

ОГЛЯДИ

УДК 577.151.6:612.115

РОЛЬ ПЛАЗМИНОГЕН/ПЛАЗМИНА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ КЛЕТОК КРОВИ

Д. Д. ЖЕРНОСЕКОВ, Е. И. ЮСОВА, Т. В. ГРИНЕНКО

Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail:grinenko@biochem.kiev.ua

В обзоре представлены сведения о структурных особенностях плазминоген/плазминовой молекулы, определяющих специфичность межмолекулярных взаимодействий и обеспечивающих многообразие ее биологических функций. Приведены основные принципы современной классификации плазминогеновых рецепторов и факторы, влияющие на их экспрессию. Рассмотрены механизмы, регулирующие образование и активность плазмينا на поверхности клеток, фибрина и протеинах экстрацеллюлярного матрикса. Обобщены данные литературы и результаты исследований авторов о влиянии плазминоген/плазмينا на процесс агрегации тромбоцитов, индуцируемый различными агонистами. Обсуждаются вопросы участия плазминоген/плазмينا в атерогенезе и ангиогенезе, опосредуемых рецепторами эндотелиоцитов. Особое внимание уделено провоспалительной функции плазминоген/плазмينا, которая реализуется через регуляцию процессов активации, секреции, миграции и апоптоза моноцитов и макрофагов.

Ключевые слова: плазминоген, плазмин, лизинсвязывающие участки крингловых доменов, плазминогеновые рецепторы, клетки крови, агрегация тромбоцитов, клеточный сигналинг, ангиогенез, воспаление.

Плазминоген/плазминовая система обеспечивает растворение фибриновых сгустков и поддерживает гемостатический баланс крови. В последние два десятилетия развитие технологии инактивации генов, выведение трансгенных мышей с дефицитом определенных протеинов и большой экспериментальный материал, накопленный при работе с различными линиями клеток, позволили установить, что эта система выполняет в организме различные функции в нормальных

и патологических условиях и принимает участие в таких процессах, как ремоделирование тканей, репродукция, ангиогенез, воспаление, инвазия опухолевых клеток и др. (рис. 1).

Сериновая протеиназа плазмин (3.4.21.7) в организме находится в виде неактивного зимогена плазминогена, который может быть трансформирован в активный энзим плазмин эндогенными активаторами: тканевой активатор играет доминирующую роль в процессе фибринолиза, тогда как урокиназа — в акти-

Список сокращений: 6-АГК — 6-аминогексановая кислота; К — крингловый домен; к.е. — казеинолитическая единица; AG490 — (α -циано-(3,4-дигидрокси)-N-бензилциннамид); α_2 -APm — α_2 -антиплазмин; AP-1 — активирующий протеин-1; apoLp(a) — аполипопротеин а; АМСА — транс-4-аминометил-циклогексановая кислота; ATF2 — активирующий фактор транскрипции-2; EMSA — метод сдвига электрофоретической подвижности; FACS — метод сортировки активированных флюоресценцией клеток; FMLP — формил-метионил-лейцил-фенилаланин; c-Fos — протеин Fos-семейства; Fos B — протеин Fos-семейства; c-JAK — янус киназа; Jun — протеин Jun-семейства; IKK — киназа I κ B; I κ B — ингибитор κ B; IL — интерлейкин; LBS — лизин-связывающий сайт; MAPK — митогенактивируемая протеинкиназа; NF- κ B — ядерный фактор κ B; PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена I типа; PAR — рецепторы, активируемые протеиназами; SB203580 — 4-(4-фторфенил)-2-(4-метилсульфонилфенил)-5-(4-пиридил)1H-имидазола; STAT — преобразователь сигнала и активатор транскрипции; t-MCP-1 — моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1; TF — тканевый фактор; TNF- α — фактор некроза опухоли- α ; tPA — тканевый активатор плазминогена.

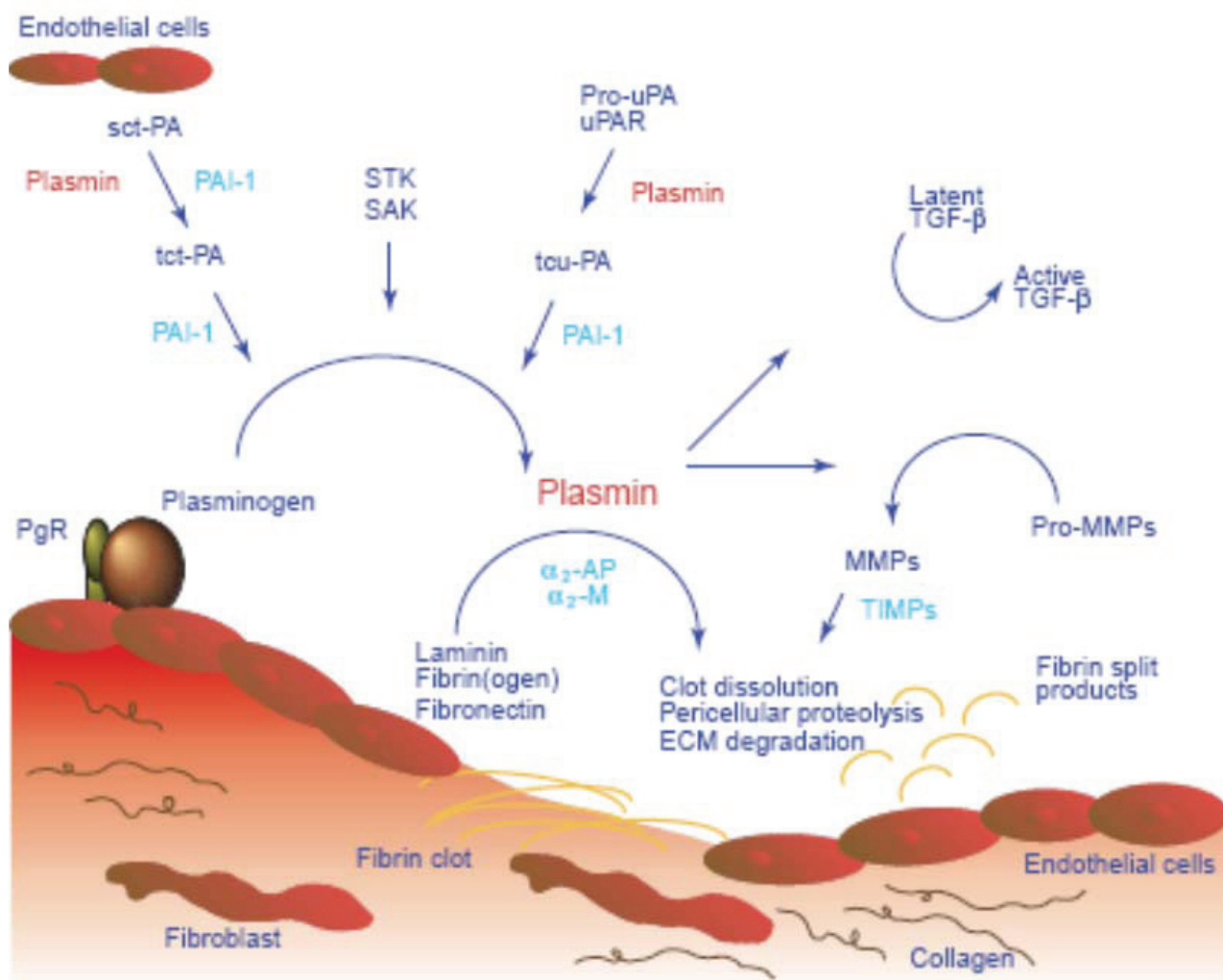


Рис. 1. Схема образования плазмина и его участия в различных биологических процессах [1]

вазии межклеточного протеолиза. Активность плазминоген/плазминовой системы контролируется различными ингибиторами.

Фибринолиз и межклеточный протеолиз с участием плазмина зависят от образования молекулярных ансамблей плазминогена и его активаторов на фибрине и мембраносвязанных протеинах поверхности клеток. В обоих случаях связывание плазминогена приводит к его концентрированию на нерастворимых поверхностях, изменению конформации и вследствие этого к ускорению активации и увеличению локальной энзиматической активности. Плазмин, образованный на фибрине или клеточной поверхности, защищен от действия основного ингибитора α_2 -APm, что позволяет ему проявлять протеолитическую активность в микроокружении, богатом ингибиторами.

Связывание плазминогена с клеточными рецепторами, также как и их экспрессия, регу-

лируется многими факторами: протеиназами, гормонами, цитокинами, внутриклеточной концентрацией ионов кальция, аффинностью рецептора к лиганду, влиянием модуляторных протеинов на участки связывания в молекуле плазминогена и на рецепторах. В последнее время накапливается все больше экспериментальных данных об участии плазминоген/плазмина в функциональной активности клеток, которое реализуется через сигнальные внутриклеточные пути.

