

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКРОЗА И АПОПТОЗА ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

**Н. А. Подошлева^{1,2}, А. А. Мишуков¹, С. И. Обыденный^{1,2}, П. А. Соловьева¹,
И. А. Чабин², А. Н. Свешникова^{1,2}, М. А. Пантелеев^{1,2}**

¹ *ФГБУ науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии
РАН, Москва, Россия*

² *ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской
гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия*

Тромбоциты играют ключевую роль в свертывании крови, в том числе являются одним из основных источников отрицательно заряженных фосфолипидных мембран для сборки ферментативных комплексов. Данную функцию выполняет только часть клеток, экспонирующих на внешнем слое мембраны фосфатидилсерин (ФС). Как правило, ФС появляется на внешнем слое мембраны в процессе клеточной смерти. Несмотря на то, что тромбоциты являются безъядерными, они по всей видимости, в зависимости от условий могут подвергаться как некрозу, так и апоптозу, и роли данных процессов в норме и при патологии могут отличаться.

Целью данной работы было сравнение морфологических и функциональных особенностей некротических и апоптотических тромбоцитов, выявление их патофизиологической роли.

Методы. В качестве модели некроза была выбрана активация тромбоцитов агонистами: коллаген-подобный пептид (CRP), смесь CRP и тромбина, либо смесь CRP с пептидами, активирующими PAR1 и PAR4 рецепторы. В качестве модели апоптоза была выбрана обработка тромбоцитов ингибитором белков Bcl-2 и Bcl-xL (ABT737). Исследование проводилось с использованием методов проточной цитометрии, конфокальной и трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты. В ходе исследования не выявлено существенных морфологических отличий некротических и апоптотических тромбоцитов. Однако, при апоптозе тромбоцитов, в отличие от некроза, не наблюдается связывания антител к р-селектину (CD62p), фактору Виллебранда и фибриногену. Это свидетельствует о том, что в случае апоптоза не происходит секреция альфа-гранул тромбоцитов. Показано, независимо от типа гибели ФС-положительные тромбоциты одинаково связывают факторы свертывания и обладают одинаковой активностью в поддержании прокоагулянтных мембранных реакций.

Исследование кинетики развития процессов гибели тромбоцитов методом проточной цитометрии и конфокальной микроскопии указывают на то, что некроз и апоптоз тромбоцитов реализуются через деполяризацию митохондрий, после которой происходит резкое повышение концентрации внутриклеточного кальция с последующей экстернализацией ФС, разрушением цитоскелета и потерей интактности плазматической мембраны. Отсутствие колебаний концентрации внутриклеточного кальция, предшествующих деполяризации митохондрий, является ключевым отличием между некрозом и апоптозом тромбоцитов.

Таким образом, апоптоз тромбоцитов, запущенный при помощи ABT737, более медленный процесс, чем некроз под воздействием физиологических агонистов. В конечной точке мертвые тромбоциты отличаются по наличию или отсутствию связанных с мембраной альфа-гранулярных белков.