСІ ФОРМУВАННЯ ТРОМБУ

Дослідження молекулярно-біологічних аспектів функціонування тромбоцитів, із залученням біохімічних методів, новітніх технологій клітинної та молекулярної біології, стали основою для розуміння сигнальних каскадів, що регулюють активацію, адгезію і агрегацію цих клітин. У даному огляді узагальнена сучасна інформація щодо участі мембранних рецепторів тромбоцитів у процесах фізіологічного і патологічного формування тромбу, проаналізована можлива роль тромбоцитарних рецепторів як мішені дії антиагрегаційних агентів, визначено нові перспективні напрямки пошуку ефективних та специфічних антитромботичних препаратів.

Ключові слова: тромбоцити, мембранні рецептори, процес тромбоутворення, агрегація.

Згідно існуючих уявлень тромбоцити циркулюють в кров'яному руслі у відносно неактивному стані і не взаємодіють ні між собою, ні з інтактним ендотелієм, що вистилає кровеносні судини. Пошкодження судинної стінки запускає каскад процесів, що призводить до появи у кровотоці одразу декількох індукторів агрегації. Ці речовини опосередковують свій вплив через рецептори у складі тромбоцитарної мембрани, активуючи відповідні внутрішньоклітинні сигнальні каскади, наслідком яких є ініціація процесів активації і агрегації тромбоцитів. Власне процес тромбоутворення є надзвичайно складним і може бути розділений на три стадії.

Фаза ініціації – адгезія тромбоцитів до судинної стінки з утворенням моношару активованих клітин

На першій стадії формування тромбу відбувається адгезія поодиноких тромбоцитів до субендотеліального матриксу або активованого ендотелію. Даний процес ініціюється при пошкодженні судинної стінки та дисфункціях ендотелію, що можуть бути спричинені гострою гіпертензією, вільними радикалами, бактеріальними токсинами, вірусною інфекцією, цитокінами (TNF, IL-1 та ін.), імунними комплексами та ін. [1]. При цьому з ендотеліальних клітин у кров і екстрацелюлярний матрикс вивільняється вміст тілець Вейбеля-Паладе, серед якого – фактор фон Віллебранда (vWF) – ключовий індуктор ініціації процесів адгезії (взаємодія з судинною стінкою) та агрегації (взаємодія з іншими тромбоцитами) тромбоцитів [2].

vWF виконує дві основні функції: по-перше, взаємодіючи з тромбоцитарним рецептором GPIIb/IX/V, забезпечує взаємозв'язок субендотеліального колагенового матриксу з мембраною тромбоцитів, тим самим, сприяє прикріпленню клітин до ділянки пошкодженої судини; по-друге vWF є носієм фактора згортання крові VIII, стабілізує його структуру (захисає від інактивації протеїном С і Ха-фактором) і доставляє до місця пошкодження [3].

Комплекс GPIIb/IX/V є основним тромбоцитарним рецептором для vWF, однак він може також зв'язувати інші білки адгезії (колаген, тромбоспондин-1), α -тромбін, фактори коагуляції (кініноген, XI, XII), а також мембранні білки Р-селектин, забезпечуючи взаємодію з активованими ендотеліальними клітинами, і Мас-1 (або інтегрин $\alpha_M\beta_2$), забезпечуючи взаємодію з лейкоцитами. Функціональний рецептор GPIIb/IX/V представляє собою комплекс із чотирьох трансмембранних лейцинозбагачених глікопротеїнів (GP): GPIIb (135 кДа), GPIIb (26 кДа), GPIIX (20 кДа), GPV (82 кДа), об'єднаних у стехіометричному співвідношенні 2:2:2:1 відповідно [4, 5]. Елементи комплексу GPIIb, GPIIb, GPIIX тісно взаємодіють між собою і відсутність хоча б одного з глікопротеїнів негативно відображається на зовнішньоклітинній експресії і функціонуванні рецептора в цілому. Тоді як, зв'язок з GPV є слабким, а відсутність даної субодиниці не впливає ні на експресію комплексу, ні на його взає-

модію з vWF. Однак, GPV є необхідним для взаємодії рецептора, а саме його GPIIb субодиниці, з тромбіном.

Точний механізм активації тромбоцитів внаслідок взаємодії vWF з GPIIb/IX/V остаточно не визначений. Відомо, що vWF взаємодіє з N-кінцевим доменом (1-282) GPIIb, де також розташовані частково перекриті, але не ідентичні сайти зв'язування з лейкоцитарним інтегрином $\alpha_M\beta_2$, α -тромбіном і Р-селектином. Цитоплазматичний домен GPIIb асоційований з білками філаміном, кальмодуліном і протеїном 14-3-3 ζ , які забезпечують зв'язок з наступними сигнальними молекулами, ключовою з яких є внутрішньоклітинна Src кіназа (Lyn), яка є першим елементом каскаду: Lyn $\rightarrow$ PI3K $\rightarrow$ Akt $\rightarrow$ eNOS ($\uparrow$ NO) $\rightarrow$ sGC ($\uparrow$ cGMP) $\rightarrow$ PKG $\rightarrow$ M APK. Роль NO і cGMP у процесі активації тромбоцитів двояка: низькі концентрації стимулюють цей процес, тоді як високі – навпаки інгібують. Ще одною мішенню дії фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K) є фосфоліпаза Cy2 (PL Cy2), яка викликає активацію протеїнкінази C (PKC). Наслідками активації сигналу ФВБ-GPIIb/IX/V є підвищення рівня цитоплазматичного Ca^{2+} , синтез тромбоксану A_2 (Tx A_2), секреція тромбоцитарних гранул і незалежна активація тромбоцитарного інтегринового рецептора $\alpha_{IIb}\beta_3$ [6,7]. Нові дослідження також показали, що комплекс GPIIb/IX/V тісно взаємодіє з іншими внутрішньоклітинними білками, важливими для клітинної сигналізації тромбоцитів, такими як FcR γ та Fc γ RIIA [8], сигналізації від яких буде детально розглянута нижче.

Порушення функціонування рецептора GPIIb/IX/V у людей може призвести до розвитку синдрому Бернара-Сульє – вродженої дистрофії тромбоцитів, що характеризується нездатністю останніх до агрегації і супроводжується крововиливами у шкіру, слизові оболонки, легені та нирки [9].

Після встановлення ролі комплексу GPIIb/IX/V у процесах адгезії і активації тромбоцитів даний рецептор та його ліганд (vWF) були визначені як можливі мішені дії антитромботичних агентів. Використання моноклональних антитіл специфічних як проти vWF [10], так і проти самого рецептора [13], що здатні блокувати сайти зв'язування vWF з субодиницею GPIIb, а також антагоністів комплексу GPIIb/IX/V, ізольованих із зміїної отрути [11,12] сьогодні розглядається як перспективний альтернативний напрямок антитромботичної терапії.