Целью данной работы является обобщение новых сведений о структурных особенностях участков распознавания в молекуле плазминогена, разнообразии рецепторов плазминогена и возможных механизмах регуляции плазминоген/плазмином функциональной активности клеток крови – тромбоцитов, моноцитов и эндотелиальных клеток.

Плазминоген, структурно-функциональные особенности крингловых доменов.

Механизмы регуляции образования плазмина на клеточной поверхности

Участие плазминоген/плазмينا в различных биологических процессах во многом определяется структурно-функциональными особенностями отдельных частей молекулы, краткая характеристика которых представлена в данном разделе.

Плазминоген синтезируется в основном в печени, вместе с тем его матричная РНК обнаружена в различных типах клеток и тканях [2]. Нативная форма (Glu-плазминоген, Glu1–Asn791) является гликопротеином с Мм 92 кДа. Гликозилирование происходит по остаткам Ser248, Thr346 и дополнительно – Asp289. Наличие последнего олигосахаридного остатка уменьшает сродство плазминогена к фибрину и α_2 -APm [3]. Обе гликоформы плазминогена, циркулирующие в плазме, фосфорилированы по остатку Ser578 [4]. Значение этого остатка в проявлении функциональной активности энзима в настоящее время не установлено. Молекула зимогена включает несколько структурных доменов: N-концевой, пять последовательно расположенных крингловых доменов и протеиназный домен, в котором остатки His603, Asp646 и Ser741 образуют каталитическую триаду [5, 6]. N-концевой домен (Glu1–Lys77) имеет две дисульфидные связи, состоит из α - и β -структур и гомологичен N-концевому фингер домену фактора роста гепатоцитов. В молекуле последнего фингер-домен находится в тесном контакте с K1. Взаимодействие фингер-домена с гепарином приводит к его димеризации с K1, активации и связыванию фактора роста гепатоцитов с рецептором с-MET [7–9]. В молекуле плазминогена N-концевой домен взаимодействует с пятым кринглом, регулируя конформацию и скорость активации зимогена. В Glu-плазминогене N-концевой пептид отщепляется плазмином в результате гидролиза одной из трех пептидных связей, образованных Arg68, Lys77 или Lys78, что приводит к образованию укороченной формы проэнзима – Lys-плазминогена.

Крингловые домены плазминогена состоят приблизительно из 80 аминокислотных остатков, они содержат сайты связывания лизина и его аналогов и отвечают за специфическое узнавание α_2 -APm, фибрина, клеточных рецепторов, протеинов плазмы и межклеточного матрикса [10–15].

Крингловые домены обнаружены в различных протеинах – факторе XII системы

свертывания крови, протромбине, тканевом активаторе плазминогена, урокиназе, аполи-попротеине А, факторе роста гепатоцитов [16]. Во всех случаях, где их функция в составе молекулы установлена, показано, что они являются протеинузнающими модулями. В последнее время выяснено, что фрагменты молекулы плазминогена: K1-3, K1, K2-3, K1-4 и K5 могут выполнять самостоятельные специфические функции, отличные от нативной молекулы протеина. Данные фрагменты могут образовываться в плазме крови, во внеклеточном матриксе и на поверхности клеток вследствие действия металлопротеиназ, эластазы нейтрофилов, калликреина, катепсина G или автолиза плазмينا. Они проявляют антиадгезивные, противовоспалительные и антиангиогенные свойства, ускоряют апоптоз опухолевых клеток. Механизмы действия крингл-содержащих фрагментов плазминогена интенсивно изучаются [17–20].

Селективность действия крингловых доменов определяется различиями в структуре лизинсвязывающего сайта (LBS). Этот участок представляет собой биполярную щель на поверхности кринглового домена. Анионный сайт LBS K1 представлен Asp137 и Asp139, тогда как катионный – Arg115 и Arg153. Между двумя заряженными участками находится гидрофобная полость, образованная радикалами двух ароматических аминокислот Trp144 и Tyr154, которые как своеобразные клещи удерживают метиленовую боковую цепь аминокислоты, взаимодействующей с LBS. Характерной особенностью LBS крингла 1 и 4 является высокое сродство к аналогу лизина – 6-АГК. Полагают, что LBS обеспечивают взаимодействие плазминогена с C-концевыми аминокислотными остатками лизина, которые имеются на клеточных рецепторах либо образуются в результате действия плазмينا. C-концевые лизины, которые появляются в процессе гидролиза фибрина плазмином, играют важную роль в регуляции скорости разрушения фибринового сгустка. Тем не менее плазменный протеин тетрапектин, у которого отсутствуют C-концевые остатки лизина, специфически взаимодействует с K4 в молекуле плазминогена.

Крингловые домены соединены между собой шарнирными участками, которые обеспечивают внутримолекулярную подвижность молекулы зимогена и изменение взаимного расположения кринглов в пространстве. Единственная межкрингловая дисульфидная связь соединяет Cys169 K2 с Cys297 K3, что ограничивает их подвижность и способствует тесной

ориентации этих доменов. Согласно данным ЯМР и рентгено-структурного анализа фрагмента K1-3, между двумя наиболее удаленными точками K2 и K3 находится впадина, по обе стороны которой располагаются LBS этих крингловых доменов, ориентированные навстречу друг другу [21]. В анионном сайте K2 остаток Asp221 заменен на Glu, а Asp219 направлен в противоположную сторону от щели LBS и образует солевой мостик с неконсервативным Arg220, что и объясняет слабое сродство LBS K2 к 6-АГК. Разрушение солевого мостика и реализация новых электростатических взаимодействий имеет место при специфическом взаимодействии биполярных протеиновых лигандов, у которых расположенные в середине полипептидной цепи положительно и отрицательно заряженные аминокислотные остатки имитируют С-концевой лизин с анионным и катионным центрами LBS K2. Такой тип взаимодействия имеет место между K2 и его специфическим лигандом — плазминогенсвязывающим протеином на поверхности бактерии *Streptococcus pyogenes* [22].

В анионном сайте LBS K 3 вместо Asp311 находится Lys. Этот остаток не только нейтрализует отрицательный заряд сайта, но также входит в гидрофобную щель, перекрывая ее наполовину. Этим объясняется полное отсутствие сродства K3 к 6-АГК или С-концевым лизинам [23, 24]. Тем не менее, предполагают, что LBS крингла 3 может взаимодействовать с карбоксильной группой боковой цепи аминокислотного остатка в других протеинах. Более того, возможно, что наличие впадины и структурные особенности LBS K2 и K3 позволяют этим структурам действовать одновременно и узнавать совершенно другие аминокислотные мотивы протеинов, в том числе и мембранных рецепторов. Так, установлено, что K2-K3 является сильным ингибитором миграции эндотелиальных клеток и не влияет на их пролиферацию, тогда как K1 тормозит пролиферацию эндотелиоцитов [25, 26].

Аминокислотные остатки Asp516 и Asp518 анионного сайта LBS в K 5 расположены также, как в K1 и K4, тогда как катионный сайт отсутствует, поскольку остаток Arg532 замещен на Leu, а пространственная ориентация Arg483 исключает взаимодействие с карбоксильной группой лизина. K5 проявляет наибольшее сродство к низкомолекулярным лигандам, имеющим положительно заряженную гуанидиновую группу [27]. По-видимому, этот участок обеспечивает взаимодействие плазминогена с боковыми радикалами аргинина,

находящимися на поверхности протеиновой глобулы. Характерная трехпетлевая структура каждого из крингловых доменов удерживается тремя дисульфидными мостиками, восстановление которых приводит к потере ими функциональных свойств. Неожиданным оказалось, что восстановление дисульфидных связей в K5 повышало его способность тормозить миграцию эндотелиальных клеток [28]. Показано, что восстановление Cys512-Cys536 дисульфидной связи в K5 катализируется фосфоглицераткиназой, при этом образуется новая дисульфидная связь Cys536-Cys541 и свободные тиольные группы Cys462 и Cys512 [29].

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что структурные отличия LBS крингловых доменов обеспечивают многообразие лигандных взаимодействий и механизмов проявления функциональной активности плазминогена/плазмина.

Важное значение для реализации молекулярных и клеточных взаимодействий плазминогена имеет его конформационное состояние. Конформационные изменения, которые происходят в плазминогене, позволяют крингловым доменам переключаться с внутримолекулярных на межмолекулярные взаимодействия. В свободном состоянии в растворе Glu-плазминоген находится в α -конформации — закрытой компактной форме в виде правозакрученной витка спирали, которая стабилизирована междуменными нековалентными взаимодействиями N-концевого пептида с K5 и K3 с K4. В присутствии лигандов, специфичных к LBS K5, Glu-плазминоген переходит в частично открытую, вытянутую β -конформацию. Такие же изменения происходят в результате отщепления плазмином N-концевого пептида в нативной молекуле с образованием Lys-плазминогена. Последующий переход в γ -конформацию — максимально вытянутую в пространстве форму — имеет место при диссоциации K3 и K4 [30, 31].

