

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРОМБОЦИТОВ

Марковчин А.А.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ, Курск, 305029, ул. К.Маркса, д.51, E-mail: ilmedv1@yandex.ru

Тромбоциты являются безъядерными образованиями. В крови основная масса тромбоцитов имеет характерную дискоидную форму. Дискоидная форма поддерживается у тромбоцита циркулярным микротубулярным кольцом. У тромбоцита имеется 4 основные функциональные зоны. Первая – периферическая зона, представляет собой двухслойную фосфолипидную мембрану и пространства, прилегающие к ней с двух сторон. Золь-гель зона, является вязким матриксом цитоплазмы тромбоцита, прилегая к субмембранной области. Зона органелл, включает в себя органеллы, расположенные по всей цитоплазме неактивных тромбоцитов. Зона мембран, состоит из каналов плотной тубулярной системы, напоминающей структуру миоцитарного саркоплазматического ретикулума. Тромбоциты являются основой всего первичного гемостаза за счет их способности путем агрегации тромбировать повреждения в сосудах. Формируя динамические агрегаты, тромбоциты влияют на реологические свойства крови и тем самым на состояние трофики тканей во всем организме.

Ключевые слова: тромбоциты, адгезия, агрегация, секреция, функции, гемостаз.

PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PLATELETS

Markovchin A.A.

Kursk Institute of social education (branch of the institute RSSU (Russian State Social University)), Kursk, Russia (305029, Kursk, street K. Marx, 53), e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Platelets are non-nuclear units. In blood, most of the platelets has a characteristic discoid shape. Discoid shape is supported at the platelet circular microtubular ring. The platelet has 4 main functional areas. The first peripheral area, is a phospholipid bilayer membrane and the space adjacent to it on both sides. The Sol-gel zone is a viscous matrix of the platelet cytoplasm, adhering to submembranous area. Area organelles, includes organelles located throughout the cytoplasm in an inactive platelets. The area of the membrane, consists of channels dense tubular system, resembling the structure miltenovasarcoplasmatic reticulum. Platelets are the basis of all primary hemostasis due to their ability by aggregation trombированiа damage in the blood vessels. Forming a dynamic aggregates, platelets affect the rheological properties of blood and thus on the state of the trophism of tissues throughout the body.

Keywords: platelet adhesion, aggregation, secretion, function, hemostasis.

Тромбоциты являются безъядерными форменными элементами крови, участвующими в процессе гемостаза [4]. В крови основная масса тромбоцитов имеет характерную дискоидную форму с почти гладкой поверхностью. Диаметр их составляет от 2 до 4 мкм, площадь поверхности около 8 мкм², а объем – 6-9 фл (фл - фемтолитр=10⁻¹⁵л). Дискоидная форма поддерживается у тромбоцита циркулярным микротубулярным кольцом, локализующимся у внутренней поверхности мембраны. Тромбоциты обладают двухслойной мембраной, которая по своему составу и строению несколько отличается от мембран прочих форменных элементов крови тем, что в ней больше фосфолипидов расположено асимметрично [6].

В кровяных пластинках непосредственно у внутреннего слоя мембраны находится микротубулярное кольцо, образованное белком тубулином, локализованное вдоль

максимальной окружности мембраны. Тубулин занимает относительно большую поверхность, вследствие чего сохраняется дискоидная форма интактных кровяных пластинок. У дискоидных форм микротрубочки локализируются по внутреннему периметру мембраны – в случае активации они разрушаются и хаотично распределяются по цитоплазме с последующим изменением формы клетки из дискоидной в сферическую.

Тромбоциты в результате стимуляции проявляют выраженную адгезию, агрегацию и секрецию. Так, в случае соприкосновения с чужеродной поверхностью тромбоцит активируется, превращается в сфероцит, имеющий множество отростков, размер которых может существенно превышать поперечник самих тромбоцитов. В основе данных изменений формы лежит нарастание уровня Ca^{2+} в их цитоплазме, что ведет к деполимеризации тубулина, приводя к растворению микротубулярного кольца и ультраструктурной перестройке внутренней части тромбоцитов с формированием нитей актина. Возникновение псевдоподий обеспечивает быстрый контакт отдельных тромбоцитов между собой, замедляя кровоток в месте их активации [10].