Початкова стадія адгезії тромбоцитів на судину стінку також вимагає взаємодії даних клітин з колагеном, який у великій кількості присутній у місцях травмування судини. Серед різних форм колагену лише I та III залучені до процесу адгезії тромбоцитів до місця пошкодження. Дані форми колагену мають спорідненість до vWF і, тим самим, здатні утворювати з ним функціональну одиницю, необхідну для формування тромбу: де vWF виконує функцію початкового захоплення і прикріплення тромбоцитів до судини, а колаген дозволяє

створити стабільні зв'язки для міцної адгезії і запуску активації тромбоцитів [14]. Механізм за яким колаген впливає на адгезію і активацію тромбоцитів ще не достатньо вивчений. На сьогодні відомо про існування щонайменше двох тромбоцитарних рецепторів, які можуть безпосередньо взаємодіяти з колагеном: один з них належить до родини імунoglobulin-подібних рецепторів – GPVI, інший – до родини інтегринів – $\alpha_2\beta_1$ (або GPIIb/IIIa). Комплекс GPIIb/IIIa головним чином підтримує зв'язок тромбоциту з колагеном, у той час як рецептор GPVI передає сигнал через мембрану всередину клітини для подальшої активації тромбоцита.

Глікопротеїн GPVI (62 кДа) – це виключно тромбоцитарний колагеновий рецептор, що має низьку афінність до колагену, але високу ефективність у генеруванні початкового сигналу. Даний рецептор містить два зовнішньоклітинні імунoglobulin-подібні домени; муцинзбагачену ділянку, що має численні сайти для O-глікозилювання; трансмембранний домен, який містить залишок аргініну, необхідний для утворення іонного зв'язку з γ -ланцюгом Fc-рецепторів (FcR γ); і короткий цитозольний хвіст. GPVI конститутивно формує димерні комплекси з FcR γ . Останні належать до імунорецепторів, що містять цитозольний пролін-збагачений домен, який може утворювати зв'язки з SH3-доменом Src кінази і тирозиновий активаційний мотив (ITAM), фосфорилування двох консервативних залишків тирозину в якому є обов'язковою умовою подальшої передачі сигналу в середину клітини. За умов зв'язування колагену або іншого специфічного ліганду з GPVI (даний рецептор розпізнає амінокислотну послідовність гліцил-пролін-оксипролін, Gly-Pro-Hyp, GPO [15]), цитозольні Src кінази (Lyn/Fyn) фосфорилують залишки тирозину у складі мотиву ITAM FcR γ -ланцюга, тим самим, активуючи наступні ланки сигнальної трансдукції. Центральне місце у цьому процесі належить формуванню сигналосоми, що складається з ряду сигнальних та адапторних білків (LAT, SLP76, Gads), які у подальшому активують фосфоліпазу C γ_2 (PL C γ_2). Ці події призводять до повної активації тромбоциту [16]. У геномодифікованих мишей з відсутнім GPVI рецептором або FcR γ -ланцюгом спостерігалось блокування відповіді тромбоцитів на колаген і зниження здатності до тромбоутворення [17,18].

У досліджах *in vivo* показано, що моноклональні антитіла до GPVI можуть інгібувати тромбози у експериментальних тварин без ефекту подовження часу кровотечі [19]. Такі результати можуть бути покладені в основу майбутніх досліджень і сприяти відкриттю нових підходів для клінічного використання GPVI у якості терапевтичної мішені.

Інтегрин $\alpha_2\beta_1$, що також відомий як GPIIb/IIIa, VLA-2, CD49b/CD29, виконує важливу роль в адгезії колагену до тромбоцитів і у подальшій їх активації. У пацієнтів із спадковим зниженням експресії інтегринів спостерігалася схильність до кровотеч і зниження відповіді тромбоцитів на дію колагену [20]. У *in vivo* дослідженнях механізму розвитку артеріального тромбозу у мишей дефіцитних на α_2 або β_1 субодиниці даного інтегрину було отримано суперечливі результати, які показали, як незмінне утворення тромбу [21], так і формування нестабільних або зменшених тромбів [22,23]. Останні дослідження показали, що механізм активації $\alpha_2\beta_1$ такий самий як і у інших інтегринів і включає взаємодію цитоплазматичного домену α_1 з внутрішньоклітинними білками таліном і кіндином-3 [24].

Таким чином, достовірно відомо, що $\alpha_2\beta_1$ і GPVI діють синергічно для оптимальної адгезії тромбоцитів і активації їх у відповідь на дію колагену. Участь цих рецепторів у динаміці формування тромбу залежить від

характеру ураження судин, швидкості кровотоку й інших, ще досі не встановлених, факторів. Незважаючи на це, доведено, що відсутність білків $\alpha_2\beta_1$ і GPVI в організмі людини, не пов'язано з розвитком основних дефектів системи гемостазу [20,25]. Необхідно зазначити, що регуляція активності колагенових рецепторів у даний час розглядається як напрям для розробки нової антитромботичної стратегії [26].

Отже, кінцевим результатом взаємодії ФФВ і колагену з відповідними рецепторами є активація тромбоцитів та їх адгезія до ендотелію, що призводить до утворення моношару тромбоцитів у місці ушкодження судинної стінки.

Фаза прогресування – рекрутування та активація додаткових тромбоцитів із кровотоку з подальшим збільшенням розмірів тромбу

Наступним етапом, необхідним для утворення тромбу, є залучення додаткових тромбоцитів з кровотоку, які при активації набувають здатності взаємодіяти один з одним. Власне цей процес і називають агрегацією тромбоцитів. Його реалізація стає можливою завдяки накопиченню у плазмі біологічно активних речовин-активаторів, які секретуються активованими тромбоцитами.

У цитозолі тромбоцитів розміщені α - і δ -гранули. α -Гранули містять білки необхідні для підтримання гемостатичних функцій тромбоцитів: vWF, фібриноген, Р-селектин, тромбоцитарний фактор 4, тромбоспондин, тромбоцитарний фактор росту. δ -Гранули багаті на нуклеотиди (АДФ та АТФ), серотонін, гістамін, пірофосфат і Ca^{2+} . При активації вміст гранул поетапно вивільняється і у подальшому сприяє активації і агрегації тромбоцита [27]. Саме серед компонентів тромбоцитарних гранул знаходяться основні агоністи тромбоцитарних рецепторів – АДФ, TxA_2 , тромбін і адреналін, що виконують першочергову функцію у процесі збільшення та стабілізації тромбу.

Джерелом АДФ можуть бути не лише δ -гранула тромбоцитів а й еритроцити у місцях пошкодження кровоносних судин. АДФ може спричиняти ряд послідовних реакцій активації, включаючи вивільнення Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо, синтез TxA_2 , зміну форми тромбоцитів, секрецію гранул, активацію рецепторів $\alpha_{IIb}\beta_3$ і власне агрегацію. Всі ці реакції опосередковуються взаємодією АДФ з мембранозв'язаними G-білок-асоційованими пуриновими рецепторами: P_2Y_1 і P_2Y_{12} . Дослідження на нокаутних мишах допомогли визначити різну але взаємодоповнюючу роль цих двох рецепторів у процесі формування тромбу [28].

