

КЛАСТЕРИЗАЦИЯ ITAM-СОДЕРЖАЩИХ РЕЦЕПТОРОВ КАК ЛИМИТИРУЮЩАЯ СТАДИЯ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

Мартьянов А.А., Гарсон-Дасгупта А.К., Пантелеев М.А., Свешникова А.Н.

ИБХФ РАН им. Эммануэля, Россия, 119334, гор. Москва, ул. Косыгина 4; 2. МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Россия, 119991, гор. Москва, Ленинские горы 1 стр. 2; НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д.1.; 3 ЦТП ФХФ РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина 4

Тромбоциты – безъядерные клетки крови, отвечающие за остановку кровотечения при повреждении артерий и артериол. Сложная система внутриклеточной сигнализации, позволяет тромбоцитам быстро активироваться и эффективно предотвращать кровотечение. Первичная активация тромбоцитов при контакте с коллагеном – компонентом сосудистой стенки, обнажающимся при повреждении, - происходит через ITAM-содержащий рецептор GPVI. Другим ITAM-содержащим рецептором на тромбоцитах является рецептор CLEC-2, необходимый для предотвращения смещения крови и лимфы. Участие обоих рецепторов было показано при формировании злокачественных опухолей.

Целью настоящего исследования являлась идентификация скорость-лимитирующих стадий в процессе активации тромбоцитов через ITAM-содержащие рецепторы.

Работа проводилась методами математического моделирования и экспериментального исследования активации тромбоцитов проточной цитофлуориметрией и флуоресцентной микроскопией. В основе модели была система обыкновенных дифференциальных уравнений. При связывании CLEC-2 и GPVI с лигандами происходит кластеризация рецепторов. Кластеризация была использована полной моделью, описывающая поведение концентраций кластеров рецепторов всех размеров, а также упрощённой моделью, описывающей изменение концентраций отдельных и кластеризованных рецепторов. Обе модели кластеризации описывали экспериментальные данные. При кластеризации рецепторов происходит активация каскада тирозинкиназ, приводящих к сборке LAT-сигнасомы – комплекса ферментов, включающего активированные фосфолипазы C γ 2 и фосфоинозитид-3 киназы. Активация данных ферментов запускает выход ионов кальция из эндоплазматического ретикулума, запускающий функциональные ответы тромбоцитов. Интегрирование проводилось методами LSODA и SSA-tau leap в программном пакете COPASI. Модель предсказала способность рецепторов CLEC-2 и GPVI индуцировать кальциевый спайкинг в тромбоцитах, а также что не только активация тирозинкиназ, но и кластеризация рецепторов CLEC-2 и GPVI являются лимитирующими стадиями. Предсказания были экспериментально подтверждены при варьировании температуры и насыщенности плазматической мембраны тромбоцитов холестерином.

Таким образом, посредством компьютерного моделирования был идентифицирован механизм активации рецепторов через ITAM-содержащие рецепторы. Работа поддержана стипендией Президента РФ СП-2675.2019.4 и грантами РФФИ 18-34-20026 и 17-00-00138.