Структурные изменения молекулы плазминогена имеют важное значение для ускорения активации зимогена различными типами активаторов и появления активности плазмина на фибрине и поверхности клеток. Показано, что 6-АГК, аналог аргинина — бензамидин, моноклональные антитела против K4 и K5, а также протеины плазмы и межклеточного матрикса (ламелин, фрагменты фибронектина, тромбоспондин, тетранектин, актин), которые проявляют аффинность к крингловым доменам, изменяют конформацию плазминогена, оказывая влияние на скорость его активации или фибринолиз [32–34].

Вполне вероятно, что конформационная изменчивость пламиногена и, как следствие, возможность взаимодействовать с различными лигандами выработалась в процессе эволюции при вовлечении пламиноген/плазмина в выполнение разнообразных функций в организме.

Активация пламиногена и активность образующегося пламина в организме строго контролируются. Процесс активации пламиногена тканевым активатором или урокиназой на фибрине или клетках соответственно заключается в энзиматическом гидролизе пептидной связи Arg561-Val562. В результате формируется активный центр и образуется энзим пламин, состоящий из тяжелой (А) и легкой (В) цепей, соединенных двумя дисульфидными связями. В свободном состоянии пламин практически немедленно взаимодействует с α_2 -APm с образованием необратимого ковалентного комплекса с $K_{дис} 2 \times 10^{-10}$ М [35–37]. Обнаружение в плазме этого комплекса свидетельствует об активации пламиноген/пламиновой системы [38]. Пламин, связанный с фибрином или клетками, менее доступен действию α_2 -APm. Взаимодействие тканевого активатора и урокиназы с этими поверхностями также снижает их инактивацию PAI-1 [37, 39]. Следовательно, связывание пламиногена и его активаторов с фибрином, так же, как и с различными клетками, контролирует не только скорость образования пламина, но и доступность этих протеинов для специфических ингибиторов.

В работе Dejouvencel и соавт. [40] сообщается о существовании нового «перекрестного» механизма образования пламина, согласно которому пламиноген, связанный с фибрином, протеинами межклеточного матрикса или активированными тромбоцитами, может эффективно активироваться урокиназой, находящейся на поверхности моноцитов или микрочастицах моноцитов и эндотелиоцитов [41]. Эндотелиальные клетки в состоянии покоя экспрессируют тканевой активатор, тогда как урокиназа может экспрессироваться мигрирующими эндотелиальными клетками капилляров [42], клетками воспаления — моноцитами/макрофагами, фибробластами, а также клетками злокачественных опухолей различного происхождения [43]. Поэтому «перекрестный» механизм образования пламина имеет первостепенное значение для фибринолиза и межклеточного протеолиза, индуцируемых процессами воспаления и онкогенеза [40].

Образование пламина на поверхности клеток регулируется количеством участков

связывания пламиногена и его активаторов и зависит от наличия С-концевых остатков лизина на мембранных рецепторах или их появления в результате действия сериновых протеиназ, например, тромбина или пламина. Ремоделирование клеточной поверхности эластазой или катепсином также приводит к экспонированию недоступных ранее пламиногенсвязывающих участков [13]. Противоположный эффект оказывает карбоксипептидаза В, которая отщепляет С-концевые лизины и тем самым, снижает количество пламиногенсвязывающих участков на клеточных рецепторах [44]. В плазме крови карбоксипептидаза В циркулирует в виде зимогена, эффективная активация которого осуществляется тромбином в комплексе с тромбомодулином и приводит к замедлению фибринолиза, вследствие чего этот протеин получил название ингибитора фибринолиза, активируемого тромбином — TAFI. Помимо тромбина, активация карбоксипептидазы может осуществляться пламином, эффективность реакции возрастает в присутствии гепарина. У мышей с частичным или полным дефицитом карбоксипептидазы В наблюдали значительное ускорение лизиса сгустков в легких и увеличение миграции лейкоцитов при индуцированном перитонеальном воспалении [45].

Протеины, имеющие в своем составе крингловые домены и концентрация которых в различных жидкостях и тканях организма сопоставима с таковой пламиногена, могут конкурировать с ним за участки связывания, локализованные на поверхности клеток, фибрина или экстрацеллюлярных протеинах, и, таким образом, включаться в регуляцию генерации пламина. К таким протеинам относится липопротеин а. В отличие от других липопротеинов низкой плотности, этот протеин содержит дополнительную гликопротеиновую часть — apoLp(a), которая подобна пламиногену. ApoLp(a) содержит домен, гомологичный серин-протеиназному домену, большое количество доменов (от 37 до 40), гомологичных K4, и одну копию K5. ApoLp(a) влияет на активацию и связывание пламиногена с фибрином, гидролиз фибрина, активацию факторов роста и связывание пламиногена с клетками [46, 47]. Показано, что клетки моноцитов U937 связывают пламиноген и apoLp(a) с сопоставимыми $K_{дис}$. Однако, apoLp(a) оккупирует не более 10% имеющихся пламиногенсвязывающих участков, что свидетельствует об их гетерогенности на поверхности одного и того же типа клеток [46].

Еще одним фактором, влияющим на активность плазмينا *in vivo*, может быть его аутодеградация, которая стимулируется аннексином II, ассоциированным с фибрином [48] и моноцитами [49], или актином, находящимся на поверхности эндотелиоцитов [50].

Рецепторы плазминоген/плазмينا в системе гемостаза

Рецепторы плазминогена обнаружены на поверхности всех клеток крови за исключением эритроцитов. Наибольшее количество плазминогеновых рецепторов в расчете на клетку находится на поверхности эндотелиальных клеток (несколько миллионов), лимфоциты и моноциты имеют 490 тысяч, а тромбоциты около 37 тысяч рецепторов на клетку [51]. Существует несколько вариантов классификации плазминогеновых рецепторов. В соответствии со структурными особенностями их разделяют на рецепторы, имеющие цитоплазматические домены-хвосты и «бесхвостые» рецепторы [49]. Большинство «бесхвостых» рецепторов, за исключением аннексина II, характеризуется наличием С-концевых остатков лизина (α -энолаза, p11, амфотерин, гистон H2B, TIR 49a, Plg-Rtk), «хвостатые» рецепторы, у которых С-концевые остатки лизина отсутствуют, представлены в основном семейством интегриновых протеинов (α IIb β 3, α V β 3, α 4 β 1, α 5 β 1, α M β 2). И в этом случае LBS крингловых доменов плазминогена играют важную роль в связывании с этими рецепторами, на что указывает нарушение взаимодействия плазминоген-интегрин 6-АГК [52].

Согласно другой классификации плазминогеновые рецепторы разделяют на 5 групп [53]. В первую входят протеины, имеющие С-концевые лизины: α -энолаза, TIR 49a, p11. Представители другой группы (аннексин II, актин) синтезируются без С-концевых лизинов, однако эти остатки экспонируются в результате посттрансляционного процесса. У протеинов третьей группы С-концевые лизины отсутствуют и не образуются посттрансляционно. К ним относят тромбоцитарный интегрин α IIb β 3 и интегрин α M β 2, присутствующий на поверхности нейтрофилов. Все перечисленные выше протеины стимулируют активацию плазминогена. Протеины четвертой группы связывают плазминоген, но не способствуют его активации. Представителями этой группы являются тканевой фактор и ганглиозиды. Особый интерес представляют протеины пятой группы, к которой относят интегрин α 5 β 1. Они взаимодействуют с Glu-плазминогеном без участия

LBS и не связываются с Lys-плазминогеном и плазмином.

В ходе исследований роль отдельных протеинов как рецепторов плазминогена уточнялась и дополнялась. Например, первоначально показали, что вклад α -энолазы во взаимодействие плазминогена с поверхностью клеток был незначительным [54]. Однако недавние работы указывают на ключевую роль этого протеина в связывании плазминогена с моноцитами, что обеспечивает их вовлечение в воспалительный процесс при легочных заболеваниях [55].

Следует отметить, что некоторые рецепторы плазминогена экспрессируются на активированных или трансформированных клетках. Актин отсутствует на внешней стороне мембраны тромбоцитов, но обнаруживается на их поверхности после активации тромбином [56]. Показано, что актин, находящийся на поверхности опухолевых клеток и эндотелиоцитов, взаимодействует с плазминогеном [57, 50]. Можно предположить, что активация тромбином приводит к связыванию плазминогена с поверхностным актином тромбоцитов.

Среди рецепторов, способных связывать плазминоген, особое внимание заслуживают интегриновые протеины (α M β 2, α V β 3, α 5 β 1, ПбIIa), которые передают сигнал внутрь клетки. Рецептор α M β 2 продуцируется фагоцитирующими лейкоцитами, его взаимодействие с плазминогеном опосредует функции этих клеток при воспалительных процессах [58]. Этот интегрин является мультисигнальным рецептором, который помимо плазминогена узнает большое количество молекул, включая протеины экстрацеллюлярного матрикса [59]. Рецептор α M β 2 также обнаружен на поверхности активированных, но не покоящихся тромбоцитов [60], однако остается невыясненным вопрос о влиянии плазминогена, взаимодействующего с α M β 2, на процессы с участием активированных тромбоцитов.