Активация рецептора P_2Y_1 , через залучення зв'язаного з ним гетеротримерного гуанін-нуклеотидзв'язуючого білка Gq, призводить до стимуляції PL C β з послідовним підвищенням рівня цитозольного Ca^{2+} і активацією PK C, що, у свою чергу, викликає зміну форми тромбоцитів і їх тимчасову агрегацію. Наслідком активації рецептора P_2Y_{12} , який зв'язаний з білком Gi, є інгібування аденілатциклази, що призводить до зниження синтезу cAMP і подальшого обмеження активності протеїнкінази А (PKA), дефосфорилування вазодилатор стимульованого фосфопротеїну (VASP) і малих ГТФаз (Rap1B) – білків важливих для активації рецепторів $\alpha_{IIb}\beta_3$ [9]. Серед важливих сигнальних подій, опосередкованих P_2Y_{12} -рецепторами – активація PI3K, яка, модулює відкриття Ca^{2+} -каналів ендоплазматичного ретикулюму і вихід Ca^{2+} в цитозоль тромбоцитів.

Спираючись на результати різних досліджень, саме рецептори P_2Y_{12} були визнані основними у реалізації АДФ-залежної активації та агрегації тромбоцитів. Даний рецептор є ключовою мішенню дії тієнопіридинових медикаментозних засобів (клопідогрель, прасугрель,

тиклопіридин), які широко використовуються для запобігання і профілактики серцево-судинних захворювань [29]. Клінічні дослідження довели важливе фізіологічне значення цих рецепторів, що спонукало розглядати їх як ключову мішень впливу нових антитромботичних препаратів [29,30].

Окрім P_2Y_1 та P_2Y_{12} , на мембрані тромбоцитів експресується третій вид пуринових рецепторів – P_2X_1 , які також відіграють важливу роль у їх функціонуванні. P_2X_1 – це АТФ-залежний кальцієвий канал, який залучений до процесу агрегації тромбоцитів, а в умовах високого кров'яного тиску здатен виступати у ролі позитивного регулятора відповіді тромбоцитів на колаген і, тим самим, брати участь в утворенні тромбів. Результати досліджень показують, що препарати, націлені на P_2X_1 рецептори можуть бути ефективними антитромботичними засобами, в умовах високої швидкості кровотоку [30].

Іншим важливим медіатором агрегації і деградуляції тромбоцитів є TxA_2 – представник родини ейкозаноїдів, який синтезується активованими тромбоцитами під дією ферментів циклооксигенази (COX) і тромбоксансинтази. TxA_2 є вазоконстриктором і потужним агоністом агрегації тромбоцитів, може викликати зміну їх форми, активацію PL C, мобілізацію Ca^{2+} , секрецію гранул, активацію внутрішньоклітинних сигнальних та адапторних молекул, залучених до процесів клітинної активації та агрегації [31]. Після того, як TxA_2 синтезувався, він може дифундувати крізь мембрану тромбоцитів і активувати інші клітини, тим самим сприяти зростанню тромба. Підвищений синтез TxA_2 може бути фактором патогенезу тромботичних захворювань, у тому числі: інфаркту міокарда, стенокардії, тромбоемболії легеневої артерії та атеросклерозу [32]. На сьогоднішній день доведено, що інгібування синтезу TxA_2 є ефективним підходом у антитромботичній терапії. Одним із антиагрегаційних препаратів, ефективність якого перевірена та підтверджена результатами численних великомасштабних плацебо-контрольованих досліджень, є ацетилсаліцилова кислота (аспірин) [33, 34]. Даний нестероїдний протизапальний засіб необоротно зв'язується з активними центрами, локалізованими на стінці гідрофобного каналу молекули COX. Ацетилювання в активному центрі COX блокує транспорт арахідонової кислоти – субстрату для синтезу простагландинів і тромбоксанів, як наслідок, зменшується синтез циклічних ендоперексидів (PGH_2 і PGD_2), що є попередниками TxA_2 , а також знижується утворення простаглініна – речовини з вазодилатуючою і дезагрегаційною дією [35, 36]. Показано, що при застосуванні малих доз аспірину інгібується синтез лише TxA_2 (без блокади простаглініна), тоді як при дозі аспірину вище 160 мг порушується синтез і простаглініна. Тому в останні роки приймання аспірину рекомендовано у дозі, не більш 75 мг, у якій він інгібує агрегацію тромбоцитів без порушення синтезу простаглініна.

Рецептори до TxA_2 існують у двох сплайсингових варіантах ($TP\alpha$ і $TP\beta$), які відрізняються С-кінцевим цитоплазматичним доменом. Місця зв'язування ліганду – ідентичні для обох варіантів сплайсингу, але деякі дослідження свідчать про різні механізми взаємодії $TP\alpha$ і $TP\beta$ з внутрішньоклітинними G-білками [37,38]. У тромбоцитах людини, $TP\alpha$ – єдина ізоформа, хоча мРНК $TP\beta$ також присутня [38]. Встановлено, що тромбоцитарні TP асоційовані з білками G_q і $G_{12/13\alpha}$: стимуляція сигналу через G_q передбачає активацію сигнальних подій, подібних до тих що мають місце при активації P_2Y_1 (підвищення внутрішньоклітинного рівня IP_3 і Ca^{2+}), тоді як стимуляція сигналу через $G_{12/13\alpha}$ призводить до активації Rho ГТФаз, реорганізації актинового цитоскелету, що, усвою чергу, викликає зміни архітекtonіки кіль-

ця мікротрубочок, формування філоподії і ламеллоподії і, як наслідок, зміну форми тромбоциту [39].

Серед усіх індукторів тромбогенеза найбільш ефективним вважається тромбін, який, навіть, за дуже низьких концентрацій (0,1 нмоль/л) може за лічені секунди викликати підвищення цитозольного рівня Ca^{2+} у десятки разів, запускаючи низхідні сигнальні каскади, які призводять до зміни форми, секреції тромбоцитарних гранул та агрегації [9,40,41].

Утворення тромбіну вимагає протікання ряду реакцій на поверхні тромбоцитів, що асоційовані з теназним комплексом (фактор IXa у комплексі з фактором VIIa активують фактор X) і протромбіназним комплексом (фактор Xa у комплексі з Va активують фактор II) [42].

До тромбіну на поверхні тромбоцитів людини існує два види рецепторів: PAR-1 і PAR-4 [43]. Окрім того, субодиниця GPIIb/IIIa комплексу GPIIb/IX/V містить сайти зв'язування α -тромбіну [44]. Дослідження показують, що приєднання тромбіну до GPIIb викликає адгезію та агрегацію тромбоцитів, але остаточна роль такої взаємодії залишається нез'ясованою [44,45].

Рецептори PAR активуються шляхом незворотного протеолітичного розщеплення в межах першої зовнішньоклітинної петлі, а новоутворений позаклітинний N-кінець бере участь у взаємодії з лігандом [43]. Короткі синтетичні пептидоміметики N-термінальних послідовностей (SFLLR і GYPGQV для PAR-1 і PAR-4, відповідно) можуть безпосередньо активувати ці рецептори, відтворюючи більшість ефектів тромбіну на тромбоцити.