У тромбоцита имеется 4 основные функциональные зоны. Первая – периферическая зона, представляет собой двухслойную фосфолипидную мембрану и пространства, прилегающие к ней с двух сторон. Мембранные интегральные белки проникают сквозь мембрану и обеспечивают связь с цитоскелетом кровяной пластинки. Кроме того, они выполняют функции рецепторов, каналов, насосов, участвуя в процессе активации тромбоцита. Часть интегральных протеинов, имеющих массу полисахаридных молекул, на поверхности тромбоцитов образуют внешнее покрытие липидногобислой – гликокалекс, способный адсорбировать на себе большое количество белков. В этой связи периферическая зона кровяных пластинок осуществляет барьерную функцию, способствуя обеспечению нормальной формы тромбоцита, реализуя сквозь неё обмен веществ, активацию и весь процесс участия тромбоцитов в гемостазе [7].

Вторая зона – золь-гель зона, является вязким матриксом цитоплазмы тромбоцита, прилегая к субмембранной области. В нее входят различные белки (до 50 % от всех белков тромбоцитов). Их состояние зависит от интактного или активного состояния самого тромбоцита. Внутри зоны золь-гель находится большое число зёрен гликогена, по сути, являющихся запасом энергетического субстрата тромбоцита. Также в этой зоне локализованы сократительные протеины, в связи с чем она весьма важна для ретракции агрегировавших тромбоцитов и для их реакции высвобождения [5].

Третья зона – зона органелл, включает в себя органеллы, расположенные по всей цитоплазме неактивных тромбоцитов: пероксисомы, митохондрии, 3 типа гранул хранения (α -гранулы, плотные гранулы и γ -гранулы (лизосомы)) и аппарат Гольджи.

Наиболее многочисленными являются α -гранулы. В одной клетке их может быть от 40 до 80. В их состав входит более 30 белков, необходимых для гемостаза. α -гранулы – это основной источник прокоагулянтных веществ тромбоцитов, они могут экспрессировать на своей наружной поверхности фосфолипиды с отрицательным зарядом, фактор V, GpIIb/IIIa, CD63. Кроме того, они необходимы для образования микровезикул, обладающих прокоагулянтной активностью. В α -гранулах находятся вещества, имеющие прямо противоположные свойства (ингибиторы и активаторы фибринолиза; соединения, стимулирующие и тормозящие процесс ангиогенеза), входящие в состав различных субпопуляций α -гранул.

Как и в α -гранулах, в плотных безбелковых гранулах, находятся вещества, необходимые для процесса тромбоцитарного гемостаза – серотонин, адениновые нуклеотиды, Ca^{2+} , фибриноген, адреналин, фактор Виллебранда, антигепариновый фактор. В лизосомах скрыты различные гидролитические ферменты [3,5].

Четвертая – зона мембран, состоит из каналов плотной тубулярной системы (ПТС), весьма напоминающей структуру миоцитарного саркоплазматического ретикулума. В ней хранится и из нее идет секреция Ca^{2+} , что имеет большое значение для активации тромбоцита [6].

Большие концентрации АДФ (из поврежденных эритроцитов и стенок сосудов), а также оголенные субэндотелиальные структуры быстро активируют тромбоциты, меняя их форму, способствуя возникновению выростов и отростков (псевдоподий) с выделением гранул (дегрануляция) в окружающую среду.

Процесс активации тромбоцитов сопровождается выделением ионов Ca^{2+} из внутриклеточных гранул, что связано с опосредуемым фосфолипазой C гидролизом фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата до 1,4,5-инозитолтрифосфата (ИТФ) и диацилглицерола. После этого ИТФ соединяется со специфическим рецептором, что приводит к поступлению Ca^{2+} внутрь кровяных пластинок, сопрягаясь с прохождением его сквозь плазматическую мембрану. Это носит название «гранулоуправляемый» кальциевый вход. Очень важна в этом процессе Ca^{2+} – воспринимающая молекула внутриклеточных гранул – молекула стромы взаимодействия-1 – STIM1 (stromalinteractionmolecule 1) и четыре трансмембранных белковых канала CRACM1 (Calcium-releaseactivatedcalciummodulator) или Orai1. Под воздействием STIM1 в плазмолемме происходит открытие Orai1 канала. Еще один механизм, ведущий к поступлению ионов Ca^{2+} в тромбоциты, непосредственно связан с рецептор-зависимым кальциевым каналом – P2X1, активирующим под действием диацилглицерола, возникающим в ходе распада фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата. При этом поступление кальция в тромбоциты сквозь плазматическую мембрану возможно

благодаря TRPC (canonical transient receptor potential channel) в ходе работы натриево-кальциевого насоса [8].