Интегрин α V β 3 в основном экспонирован на эндотелиальных клетках. Благодаря ему эндотелиоциты способны связывать как плазминоген, так и ангиостатин. Взаимодействие этих протеинов с α V β 3 имеет различное физиологическое значение. Связывание плазминогена приводит к появлению плазмينا и в результате к миграции эндотелиальных клеток, тогда как ангиостатина — к торможению миграции и ангиогенеза [61]. Этот рецептор в незначительных количествах обнаруживается на тромбоцитах, около 100 копий на клетку.

Интегрин α 5 β 1 представлен на поверхности нейтрофилов и моноцитоидных клеток.

Показано, что он взаимодействует с иммобилизованным и растворимым Glu-плазминогеном. При обработке моноцитoidных клеток антителами к $\alpha 5\beta 1$ образование плазмينا на их поверхности не наблюдалось [52]. Этот интегрин является также рецептором для фибронектина и фибриногена.

Интегрин PbIIIa экспонируется на поверхности активированных тромбоцитов. Связывание фибриногена с этим рецептором приводит к образованию межклеточных мостиков, опосредуя агрегацию тромбоцитов. Интегрин PbIIIa способен взаимодействовать также с фактором фон Виллебранда, витронектином, фибронектином и фибрином. Полагают, что разные сайты молекул фибриногена и фибрина отвечают за связывание с интегрином, в фибриногене это участок NHLLGGAKQAGDV γ -цепи, тогда как в фибрине — последовательность RGD $\text{A}\alpha$ -цепи. Следует отметить, что активация тромбоцитов различными агонистами является обязательным условием связывания фибриногена, но только тромбин приводит к образованию фибрина на поверхности тромбоцитов [62]. Остается невыясненным вопрос, может ли PbIIIa взаимодействовать с плазминогеном непосредственно или опосредовано через фибриноген. Известно, что в кровотоке комплекс между плазминогеном и фибриногеном не образуется, однако плазминоген, по мнению авторов [63], может взаимодействовать с фибриногеном на поверхности активированных тромбоцитов. Вместе с тем, пятикратное увеличение плазминогенсвязывающей способности тромбоцитов, наблюдаемое после их стимуляции тромбином, авторы объясняют образованием фибрина и его связыванием с интегрином PbIIIa , поскольку экспрессия фибриногена на поверхности активированных тромбоцитов оказывается недостаточным условием для повышения сродства к плазминогену.

Таким образом, можно сделать заключение, что для каждого типа клеток (эндотелиоцитов, тромбоцитов и лейкоцитов) реализуется свой набор плазминогеновых рецепторов. Иногда рецептор, имеющий значительную экспрессию на одном типе клеток, например, интегрин $\alpha\text{V}\beta 3$ на эндотелии, представлен в незначительном количестве на других клетках — тромбоцитах. По всей вероятности, это связано с особенностями образования плазмينا в каждом из представленных случаев и тонкой регуляцией этого процесса.

Влияние плазминоген/плазмينا на агрегацию тромбоцитов

В литературе имеются противоречивые данные о влиянии плазмينا на процесс агрегации тромбоцитов. Предварительная инкубация тромбоцитов с различными концентрациями плазмينا в течение 20 мин при 37 °С приводила к снижению тромбин- и коллаген-индуцируемой агрегации тромбоцитов, полное ингибирование наблюдалось при концентрации плазмينا 0,1–0,5 к.е./мл [64]. Другие авторы исследовали влияние плазмينا на ADP-индуцируемую агрегацию тромбоцитов [65]. С целью образования плазмينا плазму, обогащенную тромбоцитами, инкубировали со стрептокиназой (300 МЕ/мл) в течение 15 мин. В таких условиях получали 0,5–1,0 к.е./мл плазмينا, что приводило к ингибированию ADP-индуцируемой агрегации тромбоцитов и деградации фибриногена. Эффекты снимались добавлением ингибитора протеиназ — аprotинина. Необходимо отметить, что в присутствии ионов кальция плазмин не оказывал влияния на структуру интегрин PbIIIa . Ингибирующий эффект плазмينا авторы объясняют конкуренцией между фибриногеном и продуктами его деградации за рецептор PbIIIa или связыванием этих фрагментов с фибриногеном, что препятствует его взаимодействию с поверхностью тромбоцита [65]. Вместе с тем, ингибирующее действие плазмينا на агрегацию тромбоцитов может быть результатом активации матриксных металлопротеиназ на тромбоцитарной поверхности, поскольку показано, что активированная металлопротеиназа-9 ингибирует агрегацию тромбоцитов, вызванную коллагеном, тромбином, ADP и арахидоновой кислотой. Предполагают, что ингибирующий эффект этого энзима обусловлен подавлением активации фосфолипазы C [66].

В то же время, высокие концентрации плазмينا (> 1 к.е./мл) вызывают агрегацию отмытых тромбоцитов. При этом наблюдается высвобождение серотонина в количестве, сравнимом с таковым при действии тромбина, и фосфорилирование тромбоцитарных протеинов. Предполагается, что действие плазмينا приводит к увеличению концентрации цитозольного кальция и активации фосфолипазы C и протеинкиназы C. При этом плазмин не индуцирует образование тромбоксана A₂. [67]. Действие плазмينا на ADP-индуцируемую агрегацию тромбоцитов также исследовали Niewiarowski и соавт. [68]. Наи-

большой активирующий эффект наблюдали после предварительной инкубации с плазмином в течение 1 мин. Однако при увеличении времени инкубации активирующего действия плазмينا не наблюдалось, возможно, из-за разрушения фибриногена, который необходим для образования мостиков между тромбоцитами в процессе агрегации.

Активирующее действие плазмينا, по-видимому, связано с рецепторами, активируемыми протеиназами. Было показано, что плазмин индуцирует агрегацию тромбоцитов человека посредством медленного расщепления PAR-4 [69]. При этом ни пламиноген, ни стрептокиназа не оказывали влияния на агрегацию тромбоцитов.

Если сведения о влиянии плазмينا на агрегацию тромбоцитов в литературе имеются, то данные о действии пламиногена на этот процесс отсутствуют. Мы исследовали влияние пламиногена на агрегацию тромбоцитов, индуцируемую различными агонистами (ADP, коллаген, тромбин), и показали, что Lys-, но не Glu-пламиноген оказывает ингибирующий эффект на вторую волну агрегации [70, 71]. Возможно, эффект Lys-пламиногена может быть обусловлен появлением плазмينا на поверхности тромбоцитов или его связыванием с протеинами, секретируемыми во время второй волны агрегации и принимающими непосредственное участие в процессе агрегации — фибриногеном, витронектином, тромбоспондином [72]. Для выяснения механизма действия Lys-пламиногена требуются дополнительные исследования.

Изучение воздействия компонентов пламиноген/плазминовой системы на физиологические функции тромбоцитов представляются перспективным, поскольку используемые в современной медицине препараты, подавляющие тромбоцитарную агрегацию, имеют ограниченное применение [73].

Биологические эффекты пламиноген/плазмينا, опосредуемые рецепторами эндотелиоцитов

При рассмотрении процессов, происходящих на поверхности эндотелия, особый интерес представляют системы с участием аннексина II и актина. Показано, что аннексин II выполняет роль сорцептора для пламиногена и тканевого активатора, а также стимулирует образование плазмينا на поверхности эндотелиальных клеток. Если клетки эндотелия обработать антисмысловыми олигонуклеотидами, представляющими последова-

тельность оснований к-ДНК аннексина II, то связывание пламиногена и t-PA снижается на 40 и 50% соответственно [74]. Таким образом, роль аннексина как рецептора пламиногена и t-PA на поверхности эндотелия оказывается весьма значительной. Аннексину II отводят также определенную роль в развитии атеросклероза. В этом процессе возможно участие двух дополнительных компонентов — apoLp(a) и гомоцистеина. В опытах *in vitro* с клетками эндотелия показано, что apoLp(a) конкурирует с аннексином II за взаимодействие с пламиногеном. Тогда как липопротеиновые частицы, в состав которых входит apoLp(a), не оказывают влияния на t-PA-зависимую активацию пламиногена в жидкой фазе, на поверхности эндотелия этот процесс подавляется ими на 93%. Учитывая, что apoLp(a) накапливается в атеросклеротических бляшках, связь между развитием атеросклероза и снижением поверхностного фибринолиза становится очевидной. Для гомоцистеина предполагают существование другого механизма. Показано, что взаимодействие t-PA с клетками эндотелия и аннексином II может ингибироваться гомоцистеином вследствие формирования дисульфидного комплекса между гомоцистеином и аннексином II. Изложенные механизмы, несмотря на свою привлекательность, нельзя считать окончательно установленными, их подтверждение требует проведения дополнительных исследований на моделях *in vivo*.