Встановлено існування відмінностей у динаміці активації PAR-1 і PAR-4. Так, була запропонована модель подвійної рецепторної сигналізації, згідно якої: PAR-1 є основним медіатором активації (активується за низької концентрації тромбіну), а PAR-4 відіграє роль резервного рецептора (активується за високої концентрації тромбіну). Після зв'язування з рецептором тромбін "отримує доступ" до активації основної мережі сигнальних шляхів тромбоцитів, тим самим, викликаючи повну мобілізацію тромбоцитів [43].

Різноманіття ефектів при активації PAR-1 пов'язане з участю кількох різновидів G-білків, асоційованих з різними внутрішньоклітинними кінзазами. На сьогодні достовірно не встановлені фактори, що спонукають перебіг сигнальної трансдукції тим чи іншим шляхом. Ключовою подією в реалізації проагрегантного ефекту PAR є мобілізація Ca^{2+} . Встановлено, що мобілізація Ca^{2+} , опосередкована рецептором PAR-4, повільніша і довго триваліша, ніж у відповідь на стимуляцію PAR-1 [46]. Окрім класичних ефектів стимуляції G-асоційованих рецепторів: зміни форми тромбоцитів, секреції тромбоцитарних гранул, взаємозв'язок тромбіну і PAR-1 веде до транслокації P-селектину і ліганду CD40 на плазматичну мембрану, що підсилює зв'язок між тромбоцитами і ендотелієм [47]. Описано також посилення утворення інших факторів, зокрема ендотеліального фактора росту судин (VEGF), який запускає ініціацію ангіогенезу.

Зважаючи на важливу роль у підтриманні гемостазу та процесі тромбоутворення, рецептори PAR є потенційною мішенню для створення нових антитромботичних препаратів [48].

Не можна не згадати про внесок катехоламінів у регуляції системи гемостазу та процесу тромбоутворення, який реалізується як через їх констрикторну дію на судинну стінку, так і через безпосередній вплив на тромбоцити. Так, адреналін, що циркулює або локально секретується у судині, сприяє активації тромбоцитів у зростаючому тромбі. Адреналін вважається слабким агоністом, який може активувати PL C і викликати зміну форми

тромбоцитів. Тим не менш, він діє синергічно з багатьма іншими агоністами і при низьких концентраціях посилює їх ефект. Дія адреналіну на тромбоцити пов'язана з його здатністю пригнічувати утворення cAMP, що можливо за рахунок активації сигналу через α_2 A-адренергічні рецептори, що асоційовані з цитозольним білком родини Gi – Gz [49]. Нещодавні дослідження показали, що зміна рівня експресії α_2 A-адренергічних рецепторів під дією таких факторів як вік, фізичні навантаження або наявність патологічних порушень, може бути пов'язана зі змінною чутливості до адреналіну [50].

Отже, ключовим результатом процесу агрегації тромбоцитів є збільшення тромбу який на наступних етапах потребує стабілізації.

Фаза стабілізації – молекулярний каскад, що запобігає спонтанній дезагрегації

Останній етап у формуванні тромбу, який перешкоджає втраті крові у місці пошкодження судини, називається фазою стабілізації. Агреговані тромбоцити, в межах сформованої тромбоцитарної пробки, утворюють щільні контакти. Події останньої фази зміцнюють утворений тромб і перешкоджають його передчасній дезагрегації.

Найбільш поширена контакт-залежна сигналізація під час фази стабілізації – це внутрішньоклітинна сигналізація через інтегринові рецептори, ключовим з яких є рецептор $\alpha_{IIb}\beta_3$. Активація $\alpha_{IIb}\beta_3$ -інтегринів потребує ініціації усіх вище перерахованих сигнальних подій, включаючи активацію однієї або декількох ізоформ PL C, підвищення рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+} , стимуляцію PK C і PI3K, що викликають реорганізацію цитоскелету тромбоцитів і активацію його білків, включаючи талін [51, 52]. Активовані талін може зв'язуватися із цитоплазматичним доменом $\alpha 3$ -субодиниці інтегринів, викликаючи дисоціацію цитоплазматичного хвоста і трансмембранного домену α_{IIb} і β_3 , що сприяє олігомеризації інтегринів і зв'язування фібриногену. Модуляція афінності $\alpha_{IIb}\beta_3$ можлива через Rap-1-RIAM-талінсигнальний комплекс [39]. Тригером активації β -інтегринів та її зв'язку з таліном є білок кіндлін-3. Дефект експресії інтегринів лежить в основі розвитку синдрому ледачих лейкоцитів і кровотеч за типом Гланцмана. Ці захворювання можуть бути пов'язані з дефектом активності або експресії Rap-1 або кіндлін-3. В активації $\alpha_{IIb}\beta_3$ -інтегрина рецепторів також бере участь протеїнкіназа Akt-1. Даний трансдуктор також забезпечує реалізацію сигналу, що запускається тромбіном і колагеном [53].

Після зв'язування фібриногену з $\alpha_{IIb}\beta_3$ рецептором ініціюється ряд послідовних подій, необхідних для росту та стабілізації тромбу. Вони включають реорганізацію цитоскелету, формування та стабілізацію великих агрегатів тромбоцитів і розвиток прокоагулянтної поверхні. Це допомагає зменшити проміжки між тромбоцитами і збільшити концентрацію агоністів [16,40]. Сьогодні рецептор $\alpha_{IIb}\beta_3$ використовують як терапевтичну мішень впливу під час антитромботичної терапії та у лікуванні стенокардії. Дослідження функціонування цього рецептора та механізму його дії продовжується, що пояснюється необхідністю вдосконалення існуючих на даний час лікарських засобів [40].

Інтегрини не єдині молекули, що беруть участь у стабілізації тромбу. Експресія молекул адгезії (JAM-A і JAM-C) посилює і стабілізує взаємодію між сусідніми тромбоцитами та тромбоцитами і лейкоцитами [54]. Схожу функцію виконує молекула адгезії SLAM (CD150).

Ліганд CD40 (CD40L, CD154), білок сімейства TNF, що присутній на поверхні активованих тромбоцитів, також є важливим у процесі зміцнення тромбу. Цей білок утворює розчинну форму – sCD40L, яка може

зв'язуватися з рецептором CD40 та $\alpha_{IIb}\beta_3$, забезпечуючи внутрішньоклітинну сигналізацію через інтегрини [55].

