

# Маркеры дисфункции эндотелия

# 5

## МАРКЕРЫ, ОПИСАННЫЕ В I ТОМЕ КАТАЛОГА

*Ангиотензин II / Асимметричный диметиларгинин (ADMA) / Ингибитор активации пламиногена 1 типа (PAI-1) / Индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS или NOS-2) / Натрийуретический пропептид C-типа (Nt-proCNP) / Окись азота (NO) / Простациклин / Тканевой активатор пламиногена (t-PA) / Тромбомодулин (растворимый рецептор CD141) / Фактор Виллебранда / Эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS или NOS-3) / Эндотелин (1-21)*

Дисфункция эндотелия играет важную роль в развитии тромбоза, неоангиогенеза, ремоделирования сосудов, внутрисосудистой активации тромбоцитов и лейкоцитов. Эндотелиальная выстилка сосудов регулирует местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистый тонус. При дисфункции эндотелия наблюдается дисбаланс между факторами, обеспечивающими эти процессы. Нарушения обнаруживаются практически при всех сердечно-сосудистых заболеваниях, атеросклерозе, диабете, гипертонии, сепсисе, злокачественных образованиях, эректильной дисфункции.

### Рецептор эндотелиального протеина С (EPCR)

EPCR, также известный как активированный рецептор протеина С (PC), имеет м.м. 49 кДа, относится к трансмембранным гликопротеинам типа I, которые принадлежат к семейству молекул CD1/HLA I класса. Человеческий EPCR по аминокислотной последовательности на 69% гомологичен мышинному. Высвобождение мембранного EPCR, опосредованное TACE/ADAM17, приводит к образованию растворимой формы рецептора с м.м. 43 кДа. EPCR в основном экспрессируется

в эндотелиальных клетках, но также обнаружен в нейтрофилах и васкулярных гладкомышечных клетках. Как мембранные, так и растворимые формы EPCR высокоэффективно связывают плазматический витамин К-зависимый зимоген, PC, сериновую протеазу, активированный PC и проявляют активность, которая оказывает воздействие на коагуляцию, воспалительные процессы, фибринолиз и клеточную пролиферацию. Активация PC на поверхности эндотелиальных клеток инициирует ряд процессов, играющих ключевую роль в регуляции свертывания крови и в ответе организма на воспаление.

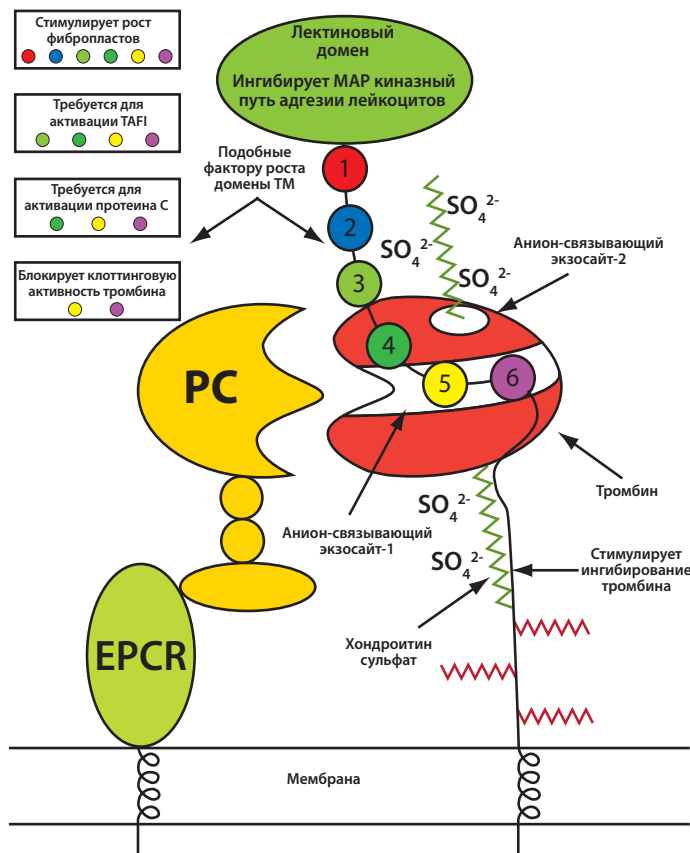
PC переходит в активированную форму путем тромбин-опосредованного расщепления N-концевой последовательности. Для эффективной активации PC тромбином необходим трансмембранный гликопротеин – тромбомодулин (TM), который в качестве кофактора тромбина усиливает этот процесс более чем в 1000 раз. При образовании комплекса тромбина с тромбомодулином активный центр фермента перестает проявлять тромбогенную активность, что проявляется многократным снижением способности к расщеплению фибриногена, активации фактора V и тромбоцитов. При этом связывание PC с EPCR