Способность к взаимодействию с пламиногеном, t-PA и apoLp(a) проявляет и другой рецептор, обнаруженный на эндотелии, — актин [75]. Именно актин, по мнению авторов, играет главную роль в связывании вышеуказанных лигандов с эндотелиальными клетками человека. Взаимодействие пламиногена с актином на поверхности эндотелия может иметь различные последствия. Изучая процессы миграции опухолевых клеток эндотелиального происхождения, авторы работы [50] предлагают следующую последовательность событий. Пламиноген связывается с поверхностным актином через K5. Взаимодействие урокиназы с ее рецептором на эндотелии приводит к активации пламиногена и образованию плазмينا. Находясь в комплексе с актином, плазмин способствует клеточной миграции, расщепляя компоненты экстрацеллюлярного матрикса. Плазмин также может способствовать проявлению ангиогенных свойств опухоли, активируя эндотелиальные факторы роста VEGF-C и VEGF-D, которые являются мощными индукторами ангиогенеза. С дру-

гой стороны, плазмин, связанный с актином на поверхности эндотелия, подвергается аутодеградации. В результате образуется молекула ангиостатина — K1-4,5 — с укороченным K5. Образовавшийся ангиостатин высвобождается из комплекса с актином и поступает в кровоток. Известно, что ангиостатины являются ингибиторами ангиогенеза. Таким образом, пламиноген/плазмин, связываясь с актином на эндотелии, может обеспечивать локальный ангиогенный эффект, обусловленный плазмином, и антиангиогенный эффект благодаря образованию ангиостатина.

Регуляция пламиногеном/плазмином активации, секреции, миграции и апоптоза моноцитов и макрофагов

Моноциты и макрофаги как клетки представляющие антиген, а также высвобождающие эффекторные молекулы — цитокины, лейкотриены и тканевой фактор, играют ключевую роль в воспалительной реакции. Миграция моноцитов к участку воспаления — сложный процесс, который включает их адгезию на эндотелиальных клетках, прохождение через стенку сосудов и околосоудистую соединительную ткань и миграцию по хемотаксическому градиенту [76, 77]. Необходимым условием миграции моноцитов из одной ткани в другую, в том числе из периферической крови, является участие протеиназ, способных расщеплять экстрацеллюлярные протеины, такие как фибрин, ламинин, фибронектин, фактор фон Виллебранда, тромбоспондин. Многочисленные исследования показывают, что моноциты, как и большинство клеток крови, связывают на своей поверхности пламиноген/плазмин и, тем самым, реализуют большинство своих биологических функций. Плазмин, генерируемый на поверхности клеток, индуцирует агрегацию нейтрофилов, дегрануляцию тромбоцитов, освобождение арахидоновой кислоты из эндотелиальных клеток и лейкотриенов из моноцитов. Таким образом, плазмин выполняет роль провоспалительного агониста.

При хронических воспалениях, особенно при атеросклерозе, связанном с повреждением стенки сосуда, моноциты и макрофаги являются патологическими факторами. Функционирование моноцитов как антигенпрезентирующих клеток требует активации лимфокинами Т-клеток, например, γ -интерфероном, или бактериальными эндотоксинами. Активация моноцитов означает индукцию или усиление экзогенных и эндогенных клеточных процессов, которые обеспечивают иммунную реак-

цию. Важную роль в этих процессах играет аутокринная стимуляция [78].

Существуют многочисленные доказательства того, что плазмин является мощным, специфическим активатором моноцитов человека. В конце 80-х годов Simmet и Luck [79] сообщили, что свертывание цельной крови человека *in vitro* сопровождается образованием цистеинил-лейкотриенов (LT C4, LT D4, LT E4) в результате активации 5-липоксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты. Дополнительные исследования с аутологичными клетками показали, что контактная активация 5-липоксигеназного пути в свернувшейся крови происходит на моноцитах [80]. В результате инкубации мононуклеарных лейкоцитов, но не полиморфноядерных нейтрофилов, с рекальцинированной плазмой, активированной контактным путем, происходит высвобождение лейкотриенов, что свидетельствует о клеточной специфичности механизма активации [81]. В то же время, эта реакция не зависит от тромбина, который образуется вследствие запуска каскада коагуляции и стимулирует активацию циклооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты, приводящего к биосинтезу простаноидов, поскольку в присутствии специфического ингибитора тромбина — гепарина, уровень лейкотриенов не изменяется. В ходе поиска стимулятора активации 5-липоксигеназного пути в периферических моноцитах Weide и соавт. [82] предположили, что им может быть плазмин, так как на поверхности моноцитов и моноцитоподобных клеток линии U937 имеются участки связывания пламиногена/плазмينا, а контактная активация внутреннего каскада свертывания крови обуславливает появление фибринолитической активности. Дальнейшие эксперименты показали, что активаторы пламиногена — стрептокиназа и урокиназа (в зависимости от концентрации), усиливают активацию моноцитов в контакт-стимулированной крови. Ингибиторы плазмينا апротинин и α_2 -APm блокируют контакт-опосредованную 5-липоксигеназную активность моноцитов. Моноклональные антитела против фрагмента пламиногена, содержащего каталитический домен и пятый крингл, полностью блокируют 5-липоксигеназную стимуляцию в моноцитах, инкубированных как с богатой, так и бедной тромбоцитами плазмой. Перечисленные данные свидетельствуют в пользу того, что плазмин является активатором 5-липоксигеназного пути в моноцитах. Специфичность действия плазмينا подтверждается рядом фактов. Во-

первых, аналоги лизина — 6-АГК и АМСА, блокирующие LBS молекулы плазмينا, ингибируют его стимулирующий эффект; во-вторых для реализации этого эффекта необходим каталитический центр энзима, поскольку ни пламиноген, ни плазмин с заблокированным активным центром не активируют моноциты; в-третьих, другие протеиназы — тромбин, химотрипсин, катепсин G, факторы Va и Xa не вызывают селективную активацию 5-липоксигеназного пути [82, 83]. Таким образом, плазмин, образующийся на поверхности моноцитов в результате активации контактного пути свертывания крови, индуцирует синтез лейкотриенов в человеческих периферических моноцитах и, тем самым, участвует в регуляции и распространении воспалительного процесса. Возможно, что именно плазмин является связующим звеном между каскадом коагуляции и воспалительными реакциями.

При воспалительном ответе моноциты мигрируют из кровотока к месту воспаления в результате хемотаксиса — процесса миграции клеток к хемоаттрактанту. Плазмин, образующийся на мембране клеток, вызывает хемотаксический ответ моноцитов, сравнимый с тем, который обусловлен стандартным хемоаттрактантом — FMLP [84]. Исследования плазминопосредуемой генерации лейкотриенов моноцитами показали, что присутствие пламиногена не оказывало влияния на индуцируемую плазмином стимуляцию моноцитов [83]. Следовательно, опосредуемый плазмином, хемотаксис моноцитов может происходить при физиологических условиях. Хемотаксический эффект плазмينا специфичен для моноцитов, поскольку не проявляется на полиморфноядерных нейтрофилах [84]. Показано, что для проявления плазминопосредуемого хемотаксиса моноцитов необходимы как LBS, так и интактный каталитический центр энзима, так как АМСА в зависимости от концентрации ингибирует хемотаксическое действие плазмينا, а пламиноген и плазмин с заблокированным активным центром не стимулируют хемотаксис моноцитов [84]. Подобные эффекты наблюдаются при стимуляции плазмином образования лейкотриенов. Возможно, это является отражением общего механизма стимуляции клеток плазмином. Значимость LBS и активного центра энзима показаны для индуцируемой плазмином агрегации полиморфноядерных нейтрофилов и ранней фазы плазминстимулируемого высвобождения арахидоната из эндотелиальных клеток быка [85, 86].

Рецепторы для хемотаксических агентов ассоциируют с G-протеинами, что было доказано с применением специфических бактериальных токсинов, таких как токсин коклюша. Этот протеин ингибирует сигнальную трансдукцию и хемотаксис человеческих моноцитов, которые стимулировали хемоаттрактантами — MCP-1 или FMLP [87]. Плазмин-индуцируемый хемотаксический ответ также ингибируется токсином коклюша. Авторы делают вывод, что в передаче хемотаксического сигнала плазмина принимает участие чувствительный к токсину коклюша G-протеин. Другим важным компонентом трансдукции хемоаттрактантного сигнала плазмينا является протеинкиназа C. Два структурно и функционально различных ингибитора протеинкиназы C — 1-о-гексадецил-2-о-метил-*rac*-глицерин и хелеритрин — оказывают ингибирующий эффект на хемотаксическую активацию моноцитов, стимулируемую плазмином, что подтверждает важную роль протеинкиназы C в плазмин-индуцируемой миграции моноцитов. Плазмин также инициирует значительное увеличение количества cGMP. Ингибитор цитозольной гуанилатциклазы — LY 83583 нейтрализует оба эффекта плазмينا — увеличение cGMP и хемотаксический ответ, что указывает на важную роль фосфорилирования зависимого от G-киназ, для протеина, клеточной миграции, вызываемой плазмином [84].