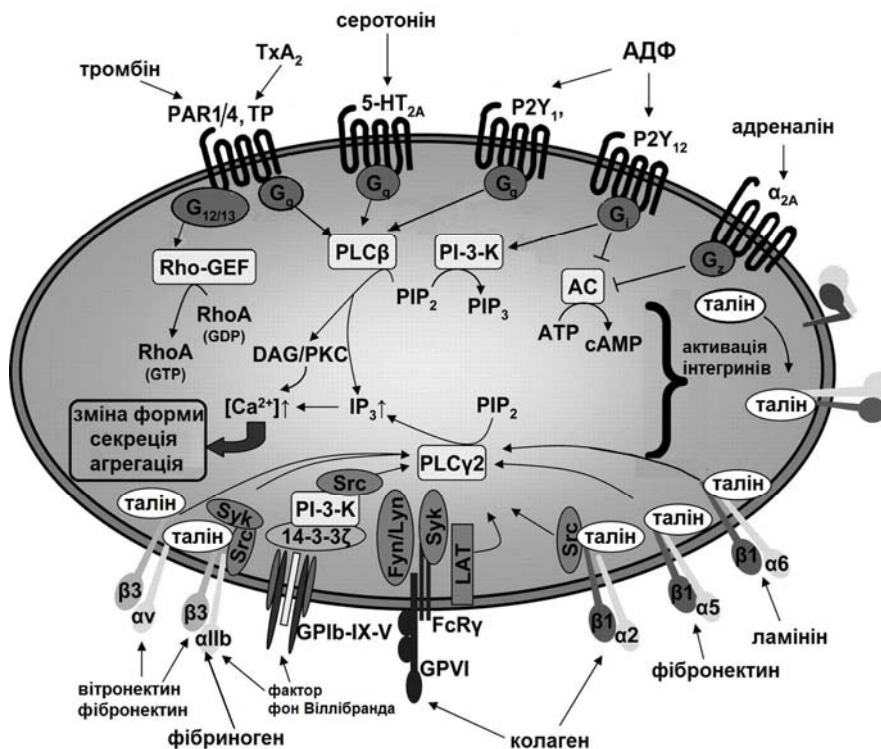
Рецепторні тирозинкінази Eph та їх ліганди, відомі як ефрини, забезпечують інший механізм сигналізації, який сприяє утворенню прямих контактів між тромбоцитами [54,56]. Тромбоцити людини експресують EphA4, EphB1 і ефрин В, які асоційовані з $\alpha_{IIb}\beta_3$ як у неактивних, так і у активованих тромбоцитах. Кластеризація обох і EphA4 і EphB1 викликає адгезію тромбоцитів до іммобілізованого фібриногену. На відміну від цього, блокада взаємодії Eph-ефрин перешкоджає утворенню згустку через ускладнення фосфорилування β_3 у комплексі $\alpha_{IIb}\beta_3$. Це перешкоджає агрегації тромбоцитів при низьких концентраціях агоністів.

Додаткові взаємодії, що сприяють регуляції утворення тромбу, зумовлені приєднанням лігандів семафорин 4D (Sema4D, CD100) і Gas-6 до відповідних тромбоцитарних рецепторів [56,57]. Біохімічні дослідження показали, що Gas-6 посилює передачу сигналів через $\alpha_{IIb}\beta_3$ шляхом активації PI3K і протеїнкінази Akt, а також сприяє фосфорилуванню β_3 , тим самим сприяючи ущільненню згустку. Тому, інгібування сигналізації у відповідь на дію Gas-6 було запропоновано як перспективний напрямок для пошуку та створення нових антитромботичних засобів [26].

До останніх подій, які сприяють стабілізації тромбу, відносять формування фібринової мережі. Нещодавні дослідження показали, що її утворення, залежить від мікрочастинок, які захоплюються тромбом шляхом взаємодії з Р-селектином, який експресується на поверхні активованих тромбоцитів, і PSGL-1, присутнього на цих мікрочастинках [58].

Однак, механізм стабілізації тромбу залишається не вивченим до кінця, а список молекул, які беруть участь у цьому процесі постійно зростає [59].

Отже, як зрозуміло з вищезазначеного, протягом останніх декількох років спостерігається значний прогрес у розумінні механізмів функціонування системи гемостазу. На даний час, існує достатньо доказів того, що тромбоцитам належить першочергова роль на всіх етапах динамічного процесу тромбоутворення. Тромбоцитарні рецептори та внутрішньоклітинні білки та небілкові сигнальні молекули діють злагоджено з речовинами судинного ендотелію і факторами згортання крові, зумовлюючи прикріплення тромбоцитів до пошкодженої судинної стінки та сприяючи зростанню тромбоцитарної пробки, шляхом залучення та об'єднання нових тромбоцитів. Але межа між фізіологічною підтримкою гемостазу і патологічним тромбозом дуже вузька. Усвідомлення того, що тромбоцити відповідальні за розвиток атеротромботичних захворювань, стрімке зростання смертності від яких займає передове місце у сучасному світі, спонукає дослідників до розгляду їх, як основної мішені впливу антитромботичних агентів. Однак, чисельні клінічні дослідження показали, що застосування сучасних лікарських засобів, для боротьби з цими недугами, часто супроводжується побічними ефектами, такими як резистентність до їх дії, підвищений ризик неконтрольованої кровотечі, а також розвиток серйозних системних ускладнень, що поряд з високою вартістю таких медикаментів нашоюхує на необхідність проведення подальших досліджень щодо пошуку нових більш ефективних та безпечних антитромбоцитарних препаратів. Тому, проведення подальших досліджень, направлених на вивчення функціонування тромбоцитів є дуже важливим на сьогоднішній день. Застосування отриманих результатів наразі є перспективним для розробки нових лікарських препаратів та терапевтичних підходів для перешкоджання небажаного накопичення тромбоцитів і попередження патологічних тромбозів.



Основні тромбоцитарні рецептори та їх сигнальні шляхи, залучені до процесів адгезії, активації та агрегації тромбоцитів

Скорочення: G_q , $G_{12/13}$, $G_{12/13}$ – GTP-зв'язуючі білки, AC – аденілатциклаза, DAG – диацилгліцерол, IP_3 – інозитол-1,4,5-трифосфат, PI-3-K – фосфоінозитол-3-кіназа, PIP_2 – фосфатидилінозитол-4,5-біфосфат, PIP_3 – фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфат, PKC – протеїнкіназа C, PLC β / γ 2 – фосфоліпаза C β / γ 2, Rho – специфічний гуанінуклеотид-обмінний фактор, PAR-1, PAR-4 – рецептори для тромбіну, P_2Y_1 і P_2Y_{12} – рецептори для АДФ, TP – рецептор для тромбосану A_2 , $5-HT_{2A}$ – рецептор для серотоніну, α_2A – адренергічний рецептор для адреналіну, cAMP – циклічний аденозинмонофосфат, ATP – аденозинтрифосфат, LAT – трансмембранний адапторний протеїн, лінкер для активації T-клітин, Lyn, Syk, Src, Fyn – внутрішньоклітинні тирозинпротеїнкінази, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha IIb\beta_3$, $\alpha V\beta_3$ – інтегринові рецептори, GPIb/IX/V – рецептор для фактора фон Віллібранда, GPVI – колагеновий рецептор, Fc γ R – γ -ланцюг Fc-рецептора.