уменьшает эффективность активации EPCR комплексом тромбин–тромбомодулин в 20 раз. Когда образуется активированный PC, то, прежде чем провзаимодействовать с протеином S на поверхности тромбоцитов или эндотелия, он некоторое время остается связанным с EPCR, где инактивируется  $\alpha 1$ -антитрипсином, ингибитором EPCR и/или  $\alpha 2$ -макроглобулином. Кроме того, EPCR изменяет субстратную специфичность активированного PC. В отличие от мембранной формы EPCR, активирующей PC, растворимая форма EPCR блокирует клеточную активацию этого белка и его антикоагуляционное действие. Таким образом, растворимая форма EPCR оказывает противоположный эффект на регуляцию PC системы свертывания. Кроме того, тромбин может вызывать увеличение уровня мРНК, отвечающей за экспрессию EPCR. Таким образом, тромбин запускает механизм, повышающий синтез EPCR.

### Рецептор Tie-2

Tie-2 (также известный как Tek) – тирозинкиназный рецептор, который экспрессируется, главным образом, на эндотелиальных клетках и играет существенную роль в развитии сосудов. Ген Tie-2 кодирует белок, состоящий из 1122 аминокислот. Часть внутриклеточного Tie-2 содержит два тирозинкиназных домена, фосфорилирование которых приводит к связыванию Grb2, Grb7, Grb14, Shp2 с p85 субъединицей фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и Dok-R. Удаление последних 16 аминокислот из внутриклеточной C-терминальной области приводит к увеличению уровня аутофосфорилирования, что, предположительно, может играть аутоингибиторную роль. Tie-2 в целом только на 46% гомологичен с остальными членами семейства, в то время как цитоплазматические домены тирозинкиназы являются самыми высоко

Взаимодействие комплексов тромбин-тромбомодулина и комплекса EPCR и PC

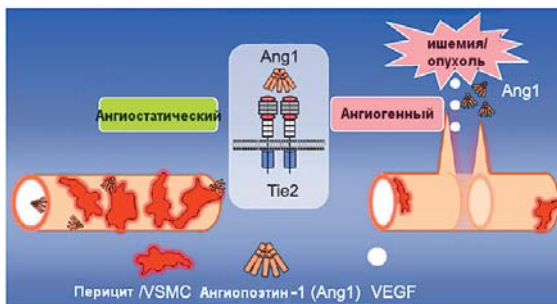


Тромбин связывается с тромбомодулином при участии анион-связывающего эксосайта 1 на тромбине (показан в виде ленты, пронизывающей середину тромбина) и EGF доменов 4-6 на тромбомодулине. Компонент тромбомодулина, содержащий хондроитинсульфат, усиливает аффинность к тромбину, но при этом он не требуется для функционирования. В свою очередь хондроитинсульфат взаимодействует с анион-связывающим эксосайтом 2 тромбина, который представляет собой область (с сильно выраженными основными свойствами) около гепарин-связывающего сайта. Было показано, что лектиновый домен тромбомодулина ингибирует адгезию лейкоцитов и MAP-киназный путь. Другие функции тромбомодулина, как показано, требуют присутствия различных EGF-доменов. Активация протеина С APC комплексом тромбин-тромбомодулин усиливается при связывании протеина С с EPCR через его Gla-домен.