В процессе воспаления моноциты и макрофаги подвергаются апоптозу. Индукция апоптоза обеспечивает механизм регуляции воспалительного ответа путем устранения активированных и дифференцированных моноцитов/макрофагов. Исследования последних лет показали, что пламиноген способен влиять на апоптоз моноцитов [88]. Мононуклеарные клетки, выделенные из донорской крови, и моноцитоидные клетки линии U937 обрабатывали индукторами апоптоза — TNF- α или циклогексимином. FACS-анализ клеток показал, что на ранней стадии апоптоза увеличивается количество связываемого с клетками пламиногена. Специфичность этого взаимодействия подтверждается тем, что оно ингибируется 6-АГК [89]. FACS анализ клеток U937 инкубированных с TNF- α и увеличивающейся концентрацией пламиногена показал, что зимоген нейтрализует апоптоз моноцитоидных клеток, вызываемый TNF- α . Пламиноген в концентрации 2 мкМ снижает процент клеток, находящихся на стадиях раннего и позднего апоптоза, и восстанавливает количество жизнеспособных клеток. Подобный эффект плаз-

миногена был получен при циклогексими-диндуцированном апоптозе моноцитоидных клеток и моноцитов и TNF- α -индуцированном апоптозе мононуклеарных клеток крови. Эти данные указывают на то, что плазминоген при физиологической концентрации проявляет цитопротекторные свойства. Обработка плазминогеном обоих типов клеток также заметно снижает внутриядерную фрагментацию ДНК и понижает уровень активных каспаз – 3,8,9 [88]. 6-АГК полностью нейтрализует антиапоптотический эффект плазминогена на клетках, обработанных как TNF- α , так и циклогексимидом, что свидетельствует об участии крингловых доменов плазминогена в ингибировании апоптоза. Однако продукты эластазного гидролиза плазминогена – K1-3, K4 и рекомбинантный K5 – не влияют на апоптоз моноцитов. В то же время фрагмент плазминогена, содержащий каталитический домен и K5 ингибирует апоптоз моноцитов, но менее эффективно, чем нативный плазминоген. Цитопротекторные свойства плазминогена не проявлялись при использовании мутантного зимогена с заменой D(646)E и антител против PAR-1 [88]. Таким образом, для полной реализации антиапоптотической функции плазминогена необходимы как крингловые структуры, так и каталитический центр.

Активация моноцитов сопровождается экспрессией провоспалительных генов. Плазмин в моноцитах вызывает экспрессию TF и цитокинов: IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , а также синтез мРНК этих протеинов. Плазмин с активным центром, заблокированным D-Val-Phe-Lys-хлорметилкетонном, не вызывает подобный эффект. Экспрессия мРНК ингибируется аналогом лизина – АМСА, подтверждая, что плазмин связывается с моноцитами через LBS крингловых доменов. Экспрессия цитокинов и TF не наблюдается при активации моноцитов другими стимуляторами – актиномицином D или циклогексимидом [90].

Экспрессия генов при активации клетки регулируется факторами транскрипции, такими как NF- κ B и AP-1. Центры связывания NF- κ B обнаружены в промоторных участках множества генов, например, IL-1, IL-6, TNF- α , MCP-1, TF. Считается, что NF- κ B играет центральную роль в координации генной экспрессии моноцитов и макрофагов [91, 92] и обеспечивает молекулярную основу клеточных ответов на разные стимулы. Наиболее часто встречающаяся форма NF- κ B – гетеродимер, состоящий из субъединицы p65 и одной из субъединиц p50 или p52. Методом EMSA

показано, что плазмин вызывает активацию фактора транскрипции NF- κ B, содержащего комплекс протеинов p65 и p50 или c-Rel.

В цитоплазме нестимулированных клеток NF- κ B находится в комплексе с ингибиторными протеинами I κ B- α и I κ B- β . Как показали экспериментальные данные, плазмин вызывает быструю деградацию I κ B- α с одновременной активацией NF- κ B, а также деградацию другого цитоплазматического ингибитора NF- κ B – p105. [90]. Протеолиз ингибиторных протеинов NF- κ B является результатом их фосфорилирования специфическими киназами – IKK- α и IKK- β . Плазминовая стимуляция моноцитов также вызывает связывание фактора транскрипции AP-1, состоящего из Jun-D, c-Fos или Fos-B димеров, с ДНК. Поскольку функциональные рецепторы плазмينا еще не идентифицированы, механизм передачи его сигнала к NF- κ B или AP-1 остается неизвестным [90].

Плазмин способен активировать в моноцитах несколько сигнальных каскадов, которые кооперируются при индукции провоспалительных генов (рис. 2).

Один из основных сигнальных путей, контролирующих экспрессию разных провоспалительных генов, связан с митогенактивируемой протеинкиназой (МАРК). Показано, что в моноцитах человека плазмин стимулирует МАРК сигналинг через фосфорилирование и тем самым активацию МАРК 3/6, за которой следует активация p38 МАРК [94]. Вследствие фосфорилирования p38 МАРК фактор транскрипции AP-1, существенный для экспрессии генов цитокинов и TF, связывается с ДНК. Активация AP-1 полностью блокируется в результате действия ингибитора p38 МАРК – SB203580. Плазмин дополнительно запускает JAK/STAT сигналинг через фосфорилирование протеинов JAK 1, STAT-1 и STAT-3 [94]. С использованием методом EMSA показано, что в течение 20 мин после стимуляции моноцитов плазмином, комплекс STAT/ДНК содержит больше STAT-3- и меньше STAT-1-димеров. Плазмининдуцируемое связывание STAT-1 и STAT-3 с ДНК блокируется SB203580 и AG490 ингибиторами p38 МАРК и JAK, соответственно. Ингибирующий эффект этих соединений не проявляется при связывании NF- κ B с ДНК. Стимуляция плазмином приводит к экспрессии MCP-1 и CD40, для которой необходима активация p38 МАРК и JAK/STAT сигнальных путей. Приведенные данные указывают на то, что в моноцитах плазмин запускает множественные сигнальные пути, которые могут пересекаться и приводят к полно-

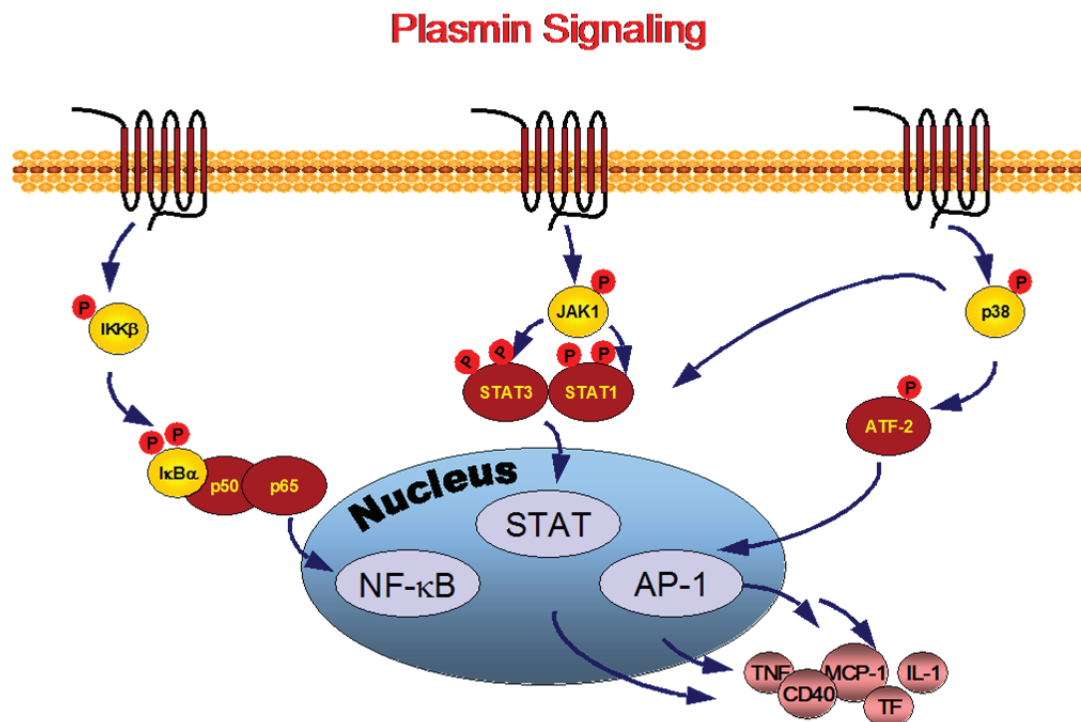


Рис. 2. Схема индуцированной плазмином активации сигнальных путей – NF-κB, JAK/STAT и p28/AP-1 [93]

масштабной активации моноцитов, начиная от стимуляции биосинтеза липидных медиаторов до экспрессии генов.