Список використаних джерел

1. Струкова С.М. Современные представления о механизмах свертывания крови // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – 2002. – № 1. – С. 44.
2. Lenting P.J., Casari C., Christophe O.D., Denis C.V. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2012. – Vol. 10, № 12. – P. 2428-2437. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.12008/pdf>
3. Meyer D. Von Willebrand factor: structure and function / Meyer D., Girma J.P. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 1993. – Vol. 70, № 1. – P. 99-104. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025619612623945>
4. Rivera J. Platelet GP Ib/IX/V complex: physiological role / Rivera J., Lozano M.L., Corral J., et al. // Journal of Physiology and Biochemistry. – 2000. – Vol. 56. – P. 355-365. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF03179804#page-1>
5. Luo S.Z. Glycoprotein Ibalph forms disulfide bonds with 2 glycoproteins Ibbeta subunits in the resting platelets / Luo S.Z., Mo X., Afshar Kharaghan V., et al. // Blood. – 2001. – Vol. 109, № 603. – P. 3-9. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/109/2/603.full.pdf>
6. Ozaki Y. Platelet GPIb/IX/V dependent signaling / Ozaki Y., Asazuma N., Berndt M.C., et al. // Thromb Haemost. – 2005. – Vol. 3, № 1745. – P. 45-51. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2005.01379.x/full>
7. Du X. Signaling and regulation of the glycoprotein Ib/IX/V complex // Current Opinion in Hematology. – 2007. – Vol. 14. – P. 262-269. Available at: http://journals.lww.com/co-hematology/Abstract/2007/05000/Signaling_and_regulation_of_the_platelet.14.aspx
8. López J.A. Receptors, rafts, and microvesicles in thrombosis and inflammation / López J.A., del Conde I., Shrimpton C.N. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2005. – Vol. 3, № 1737. – P. 44-55. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2005.01463.x/full>
9. Jackson S.P. Signaling event underlying thrombus formation / Jackson S.P., Nesbitt W.S., Kulkarni S. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2003. – Vol. 1. – P. 1602-1612. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1538-7836.2003.00267.x/full>
10. Yamamoto H. Antagonism of vWF inhibits both injury induced arterial and venous thrombosis in the hamster / Yamamoto H., Vreys I., Stassen J.M., et al. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 1998 –

Vol. 79, № 202. – P. 210 – 227. Available at: <http://th.schattauer.de/en/contents/archive/issue/909/manuscript/4388.html>

11. Chang M.C. Antithrombotic effect of crotalin, a platelet membrane glycoprotein Ib antagonist from venom of *Crotalus atrox* / Chang M.C., Lin H.K., Peng H.C., Huang T.F. // Blood. – 1998. – Vol. 91, № 1582 – P. 1589-1595. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/91/5/1582.long?ssoc-checked=true>

12. Yeh C.H. Pharmacological characterization and antithrombotic effect of agkistin, a platelet glycoprotein Ib antagonist / Yeh C.H., Chang M.C., Peng H.C., Huang T.F. // British Journal of Pharmacology. – 2001 – Vol. 132, № 843. – P. 843-850. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1572615/>

13. Antithrombotic effect of platelet glycoprotein Ib-blocking monoclonal antibody Fab fragments in nonhuman primates / Cauwenberghs N., Meiring M., Vauterin S., et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2000. – Vol. 20, № 1347. – P. 1353-1365. Available at: <http://atvb.ahajournals.org/content/20/5/1347.long>

14. Savage B. Influence of fibrillar collagen structure on the mechanisms of platelet thrombus formation under flow / Savage B., Ginsberg M.H., Ruggeri Z.M. // Blood. – 1999. – Vol. 94, № 2704. – P. 2-15. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/94/8/2704.long>

15. Knight C.G. Collagenplatelet interaction: Gly-Pro-Hyp is uniquely specific for platelet GpVI and mediates platelet activation by collagen / Knight C.G., Morton L.F., Onley D.J. et al. // Cardiovascular Research. – 1999. – Vol. 41. – P. 450-457. Available at: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/41/2/450>

16. Watson S.P. GPVI and integrin IIb3 signaling in platelets / Watson S.P., Auger J.M., McCarty O.J., et al. // The Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2005. – Vol. 3, № 1752. – P. 62-73. Available at: <http://atvb.ahajournals.org/content/27/2/422.full.pdf>

17. The contribution of glycoprotein VI to stable platelet adhesion and thrombus formation illustrated by targeted gene deletion / Kato K., Kanaji T., Russell S., et al. // Blood. – 2003. – Vol. 102, № 1701. – P. 1-7. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/102/5/1701.full.pdf?ssoc-checked=true>

18. Poole A. The Fc receptor gammachain and the tyrosine kinase Syk are essential for activation of mouse platelets by collagen / Poole A., Gibbins J.M., Turner M., et al. // The EMBO Journal. – 1997. – Vol. 16, № 2333.