Очень важным для инициации адгезии является столкновение тромбоцитов между собой и стенкой сосудов. Вместе с тем наиболее важную роль в продвижении кровяных пластинок к очагу адгезии играют сдвиговые силы, развивающиеся в ходе циркуляции крови. Под влиянием индуктора происходит активация тромбоцитов, наступающая в следующей последовательности: изменение формы кровяных пластинок, агрегация, генерация эндопероксидов, простагландинов и тромбоксана, выброс в плазму плотных гранул и α -гранул.

Выраженность агрегации в значительной степени зависит от содержания в крови молекул фибриногена и числа мономеров фибрина. Для образования устойчивой связи между двумя тромбоцитами достаточно между ними одной нити фибриногена. Процесс активации тромбоцитов, стимулированный напряжением сдвига, является одним из механизмов запуска тромбообразования под влиянием прокоагулянтов, выделяемых тромбоцитами [9].

Обычно тромбоциты способны активироваться и адгезировать к эндотелию в зонах разветвлений артерий. P-селектин-зависимое соединение и роллинг вызывают взаимодействие кровяных пластинок синтактным эндотелием, но данный процесс никогда не бывает выраженным.

Соединение тромбоцитов с эндотелием возможно благодаря P-селектину и PSGL-1 (P-selecting lyscoproteinligand 1) на фоне активации тромбоцитов и тормозит их перемещение. В ходе роллинга отмечается также адгезия тромбоцитов с различными клетками, опосредуемая экспрессией P-селектина. При этом, вследствие выброса оксида азота, простациклина и прочих дезагрегирующих соединений происходит распад сформировавшихся агрегатов и отрыв тромбоцитов от неповрежденного эндотелия.

На фоне повреждения сосуда развивается адгезия тромбоцитов к различным субэндотелиальным белкам. В условиях низкого напряжения сдвига, наблюдающегося при альтерации крупных артерий и вен, кровяные пластинки адгезируют прямо к оголенным коллагеновым волокнам благодаря коллагеновым рецепторам – GpVI, GpIV и GpIa/IIa. В этих условиях выраженность адгезии во многом определяется типом коллагена. В условиях контакта тромбоцитов с коллагеном V происходит примерно в 3 раза слабее, чем к коллагену I и III, и примерно в 1,5 раза слабее, чем к коллагену IV. При этом к коллагену V типа происходит адгезия в основном отдельных тромбоцитов, а к коллагену I и III наблюдается массовое прилипание с формированием крупных многослойных агрегатов. Это обеспечивает

то, что только в случае глубокого повреждения сосудов с оголением коллагеновых волокон I и III типов возможно возникновение пристеночных тромбозов [1].

В условиях высокого напряжения сдвига в условиях наступления травмы мелких артерий и артериол процесс адгезии тромбоцитов обеспечивается фактором Виллебранда, находящегося в плазме и имеющего 3 активных центра – два из них соединяются с рецепторами тромбоцитов (GpIb), а один – со структурами субэндотелия.

По причине достаточно высокого содержания в субэндотелии фактора Виллебранда независимо от величины скорости сдвига, а также от уровня его в плазме и тромбоцитах в случае оголения субэндотелиальных волокон обязательно происходит адгезия тромбоцитов [9].

Кровяные пластинки адгезируют с фактором Виллебранда через рецептор GpIb/IX/V и непосредственно с коллагеном без фактора Виллебранда – через GpVI. Прочная адгезия тромбоцитов происходит через активированные интегриновые рецепторы GpIIb/IIIa (рецепторы к фибриногену) и рецептор к коллагену – $\alpha 2\beta 1$, а также благодаря созданию «мостов» с участием $\alpha V\beta 3$ -интегрина, эндотелиальной ICAM-1 и GpIba. При этом интегрины создают связь между экстрацеллюлярными мембранными протеинами и белками внутри тромбоцитов, обеспечивая эффективную двустороннюю сигнализацию.

В ходе адгезии тромбоцитов к субэндотелию они меняют свою форму, распластываются, вследствие чего развивается значительное увеличение их поверхности. Эти явления дают возможность возникнуть более обширным связям между рецепторами тромбоцитов и структурами субэндотелия с прочной фиксации на повреждённой сосудистой стенке кровяных пластинок и их агрегатов [7].