Итак, плазмин, вызывая полномасштабную активацию моноцитов человека, включающую высвобождение липидных медиаторов, хемотаксис, индукцию цитокинов и тканевого фактора, является патофизиологическим стимулом, задействованным в распространении воспалительного процесса.

Таким образом, плазминоген/плазминовая система помимо фибринолитической выполняет в организме и другие физиологические и патологические функции, реализуемые путем взаимодействия зимогена с рецепторами клеток и регуляцией их активности. Генерируемый на поверхности клеток плазмин непосредственно или через активацию матриксных металлопротеиназ вовлекается в процессы межклеточного протеолиза, тем самым участвуя в миграции клеток. Активируя или освобождая факторы роста, он влияет на пролиферацию эндотелиоцитов, стимулируя процессы ангиогенеза. Плазминоген, связываясь с различными протеинами-рецепторами на поверхности клеток, может модулировать межклеточные взаимодействия, влияя на адгезию моноцитов или агрегацию тромбоцитов и

нейтрофилов. Плазминоген/плазмин участвует в распространении воспалительного процесса. Активируя рецепторы моноцитов, плазмин запускает множественные сигнальные пути клетки, приводящие к экспрессии генов и индукции цитокинов. Межмолекулярные взаимодействия плазминоген/плазмина обеспечиваются структурными отличиями лиганд-связывающих участков крингловых доменов и конформационной изменчивостью молекулы. Дальнейшие исследования процессов с участием плазминоген/плазмина в системе гемостаза будут направлены на решение проблем, связанных с тромбозом, онкогенезом и ангиопатиями.

РОЛЬ ПЛАЗМИНОГЕН/ПЛАЗМИНУ У ФУНКЦІОНУВАННІ КЛІТИН КРОВІ

Д. Д. Жерносєков, О. І. Юсова,
Т. В. Гриненко

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України, Київ;
e-mail:grinenko@biochem.kiev.ua

В огляді представлено дані про структурні особливості плазміноген/плазмінової молекули, що обумовлюють специфічність

міжмолекулярних взаємодій та визначають різноманітність її біологічних функцій. Наведено основні принципи сучасної класифікації плазміногенових рецепторів та фактори, що впливають на їх експресію. Розглядаються механізми, що регулюють утворення та активність плазміну на поверхні клітин, фібрину та протеїнах екстрацелюлярного матрикса. Узагальнено дані літератури та власних досліджень авторів стосовно впливу плазміноген/плазміну на агрегацію тромбоцитів, індуковану різними агоністами. Обговорюється питання про участь плазміноген/плазміну в атерогенезі та ангиогенезі, що опосередкована рецепторами ендотеліоцитів. Особливу увагу приділено прозапальній функції плазміноген/плазміну, яка реалізується через регуляцію процесів активації, секреції, міграції та апоптозу моноцитів і макрофагів.

Ключові слова: плазміноген, плазмін, лізінзв'язувальні ділянки кринглових доменів, плазміногенові рецептори, клітини крові, агрегація тромбоцитів, клітинний сигналінг, ангиогенез, запалення.

ROLE OF PLASMINOGEN/PLASMIN IN FUNCTIONAL ACTIVITY OF BLOOD CELLS

*D. D. Zhernossekov, E. I. Yusova,
T. V. Grinenko*

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail:grinenko@biochem.kiev.ua

Summary

The article deals with the data concerning structural peculiarities of plasminogen/plasmin molecule, which define the specificity of intermolecular interactions and provide the variety of its biological functions. The main principles of the modern classification of plasminogen receptors and factors, which modulate their expression, have been presented. We have considered the mechanisms regulating both plasmin formation and activity on the surface of cells, fibrin and proteins of extracellular matrix. The data of previous investigators and our own results, concerning the influence of plasminogen/plasmin on platelet aggregation induced by different agonists, have been summarized. The participation of plasminogen/plasmin in atherogenesis and angiogenesis mediated by endotheliocyte receptors has been discussed. Special attention was given to plasminogen/plasmin pro-

inflammatory function, which is realized by regulatory processes of activation, secretion, migration and apoptosis of monocytes and macrophages.

Key words: plasminogen, plasmin, lysine-binding sites of kringle domains, plasminogen receptors, blood cells, platelet aggregation, cell signaling, angiogenesis, inflammation.

1. Parry M. A., Zhang X. C., Bode W. // Trends Biochem. Sci. — 2000. — **25**, N 2. — P. 53–59.
2. Zhang L., Seiffert D., Fowler B. J. et al. // Thromb. Haemost. — 2002. — **87**, N 3. — P. 493–501.
3. Lijnen H. R., Van Hoef B., Collen D. // Eur. J. Biochem. — 1981. — **120**, N 1. — P. 149–154.
4. Wang H., Prorok M., Bretthauer R. K., Castellino F. J. // Biochemistry. — 1997. — **36**, N 26. — P. 8100–8106.
5. Ponting C. P., Marshall J. M., Cederholm-Williams S. A. // Blood Coagul. Fibrinolysis. — 1992. — **3**, N 3. — P. 605–614.
6. Tulinsky A. // Thromb. Haemost. — 1991. — **66**, N 1. — P. 16–31.
7. Lietha D., Chirgadze D. Y., Mulloy B. et al. // EMBO J. — 2001. — **20**, N 20. — P. 5543–5555.
8. Chirgadze D. Y., Htpple J. P., Zhou H. et al. // Nat. Struct. Biol. — 1999. — **6**, N 1. — P. 72–79.
9. Ruggeri R. M., Vitarelli T., Barresi G. et al. // Eur. J. Histochem. — 2010. — **54**, N 2: e24.
10. Lucas J. M. A., Fretto L. J., McKee P. A. // J. Biol. Chem. — 1983. — **258**, N 7. — P. 4249–4256.
11. Гриненко Т. В., Кудинов С. А. / Биохимия животных и человека. — К.: Наук. думка, 1991. — **15**. — С. 66–76.
12. Гриненко Т. В., Юсова О. И., Задорожна М. Б., Макогоненко Є. М. // Укр. біохім. журн. — 2002. — **74**, № 6. — С. 83–90.
13. Herren T., Swaisgood C., Plow E. F. // Front. Biosci. — 2003. — **8**: d 1–8.
14. Knudsen B. S., Silverstein R. L., Leung L. L. et al. // J. Biol. Chem. — 1986. — **261**, N 23. — P. 10765–10771.
15. Kim P. Y., Tieu L. D., Stafford A. R. et al. // Ibid. — 2012. — **287**, N 7. — P. 4652–4661.
16. Geiger J. H., Cnudde S. E. // J. Thrombos. Haemost. — 2004. — **2**, N 1. — P. 23–34.
17. Wahl M. L., Kenan D. J., Gonzalez-Gronov M., Pizzo S. V. // J. Cell Biochem. — 2005. — **96**, N 2. — P. 242–261.
18. Aisina R. D., Mukhametova L. I., Gulina D. A. et al. // Biochemistry (Mosc). — 2009. — **74**, N 10. — P. 1104–1113.
19. Moverly Y. M., Pizzo S. V. // Blood. — 2009. — **114**, N 9. — P. 1727–1728.