консервативными, проявляя 80% структурной гомологии. Ряд исследований *in vivo* показывает важность Tie-2 в развитии сосудов. Мыши, лишённые Tie-2, умирают в среднем через 10-11 дней эмбрионального развития, у них обнаруживаются серьёзные васкулярные нарушения, включая аномальную дилатацию сосудистой системы головы, недостаточное прорастание сосудов в нейроэктодерму, упрощение структуры сосудов сердца и уменьшение числа эндотелиальных клеток. Более того, мутация Tie-2 приводит к увеличению активности рецептора в 6-10 раз, что связано с сосудистым дисморфогенезом у человека.

Схематическое изображение двух различных функций, опосредованных ангиопоэтином-1 (Ang1)-Tie2

(Fukuhara et al., 2009)



Ang1-Tie2 регулирует как ангиостаз (антиангиогенез), так и ангиогенез. В зрелых сосудах васкулярные эндотелиальные клетки поддерживаются перидитами или клетками гладкой мускулатуры сосуда (VSMCs), которые высвобождают Ang1. Известно, что сигнал Ang1-Tie2 необходим для ангиогенеза в норме и патологии, при котором контакты между эндотелиальными клетками разрушаются при участии VEGF.

Исследования *in vitro* обнаружили некоторые сигнальные механизмы, которые могут лежать в основе регуляции васкулярного развития рецептором Tie-2. Активация Tie-2 ангиопоэтином 1 может стимулировать миграцию эндотелиальных клеток, формирование отростков и выживаемость. Было показано, что Ang-1/Tie-2 – опосредованная миграция эндотелиальных клеток обусловлена двумя сигнальными путями. Первый требует стимуляции PI3K и активации FAK, а второй – рекрутинга белка Dok-R и активации p21-активированной киназы (Pak). Изначально ангиопоэтин 2 был описан как конкурентный ингибитор сигнальной системы Ang-1/Tie-2, хотя при некоторых условиях он также может и стимулировать

активность Tie-2. Кроме того, сигнальная система Ang-2/Tie-2 приводит к регрессии и смерти эндотелиальных клеток, однако при наличии VEGF может способствовать формированию новых сосудов. Ангиопоэтин 4, по-видимому, действует как агонист рецептора Tie-2. Tie-2 также экспрессируется некоторыми гемопоэтическими стволовыми клетками и нейронами. У мышей Ang-1/Tie-2 в сочетании с VEGF индуцирует гемопоэз и ангиогенез. Исследования *in vitro* показали, что сигнальная система Ang-1/Tie-2 может защищать нейроны от апоптоза по PI3K – зависимому механизму.

### Релаксин-2

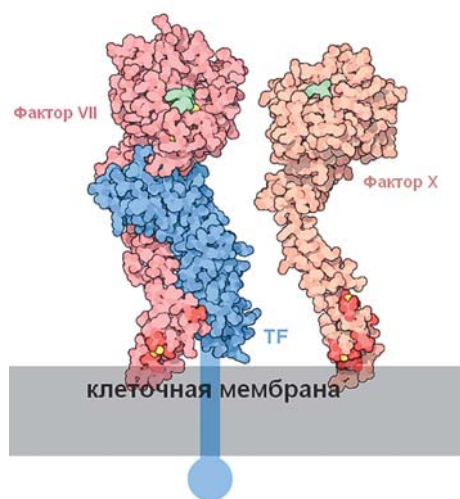
Релаксин – гормон пептидной природы с м.м. 6,5 кДа, принадлежащий к суперсемейству инсулиноподобных пептидов. Основная функция релаксина – расслабление гладких мышц, в частности, он обуславливает расслабление связок малого таза при родах. Недавно установлена его роль в расширении кровеносных сосудов, хронотропном действии на сердце, ингибирующем действии на эндотелин (мощный вазоконстриктор при сердечной недостаточности), показано влияние релаксина на секрецию гормонов гипофиза и на регуляцию водного обмена. Кроме того, релаксин ингибирует выброс гистамина тучными клетками, подавляет агрегацию и образование тромбоцитов из мегакариоцитов. Релаксин выполняет защитную функцию при ишемии-реперфузии, участвует в регуляции кровяного давления, микроциркуляции, ангиогенезе, иммуномодуляции.