- P. 41-49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1169834/>
19. The Fab fragment of a novel antiGPVI monoclonal antibody, OM4, reduces in vivo thrombosis without bleeding risk in rats / Li H., Lockyer S., Concepcion A., et al. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*– 2007. – Vol. 27, № 1199. – P. 205-214. Available at: <http://atvb.ahajournals.org/content/27/5/1199.full.pdf>
20. Nieuwenhuis H.K. Human blood platelets showing no response to collagen fail to express surface glycoprotein Ia / Nieuwenhuis H.K., Akkerman J.W., Houdijk W.P., Sixma J.J. // *Nature*. – 1985. – Vol. 318, № 470. – P. 2-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2933589>
21. Grüner S. Multiple integrinligand interactions synergize in shear-resistant platelet adhesion at sites of arterial injury in vivo / Grüner S., Prostedra M., Schulte V., et al. // *Blood* – 2003. – Vol. 102, № 4021. – P. 1-7. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/102/12/4021>
22. He L. The contributions of the alpha2 beta1 integrin to vascular thrombosis in vivo / He L., Pappan L.K., Grenache D.G., et al. // *Blood*. – 2003. – Vol. 102. – P. 3652-3657. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/102/10/3652>
23. Kuijpers M.J., Pozgajova M., Cosemans J.M., et al. Role of murine integrin alpha2beta1 in thrombus stabilization and embolization: contribution of thromboxane // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 98, № 1072. – P. 80. Available at: http://www.researchgate.net/profile/Judith_Cosemans/publication/5845620_Role_of_murine_integrin_alpha2beta1_in_thrombus_stabilization_and_embolization_contribution_of_thromboxane_A2/links/02e7e5228df3a2cd19000000.pdf
24. Cosemans J.M. Multiple ways to switch platelet integrins on and off / Cosemans J.M., Iserbyt B.F., Deckmyn H., Heemskerk J.W. // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2008. – Vol. 6, № 1253. – P. 9-16. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1538-7836.2008.03041.x/asset/j.1538-7836.2008.03041.x.pdf?v=1&t=iaief61ce&s=bae7ddb11592513c86bb26f678d68459f7135d08>
25. Arthur J.F. Platelet glycoprotein VI related clinical defects / Arthur J.F., Dunkley S., Andrews R.K. // *The Journal of Haematology*. – 2007. – Vol. 139. – P. 363-372. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1365-2141.2007.06799.x/asset/j.1365-2141.2007.06799.x.pdf?v=1&t=iaief61ce&s=b752ed100b8d0249e819c7c81f72f76dc87ed47b>
26. Future innovations in antiplatelet therapies / Barret N.E., Jones L., Kaiser W.J., et al. // *British Journal of Haematology*. – 2008. – Vol. 154, № 918. – P. 39-47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2451055/>
27. George J.N. Platelets // *Lancet*. – 2000. – Vol. 355. – P. 1531-1539. Available at: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(00\)02175-9/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(00)02175-9/abstract)
28. Jirouskova A. A guide to murine platelet structure, function, assays, and genetic alterations / Jirouskova M., Sheet A.S., Johnson G.J. // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 5. – P. 661-669. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1538-7836.2007.02407.x/asset/j.1538-7836.2007.02407.x.pdf?v=1&t=iaief61ce&s=dff460e5324f0d4c31253047936daf4633ac52e>
29. Future innovations in antiplatelet therapies / Barret N.E., Jones L., Kaiser W.J., et al. // *British Journal of Pharmacology*. – 2008. – Vol. 154. – P. 918-939. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2451055/>
30. Gachet C. P2 receptors, platelet function and pharmacological implications // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2008. – Vol. 9 – P. 466-472. Available at: <http://th.schattauer.de/en/contents/archive/issue/special/manuscript/9466/download.html>
31. Nakahata N. Thromboxane A2: physiology/pathophysiology, cellular signal transduction and pharmacology // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2008. – Vol. 118 – P. 18-35. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725808000120?via%3Dihub>
32. Niccoli G. Plasma levels of thromboxane A2 on admission are associated with no-reflow after primary percutaneous coronary intervention / Niccoli G., Giubilato S., Russo E., et al. // *European Heart Journal*. – 2008. – Vol. 29. – P. 1843-1859. Available at: <http://circ.ahajournals.org/content/120/1/e4.full.pdf>
33. Dai Y. Clinical use of aspirin in treatment and prevention of cardiovascular disease / Dai Y., Ge J. // *Thrombosis*. – 2012. – Vol. 24, № 3. – P. 245-267. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3236445/>
34. Hennekens C.H. Update on aspirin in the treatment and prevention of cardiovascular disease // *The American Journal of Managed Care*. – 2002. – Vol. 8, № 22. – P. 691-700. Available at: <http://www.ajmc.com/journals/supplement/2002/2002-12-vol8-n22Suppl/Dec02-90pS691/>
35. Schrör K. Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 1997. – Vol. 23, № 4. – P. 349-356. Available at: <https://www.thieme-connect.com/DOI/DOI?10.1055/s-2007-996108>
36. Weir M.R. Selective COX-2 inhibition and cardiovascular effects: a review of the rofecoxib development program / Weir M.R., Sperling R.S., Reicin A., Gertz B.J. // *American Heart Journal*. – 2003. Vol. 146, № 4. – P. 591-604. Available at: [http://www.ahajonline.com/article/S0002-8703\(03\)00398-3/pdf](http://www.ahajonline.com/article/S0002-8703(03)00398-3/pdf)
37. Meadows T.A. Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation / Meadows T.A., Bhatt D.L. // *Circulation Research*. – 2007. – Vol. 100. – P. 1261-1320. Available at: <http://circres.ahajournals.org/content/100/9/1261.full.pdf>
38. Huang J.S. Cell signaling through thromboxane A2 receptors / Huang J.S., Ramamurthy S.K., Lin X., Le Breton G.C. // *Cellular Signalling*. – 2004. – Vol. 16. – P. 521-533. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898656803002201?via%3Dihub>
39. Brass L. Understanding and evaluating platelet function // *American Society of Hematology. The Education Program of the American Society of Hematology* 2010. – 2010. – P. 387-396. Available at: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2010/1/387.long>
40. Woulfe D., Yang J., Prevost N., et al. Signaling receptors on platelets and megakaryocytes // *Methods in Molecular Biology*. – 2004. – Vol. 273, № 3. – P. 2-31. Available at: <http://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-783-1:003#page-1>
41. Lane D.A. The central role of thrombin in hemostasis // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 5. – P. 95-101. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2007.02500.x/pdf>
42. Bonello L. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate / Bonello L., Tantry U.S., Marcucci R. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – Vol. 56. – P. 919-933. Available at: http://ac.els-cdn.com/S0735109710024733/1-s2.0-S0735109710024733-main.pdf?_tid=8ef68c3e-0abe-11e5-9a11-00000a0f02&acdnat=1433425105_69f1539b7a01bfff04965fa9e5a611
43. Coughlin S.R. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2005. – Vol. 3 – P. 1800-1814. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2005.01377.x/pdf>
44. Mazzucato M. Characterization of the initial alphathrombin interaction with glycoprotein Ib alpha in relation to platelet activation / Mazzucato M., Marco L.D., Masotti A., et al. // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1998. – Vol. 273 – P. 1880-1887. Available at: <http://www.jbc.org/content/273/4/1880.long>
45. Adam F. Glycoprotein Ib mediated platelet activation. A signaling pathway triggered by thrombin / Adam F., Guillin M.C., Jandrot-Perrus M. // *Biochemistry*. – 2003. – Vol. 270 – P. 2959-2970. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1432-1033.2003.03670.x/pdf>
46. Covic L. Biphasic kinetics of activation and signaling for PAR1 and PAR4 thrombin receptors in platelets / Covic L., Gresser A.L., Kuliopulos A. // *Biochemistry*. – 2000. – Vol. 39. – P. 5458-5467. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi9927078>
47. Leslie M. Cell biology. Beyond clotting: the powers of platelets // *Science*. – 2010. – Vol. 328. – P. 562-564. Available at: <http://www.sciencemag.org/content/328/5978/562.full>
48. Discovery of a novel orally active himbacin-based thrombin receptor antagonist (SCH 530348) with potent antiplatelet activity / Chackalamani S., Wang Y., Greenlee W.J., et al. // *Journal of Medical Chemistry*. – 2008. – Vol. 51. – P. 3061-3064. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jm800180e>
49. Loss of signaling through the G protein, Gz, results in abnormal platelet activation and altered responses to psychoactive drugs / Yang J., Wu J., Kowalska M.A., et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2000. – Vol. 97. – P. 9984-9989. Available at: <http://www.pnas.org/content/97/18/9984.full>
50. Kaywin P. Platelet function in essential thrombocythemia. Decreased epinephrine responsiveness associated with a deficiency of platelet adrenergic receptors / Kaywin P., McDonough M., Insel P.A., Shattil S.J. // *Medicine*. – 1978. – Vol. 299. – P. 505-509. Available at: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM197809072991002>
51. Cosemans J. Continuous signaling via PI3K isoforms β and γ is required for platelet ADP receptor function in dynamic thrombus stabilization / Cosemans J., Munnix I., Wetzker R. // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2006. – Vol. 108. – P. 3045-3052. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/108/9/3045.full.pdf>
52. Varga-Szabo D. Calcium signaling in platelets / Varga-Szabo D., Braun Nieswandt A. // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2009. – Vol. 7. – P. 1057-1066. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2009.03455.x/full>
53. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation van / Breet N.J., Werkum J.W., Bouman H.J. et al. // *Journal of the American Medical Association*. – 2010. – Vol. 303. – P. 754-762. Available at: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=185434>
54. Brass L.F. Novel therapeutic targets at the platelet vascular interface / Brass L.F., Zhu L., Stalker T.J. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28. – P. 43-50. Available at: <http://atvb.ahajournals.org/content/28/3/s43.full.pdf+html>
55. Platelet CD40 ligand (CD40L) subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel / Hermann A., Rauch B.H., Braun M., Schrör K., Weber A.A. // *Platelets*. – 2001. – Vol. 12. – P. 74-82. Available at: <http://informahealthcare.com/doi/pdf/10.1080/09537100020031207>
56. Prevost N. Eph kinases and ephrins support thrombus growth and stability by regulating integrin outside-in signaling in platelets / Prevost N., Woulfe D.S., Jiang H., et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2005. – Vol. 102. – P. 9820-9825. Available at: <http://www.pnas.org/content/102/28/9820.full>
57. Regulated surface expression and shedding support a dual role for semaphorin 4D in platelet responses to vascular injury / Zhu L., Bergmeier W., Wu J., et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2007. – Vol. 104. – P. 1621-1626. Available at: <http://www.pnas.org/content/104/5/1621.full>