20. Ma J., Li C., Shao C., Gao G., Yang X. // *Mol. Vis.* – 2012. – **18**. – P. 330–336.
21. Abad M. C., Arni R. K., Grella D. R. et al. // *J. Mol. Biol.* – 2002. – **318**, N 4. – P. 1009–1017.
22. Rios-Steiner J. L., Schenone M., Mochalkin J. et al. // *J. Mol. Biol.* – 2001. – **308**, N 4. – P. 705–719.
23. Burgin J., Schaller J. // *Cell Mol. Life Sci.* – 1999. – **55**, N 1. – P. 135–141.
24. Cristen M. T., Franc P., Llinas M. // *Biochemistry.* – 2010. – **49**, N 33. – P. 7131–7150.
25. Cao Y., Ji W. R., Davidson D. et al. // *J. Biol. Chem.* – 1996. – **271**, N 46. – P. 29461–29467.
26. Ji W. R., Castellino F. J., Chang Y. et al. // *FASEB J.* – 1998. – **12**, N 15 – P. 1731–1738.
27. Chang Y., Mochalkin I., McCance S. G. et al. // *Biochemistry.* – 1998. – **37**, N 10 – P. 3258–3271.
28. Ji W. R., Barrientos L. G., Llinas M. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998a. – **247**, N 2 – P. 414–419.
29. Lay A. J., Jiang X. M., Daly T. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, N 11 – P. 9062–9068.
30. Marshall J. M., Brown A. J., Ponting C. P. // *Biochemistry.* – 1994. – **33**, N 12. – P. 3599–3606.
31. Cockell C. S., Marshall J. M., Cederholm-Williams S. A. et al. // *Biochem. J.* – 1998. – **333**, N 1 – P. 99–105.
32. Warejcka D. J., Twining S. S. // *Ibid.* – 2005. – **393**, Pt 3. – P. 703–712.
33. Madoiwa S., Arai K., Ueda Y. et al. // *J. Biochem.* – 1997. – **121**, N 2. – P. 278–287.
34. Markus G. // *Fibrinolysis.* – 1996. – **10**, N . – P. 75–85.
35. Wiman B. // *Methods Enzymol.* – 1981. – **80**. – P. 395–408.
36. Coughlin P. B. // *FEBS J.* – 2005. – **272**, N 19. – P. 4852–4857.
37. Schaller J., Gerber S. S. // *Cell Mol. Life Sci.* – 2011. – **68**, N 5. – P. 785–801.
38. Asakura H. // *Rinsho Byori.* – 2011. – **59**, N 10. – P. 970–977.
39. Bass R., Ellis V. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2002. – **30**, N 2 – P. 189–194.
40. Dejouvencel T., Doeuvre L., Lacroix R. et al. // *Blood.* – 2010. – **115**, N 10. – P. 2048–2056.
41. Lacroix R., Sabatier F., Mialhe A. et al. // *Ibid.* – 2007. – **110**, N 7. – P. 2432–2439.
42. Pepper M. S., Vassalli J. D., Montesano R., Orci L. // *J. Cell Biol.* – 1987. – **105**, N 6, Pt 1. – P. 2535–2541.
43. Степанова В. В., Ткачук В. А. // *Биохимия.* – 2002. – **67**, вып. 1. – С. 127–138.
44. Redlitz A., Tan A. K., Eaton D. L., Plow E. F. // *J. Clin. Invest.* – 1995. – **96**, N 5. – P. 2534–2538.
45. Swaisgood C. M., Schmitt D., Eaton D., Plow E. F. // *Ibid.* – 2002. – **110**, N 9 – P. 1275–1282.
46. Miles L. A., Fless G. M., Scanu A. M. et al. // *Thromb. Haemost.* – 1995. – **73**, N 3. – P. 458–465.
47. Hancock M. A., Boffa M. B., Marcovina S. M. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**, N 26. – P. 23260–23269.
48. Choi K. S., Fitzpatrick S. L., Filipenko N. R. et al. // *Ibid.* – 2001. – **276**, N 27. – P. 25212–25221.
49. Das R., Pluskota E., Plow E. P. // *Trends Cardiovasc. Med.* – 2010. – **20**, N 4 – P. 120–124.
50. Wang H., Doll J. A., Jiang K. et al. // *Cancer Res.* – 2006. – **66**, N 14. – P. 7211–7215.
51. Plow E. F., Herren T., Redlitz A. et al. // *FASEB J.* – 1995. – **9**, N 10. – P. 939–945.
52. Lishko V. K., Novokhatny V. V., Yakubenko V. P. et al. // *Blood.* – 2004. – **104**, N 3. – P. 719–726.
53. Miles L. A., Hawley S. B., Baik N. et al. // *Front. Biosci.* – 2005. – **10**. – P. 1754–1762.
54. Lopez-Aleman R., Longstaff C., Hawley S. et al. // *Am. J. Hematol.* – 2003. – **72**, N 4. – P. 234–242.
55. Wygrecka M., Marsh L. M., Morty R. E. et al. // *Blood.* – 2009. – **113**, N 22. – P. 5588–5598.
56. George J. N., Lyons R. M., Morgan R. K. // *J. Clin. Invest.* – 1980. – **66**, N 1. – P. 1–9.
57. Dudani A. K., Ben-Tchavichavadze M., Porter S., Tackaberry E. // *Biochem. Cell Biol.* – 2005. – **83**, N 1. – P. 28–35.
58. Kishimoto T. K., Baldwin E. T., Anderson D. C. / in Gallin G. I., Snyderman R. (eds.). – *Inflammation: Basic principles and clinical correlates.* – Philadelphia, PA: Lippincott, Williams and Wilkins. – 1999. – P. 537–569.
59. Yakubenko V. P., Lishko V. K., Lam S. C. T., Ugarova T. P. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, N 50. – P. 48635–48642.
60. Philippeaux M. M., Vesin C., Tacchini-Cottier F., Pigué P. F. // *Eur. J. Haematol.* – 1996. – **56**, N 3. – P. 130–137.
61. Tarui T., Majumdar M., Miles L. A. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, N 37. – P. 33564–33570.
62. Gilbert C. / IXth Congress of Int. Soc. Haematol. Bangkok, Thailand. – 1999. – P. 207–210.
63. Miles L. A., Ginsberg M. H., White J. G., Plow E. F. // *J. Clin. Invest.* – 1986. – **77**, N 6. – P. 2001–2009.
64. Schafer A. I., Adelman B. // *Ibid.* – 1985. – **75**, N 2. – P. 456–461.
65. Gouin I., Lecompte T., Morel M-C. et al. // *Circulation.* – 1992. – **85**, N 3. – P. 935–941.

66. Sheu J. R., Fong T. H., Liu C. M. et al. // Brit. J. Pharmac. – 2004. – **143**, N 1. – P.193–201.
67. Schafer A. I., Maas A. K., Ware J. A. et al. // J. Clin. Invest. – 1986. – **78**, N 1. – P. 73–79.
68. Niewiarowski S., Senyi A. F., Gillies P. // Ibid. – 1973. – **52**, N 7. – P. 1647–1659.
69. Kahn M. L., Hammes S. R., Botka C., Coughlin S. R. // J. Biol. Chem. – 1998. – **273**, N 36. – P. 23290–23296.
70. Roka-Moya Y. M., Zhernossekov D. D., Grinenko T. V. et al. / Bulletin of the University of Kiev, series: Biology. – 2011. – **58**. – P. 34–36.
71. Roka-Moya Y. M. / Abstracts of the VI International young scientists' conference, Kharkiv, – 2011. – P. 64–65.
72. Zhernosekov D. D., Zolotareva E. N. // Biopolym. Cell. – 2011. – **27**, N 4. – P. 258–263.
73. Chew D. P., Bhatt D. L., Sapp S. et al. // Circulation. – 2001. – **103**, N 2. – P. 201–206.
74. Kim J., Hajjar K. A. // Front. Biosci. – 2002. – **7**. – P. 341–348.
75. Dudani A. K., Ganz P. R. // Brit. J. Haematol. – 1996. – **95**, N 1. – P. 168–178.
76. Brownstein C., Deora A. B., Jacovina A. T. et al. // Blood. – 2004. – **103**, N 1. – P. 317–324.
77. MacLeod T. J., Kwon M., Filipenko N. R. et al. // J. Biol. Chem. – 2003. – **278**, N 28. – P. 25577–25584.
78. Lusinskas F. W., Gimbrone M. A. // Annu. Rev. Med. – 1996. – **47**. – P. 413–421.
79. Simmet T., Luck W. // Thromb. Res. – 1989. – **54**, N 5. – P. 423–433.
80. Weide I., Simmet T. // Ibid. – 1993. – **71**, N 3. – P. 185–192.
81. Kaplan A., Silverberg M. // Blood. – 1987. – **70**, N 1. – P. 1–15.
82. Weide I., Romisch J., Simmet T. // Ibid. – 1994. – **83**, N 7. – P. 1945–1951.
83. Weide I., Tippler B., Syrovets T. et al. // Thromb. Haemost. – 1996. – **76**, N 4. – P. 561–568.
84. Syrovets T., Tippler B., Rieks M. et al. // Blood. – 1997. – **89**, N 12. – P. 4574–4583.
85. Ryan T., Lai L., Malik A. // J. Cell Physiol. – 1992. – **151**, N 2. – P. 255–261.
86. Chang W., Shi G-Y., Chow Y-H et al. // Am. J. Physiol. – 1993. – **264**, (2 Pt 1) – P. 271–281.
87. Sozzani S., Luini W., Molino M. et al. // J. Immunol. – 1991. – **147**, N 7. – P. 2215–2221.
88. Mitchell J., Baik N., Castellino J. et al. // Blood. – 2006. – **107**, N 11. – P. 4383–4390.
89. Miles L., Dahiberg C., Piescia J. et al. // Biochemistry. – 1991. – **30**, N 6. – P. 1682–1691.
90. Syrovets T., Jendrach M., Rohwedder A. et al. // Blood. – 2001. – **97**, N 12. – P. 3941–3950.
91. Mackman N. // Thromb. Haemost. – 1997. – **78**, N 1. – P. 747–754.
92. Guha M., Mackman N. // Cell Signal. – 2001. – **13**, N 2. – P. 85–94.
93. Syrovets T., Simmet T. // Cell. Mol. Life Sci. – 2004. – **61**, N 7–8. – P. 873–885.
94. Barysek L., Syrovets T., Simmet T. // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**, N 36. – P. 33509–33517.

Получено 23.03.2012