Течение агрегации помогает фактор активации тромбоцитов (PAF) и, кроме того, тромбин, всегда генерирующийся в месте повреждения сосудистой стенки. Под действием слабых индукторов (адреналин, АДФ, серотонин, фибронектин/итронектин) развивается экспрессия рецепторов на поверхности тромбоцитов к фибриногену (GpIIb/IIIa), вследствие чего при наличии в среде Ca^{2+} он соединяет друг с другом 2 прилегающих тромбоцита. В обеспечении данного процесса из всех адгезивных протеинов основная роль принадлежит фибриногену, являющимся главным кофактором агрегации ввиду того, что его концентрация в плазме наибольшая по сравнению с прочими белками, участвующими в адгезии и по причине достаточно большой аффинности к тромбоцитарным рецепторам (GpIb/IIIa). Кроме того, симметричное строение фибриногена дает ему возможность вступать в двухсторонние связи с различными рецепторами на поверхности тромбоцитов, создавая мостики, связывающие их [2].

На начальном этапе агрегация носит обратимый характер, т.к. после нее может развиваться частичное или полное разрушение агрегатов – процесс дезагрегации. Ввиду того, что связь между тромбоцитами порой непрочна, то определенное количество агрегатов способно отрываться и уноситься с кровью. Эта агрегация называется первичной, или обратимой, не обладающей возможностью полного и окончательного прекращения кровотечения даже из небольших сосудов.

Большое значение имеет вторичная (необратимая) агрегация, сопровождающаяся процессом тромбоцитарной секреции. Слабые индукторы, соединяясь со своими рецепторами, на тромбоцитах вызывают повышение цитоплазматического Ca^{2+} активацией фосфолипазы A_2 , выщепляющей из мембран кровяных пластинок арахидоновой кислоты, которая превращается в PgG_2 , PgH_2 и тромбоксан A_2 (TxA_2), являющиеся сильными агонистами агрегации и вазоконстрикторами. Выбрасываясь из тромбоцитов PgH_2 и TxA_2 , повышают уровень экспрессии фибриногеновых рецепторов и усиливают сигнал, передаваемый внутрь кровяных пластинок. TxA_2 активирует фермент фосфолипазу C и стимулирует полифосфоинозитольный путь активации тромбоцитов. При этом TxA_2 способствует выделению Ca^{2+} в цитоплазму из плотной тубулярной системы, что активирует актом иозиновую систему и процесс фосфорилирования протеинов.

На фоне активации тромбоцитов наступает дополнительная экспрессия интегрина $GpIIb/IIIa$ ($\alpha IIb\beta 3$) на мембране тромбоцитов, являющегося наиболее важным для адгезии и агрегации. В этих условиях $GpIb$ инициирует межтромбоцитарный контакт, тогда как $GpIIb/IIIa$ сохраняет возникающие агрегаты. В этой связи главным моментом, регулирующим переход обратимой агрегации в необратимую, следует считать экспрессию $GpIIb/IIIa$, наступающую под действием АДФ, TxA_2 и тромбина.

Появление в крови тромбина ведет к активации протеиназоактивируемых рецепторов PAR-1, PAR-3, PAR-4, связанных с G-белками, что обеспечивает рост концентрации Ca^{2+} внутри кровяных пластинок и развитие их агрегации [3,7].

В результате адгезии, агрегации и ретракции из тромбоцитов выбрасываются находящиеся в гранулах биологически значимые вещества – РАФ, АДФ, адреналин, фибриноген, норадреналин, TxA_2 , фактор Виллебранда, фибронектин, витронектин, тромбоспондин, что существенно укрепляет образовавшийся тромбоцитарный тромб. Вышедший из кровяных пластинок в ходе ретракции фактор роста способствует ускорению репарации поврежденной сосудистой стенки. Восстановлению проходимости сосуда обеспечивают выделяемые из тромбоцитарных γ -грануллизосомальные ферменты. При этом происходит синтез тромбина, стимулирующего распластывание и агрегацию тромбоцитов и

вызывающий выпадение сети фибрина, в которой всегда задерживаются отдельные лейкоциты и эритроциты [10].