58. Falati S. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin / Falati S., Liu Q., Gross P., et al. // The Journal of Experimental Medicine. – 2003. – Vol. 197. – P. 1585-1598. Available at: <http://jem.rupress.org/content/197/11/1585.full.pdf+html>

59. Herrera-Galeano J.E. A novel variant in the platelet endothelial aggregation receptor-1 gene is associated with increased platelet aggregability / Herrera-Galeano J.E., Becker D.M., Wilson A.F., et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2008. – Vol. 28. – P. 1484-1490. Available at: <http://atvb.ahajournals.org/content/28/8/1484.full.pdf+html>

Надійшла до редколегії 03.12.15

И. Николаева, студ., Т. Галенова, канд. биол. наук, А.Савчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ТРОМБОЦИТАРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ТРОМБА

Исследование молекулярно-биологических аспектов функционирования тромбоцитов, с использованием биохимических методов, новейших технологий клеточной и молекулярной биологии, стали основой для понимания сигнальных каскадов регулирующих активацию, адгезию и агрегацию этих клеток. В данном обзоре обобщены современные представления о роли мембранных рецепторов тромбоцитов в процессах физиологического и патологического формирования тромба, проанализирована возможная роль тромбоцитарных рецепторов в качестве мишени действия антиагрегационных агентов, определены новые перспективные направления поиска эффективных и специфических антитромботических препаратов.

Ключевые слова: тромбоциты, мембранные рецепторы, процесс тромбообразования, агрегация.

I. Nikolaeva, stud., T. Halenova, PhD, O. Savchuk, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

MODERN CONCEPTIONS OF THE ROLE OF PLATELET RECEPTORS IN THE DYNAMICS OF THROMBUS FORMATION

The study of molecular and biological aspects of the platelets functioning with the use of biochemical methods, new technologies of cell and molecular biology became the basis for understanding signaling cascades regulating the activation, adhesion and aggregation of these cells. In this review, the general modern information of the role of platelet membrane receptors in physiological and pathological processes of thrombus formation was performed. The possible role of platelet receptors as target of antiaggregatory agents was analyzed. Also, new promising areas of searching for effective and specific antithrombotic agents were identified.

Key words: platelets, membrane receptors, the process of thrombosis, aggregation.

УДК 577.122.8

О. Харченко, канд. биол. наук, О. Савчук, д-р биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

АНАЛІЗ ЗМІН БІЛКОВОГО ПРОФІЛЮ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ДЛЯ ДІАГНОСТУВАННЯ РОЗВИТКУ ДАНОГО ПАТОЛОГІЧНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ

В огляді проаналізовано існуючі на сьогодні біомаркери, які дозволяють виявити хронічне зловживання алкоголем, а саме: вуглевод-дефіцитний трансферин, активності ГГТ, АлАТ, АсАТ, β-ГКА; індекс сіалова кислота – Апо J, рівень циркулюючих цитокінів (TNF-α, IL-1 і IL-6), α-1- та α-2-глобулінів, сироваткового амілоїду A4, фібронектину та ін. На сьогодні результати дослідження протеому в організмі осіб, що зловживають алкоголем, містять значну кількість артефактів у зв'язку з подвійним зловживанням іншими речовинами (наприклад, кокаїном, тютюном), специфічним дефіцитом харчування, наявністю дисфункції органів. Підсумовуючи проведений аналіз наукової літератури можна засвідчити недостатню кількість досліджень, які стосуються змін протеому на різних етапах розвитку алкогольної інтоксикації. Важливим завданням є виявлення біомаркерів, які б дозволили вимірювати рівень споживання алкоголю шляхом виявлення пошкодження тканин або інших фізіологічних реакцій на зловживання алкоголем протягом тривалого часу. Стратегії пошуку біомаркерів алкоголізму повинні включати ідентифікацію білків, кількість яких відрізняється у алкоголіків і не-алкоголіків. Розшифровка індивідуального протеому, ймовірно, буде частиною розвитку персоналізованої медицини майбутнього.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, протеом.

Етанол належить до переліку небагатьох нутрієнтів, які володіють значною токсичною дією. Відомим фактом є те, що прогнози стосовно клінічного перебігу і кінцевого результату алкогольної хвороби печінки є досить невтішними. Дійсно, в проспективному дослідженні 280 пацієнтів з алкогольним ураженням печінки, було виявлено, що протягом 48 місяців спостереження, більше половини з тих, у кого діагностували цироз печінки, і дві третини тих, у кого був цироз з алкогольним гепатитом, померли. Подібний рівень смертності є більшим, ніж за умов багатьох видів онкозахворювань, але, на жаль, викликає набагато менше заклопотаності, як серед громадськості, так і медичних працівників [1]. Така позиція може відображати, щонайменше частково, спільну думку щодо неспроможності глобального вирішення цієї проблеми. Але, треба визнати, що подолання алкогольної залежності та її наслідків, так як і ранньої її діагностики для більш оптимістичних прогнозів лікування, є одним з найважливіших питань охорони здоров'я.

Хоча гостре споживання алкоголю може бути легко виявлене за допомогою вимірювання вмісту етанолу в

крові і у видихуваному повітрі, цей вимір не дає ніяких уявлень стосовно паттернів хронічного вживання алкоголю, які безпосередньо пов'язані з діагнозом алкогольної залежності [2, 3]. Крім того, кількісні біомаркери, які б дозволили однозначно оцінити споживання алкоголю в ретроспективі через кілька днів або тижнів залишаються загалом невідомими [3, 4]. В даний час, використовувані в клініці біомаркери, які дозволяють виявити хронічне зловживання алкоголем, включають як небілкові – середній корпускулярний об'єм еритроцита, етиловий глюкуронід, 5-гідрокситриптофол, так і білкові – вуглевод-дефіцитний трансферин, γ-глутаміл трансферази. Жоден з цих маркерів не забезпечує точної діагностики хронічної алкогольної інтоксикації, оскільки вони мають малу специфічність і можуть змінюватися при хворобах неалкогольного походження [2]. Враховуючи ці недоліки існує гостра потреба в розробці більш чутливих і специфічних маркерів зловживання алкоголем. Останні досягнення в галузях геноміки, протеоміки та метаболоміки значно розширюють можливості для їх відкриття.