### Тканевой фактор (TF)

TF (другие названия: тромбопластин, фактор свертывания III, CD142) представляет собой мембраносвязанный гликопротеин, функционирующий как рецептор и кофактор фактора VII (зимогенной и активной форме), инициирующий активацию внешнего пути системы свертывания. В норме TF либо отсутствует на поверхности сосудистого эндотелия, либо представлен конформацией, не реагирующей с фактором VII. При повреждении сосудистого эндотелия происходит взаимодействие фактора VII с TF, и образовавшийся комплекс TF/fVIIa активирует через реакции ограниченного протеолиза факторы IX и X. Запуск каскада системы свертывания в итоге приводит к

генерации тромбина и образованию фибриновых сгустков. Уровень TF повышается при стимуляции клеток эндотелия, моноцитов и макрофагов эндотоксинами, цитокинами и лектинами, вследствие чего растет и прокоагулянтная активность.

Кроме прокоагулянтной роли, известно, что TF участвует в передаче клеточных сигналов. TF (CD142) относится к семейству цитокиновых рецепторов II класса. Клетки, экспрессирующие TF, при активации TF цитокинами или при его взаимодействии с фактором VII получают регуляторные сигналы, которые играют роль в процессах апоптоза и ангиогенеза.



**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА**



Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
414-8880	Axis-Shield	Гомоцистеин, 96
AXH00101	Axis-Shield	Контроли гомоцистеина, 3 x 1,5 мл
442-0052	Biomedica	Эндотелин (1-21), 96
S-1133	BCM Diagnostics	Ангиотензин II (с экстракцией), 96
KGE001	BCM Diagnostics	Оксид азота (NO), 192 (детекция - 540 нм)
OD010C34	PALL	Пробирки с фильтрами для набора NO, 100 штук
DNS00	BCM Diagnostics	Индукцибельная синтаза оксида азота (iNOS или NOS-2), 96
DEN00	BCM Diagnostics	Эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS или NOS-3), 96
442-0872	Biomedica	Натрийуретический пропептид С-типа (Nt-proCNP) без экстракции, 96
900-025	BCM Diagnostics	Простациклин в моче, 96
5450201	Technoclone	Фактор Виллебранда (определение антигена), 96
FVWF200	Axis-Shield	Фактор Виллебранда, 96 (определение активности)
5450301	Technoclone	Коллаген III-связывающая активность фактора Виллебранда, 96
TC12005	Technoclone	Тканевой активатор плазминогена (t-PA), 96
TC12075	Technoclone	Ингибитор активации плазминогена 1 типа (PAI-1), 96
TC16010	Technoclone	Урокиназный активатор плазминогена (u-PA Combi Actibind, определение антигена и активности), 96
TC12030	Technoclone	Фибронектин, 96
DUP00	BCM Diagnostics	Рецептор урокиназного активатора плазминогена (u-PAR), 96
850-7201	BCM Diagnostics	Тромбомодулин (растворимый рецептор CD141), 96
K 7828	Immundiagnostik	Асимметричный диметиларгинин (ADMA), 96
DEPCR0	BCM Diagnostics	Эндотелиальный рецептор протеина С, 96
K 9210	Immundiagnostik	Релаксин, 96
846	American Diagnostica	Активность TF, 96