В ходе агрегации кровяные пластинки меняют свой состав и форму. В самом начале агрегации и возникновения первых порций тромбина поверхность тромбоцитов не испытывает значимых изменений, но в некоторых кровяных пластинках отмечаются признаки распада цитоплазмы. Спустя 40–90 сек. течения агрегации уже часть тромбоцитов становится мутной, их цитоплазма набухает, клетки плотно прилипают друг к другу, хотя повреждений мембраны найти не удаётся. Некоторые тромбоциты в этих условиях теряют гранулы, в прочих же число гранул остаётся без изменений. Спустя 2–3 мин. после появления тромбина тромбоциты набухают, их цитоплазма бледнеет, α -гранулы фрагментируются на мелкие пузырьки. В этих условиях гранулы постепенно перемещаются к центру кровяной пластинки и в ходе сокращения актомиозиновых комплексов сквозь мембрану выталкиваются в плазму. В последующем тромбоциты истончаются и несколько удлиняются. В их цитоплазме определяются только митохондрии, тогда как гранулы уже не выявляются. В этих условиях тромбоциты плотно примыкают друг к другу, а между ними находится в большом количестве фибрин. Изменения формы кровяных пластинок сопряжены с утратой мембранной асимметрии фосфолипидов. В этих условиях имеющие отрицательный заряд фосфолипиды – фосфатидилсерин, и отчасти фосфатидилэтаноламин, переходят на наружный листок мембраны тромбоцита, что обеспечивает условия, необходимые для свёртывания крови, полимеризации нитей фибрина и консолидации тромбоцитарной пробки, а в последующем ретракции тромбоцитарного конгломерата [1,9].

Таким образом, тромбоциты по праву считаются основой всего первичного гемостаза за счет их способности путем агрегации тромбировать локусы повреждения в сосудах. При формировании из них избыточного количества динамичных агрегатов могут меняться реологические свойства крови и тем самым состояние трофики тканей во всем организме.

Список литературы

1. Громнацкий Н.И., Медведев И.Н. Тромбоцитарный гемостаз у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом // Международный медицинский журнал. Клиника. Диагностика. Лечение. – 2002. – № 5. – С. 413.
2. Громнацкий Н.И., Медведев И.Н. Коррекция нарушений тромбоцитарного гемостаза немедикаментозными средствами у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом // Клиническая медицина. – 2003. – Т.81, № 4. – С.31-34.

3. Громнацкий Н.И., Медведев И.Н., Кондратов И.В. Изменения внутрисосудистой активности тромбоцитов больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом и его коррекция ловастатином (медостатиномR) // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 5. – С.258.
4. Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Тромбоцитарная активность гемостаза у поросят молочного питания // Ветеринарная практика. – 2011. – № 3. – С.34.
5. Кутафина Н.В., Медведев И.Н. Внутрисосудистая активность кровяных пластинок у здоровых жителей Курской области второго зрелого возраста. Вестник Московского государственного областного университета. Электронный журнал, 2012; 4: 10–14. <http://vestnik-mdou.ru/Articles/Doc/222>. Номер ФГУП НТЦ «Информрегистр» 0421200150\0061.
6. Медведев И.Н., Громнацкий Н.И., Наумов М.М., Беспарточный Б.Д. Способ лечения тромбоцитопатии при метаболическом синдроме. Патент на изобретение RUS 2261705 29.01.2004.
7. Медведев И.Н., Беспарточный Б.Д., Горяинова И.А. Способ профилактики тромбоцитарных нарушений у новорожденных телят с диспепсией. Патент на изобретение RUS 2323731 27.11.2006.
8. Медведев И.Н., Беспарточный Б.Д. Способ коррекции тромбоцитопатии у лиц с метаболическим синдромом. Патент на изобретение RUS 2333758 26.02.2007.
9. Медведев И.Н., Краснова Е.Г., Завалишина С.Ю. Тромбоцитарная активность у поросят в фазу молозивного и молочного питания // Ветеринарная практика. – 2011. – № 4. – С.30.
10. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Кумова Т.А. Воздействие эпросаратана на агрегационную способность тромбоцитов у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме // Клиническая медицина. – 2008. – Т. 86, № 4. – С. 19-21.

Рецензенты:

Грушкин А.Г., д.б.н., профессор кафедры ветеринарии и физиологии животных Калужского филиала РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, г. Калуга;

Смахтин М.Ю., д.б.н., профессор кафедры биохимии Курского государственного медицинского университета, г. Курск.