

اتصالات سلولی و مسیرهای انتقال پیام در پلاکت‌ها

سهیلا رهگذر^۱، گلناز پاکروان^۲، کامران قانندی^۳

چکیده

سابقه و هدف

پلاکت‌ها کوچکترین سلول‌های خونی هستند که کلیدی‌ترین نقش را در هموستاز ایفا می‌کنند. هدف از این مطالعه، بررسی مؤثرترین اتصالات سلولی و مهم‌ترین مسیرهای انتقال پیامی است که منجر به فعال شدن پلاکت‌ها و یا غیر فعال شدن آن‌ها در محل آسیب می‌گردد.

مواد و روش‌ها

در یک مقاله مروری، تازه‌های اتصالات سلولی و مسیرهای انتقال پیام پلاکتی با استفاده از ۵۲ مقاله از آخرین تحقیقات انجام شده در این خصوص مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

پلاکت‌ها در محل آسیب عروق، از طریق گیرنده‌های غشایی خود به ماتریکس خارج سلولی زیر اندوتلیال متصل شده، ضمن فعال‌سازی مسیرهای انتقال پیام، منجر به تشکیل لخته می‌شوند. از جمله مولکول‌های درگیر در این میان کنش، مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی از قبیل لامینین، فیبرونکتین، کلاژن، vWF و گیرنده-های غشاء پلاکتی از قبیل GPIIb-V-IX، GPVI و اینتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ می‌باشند. عملکرد پلاکتی در فرآیندهایی چون هموستاز، ترومبوز و التهاب، حاصل برقراری واکنش‌های بین سلولی و فعال شدن مسیرهای سیگنالی بین سیتوپلاسمی است.

نتیجه‌گیری

این مطالعه با بحث و بررسی مبنای مولکولی ساختارهای آنتی‌ژنیک، اتصالات سلولی و واکنش‌های پلاکتی، سعی در درک بهتر مکانیسم انعقاد دارد. مباحث فوق هم چنین می‌تواند در درمان بیماری‌های هماتولوژیک وابسته به پلاکت و پیشگیری از اختلالات ایمونوژنیک وابسته به انتقال فرآورده‌های پلاکتی کمک کننده باشد.

کلمات کلیدی: فعالیت پلاکتی، اینتگرین‌ها، مسیر پیام، ماتریکس خارج سلولی، چسبندگی سلولی

تاریخ دریافت: ۱۹/۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۹/۱/۴

۱- مؤلف مسئول: PhD ایمونوهماٹولوژی - استادیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان - خیابان هزار جریب - کدپستی: ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد سلولی مولکولی - دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

۳- PhD ژنتیک - استادیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

مقدمه

پلاکت‌ها سلول‌های کوچک بدون هسته هستند که در مغز استخوان پستانداران توسط مگاکاریوسیت‌ها تولید و وارد جریان خون می‌شوند. در طول عمر ۱۰ روزه خود، پلاکت‌ها هرگز متحمل اتصالات سخت نمی‌شوند مگر زمانی که لایه سلولی اندوتلیال عروق خونی، مانند آن چه در تصلب شریان اتفاق می‌افتد، آسیب دیده باشد (۱). برهم‌کنش بین پلاکت در حال استراحت با ترکیبات در معرض زیر اندوتلیال، اولین و مهم‌ترین رخدادی است که در محل آسیب عروق اتفاق می‌افتد (۲). پلاکت‌ها گیرنده‌های سطح سلولی زیادی دارند که از طریق آن‌ها به ماتریکس خارج سلولی زیر اندوتلیال در محل آسیب بافت چسبیده و یک لایه سلولی تشکیل می‌دهند که محل آسیب را می‌پوشاند. آزادسازی فاکتورهای محلول از پلاکت‌ها، اتصالات سلولی آن‌ها را محکم نموده، با ایجاد لخته موضعی به طور موقت مانع خونریزی می‌گردند. فعال‌سازی ریسپتورهای سطح پلاکت‌ها باعث افزایش تعداد پلاکت‌ها و تجمع آن‌ها در محل ایجاد لخته می‌شود. ایجاد شبکه پلاکتی برای توقف خونریزی در مرحله اولیه هموستاز ضروری است. اما فرآیند تشکیل لخته باید به طور دقیق تنظیم شود، چرا که تشکیل کنترل نشده لخته در عروق می‌تواند منجر به انسداد عروق و کم‌خونی موضعی و انفارکتوس اندام‌های حیاتی مثل قلب شود (۳).

ماتریکس خارج سلولی شامل تعداد زیادی ماکرومولکول‌های چسبنده است که عبارتند از: لامینین، فیبرونکتین، کلاژن‌ها و فاکتور فون ویلبراند ($vWF = von$ Willebrand Factor). جریان زیاد خون در مرکز رگ با چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها مخالف است. در جریان خون سرخرگی، اتصال آغازین پلاکت‌ها به ماتریکس خارج سلولی با واسطه واکنش متقابل بین $GPIIb$ و vWF متصل به کلاژن ایجاد می‌شود که این اتصال ممکن است در سرخرگ‌های کوچک و سیاهرگ‌ها که خون با شدت کمتری جریان دارد، متفاوت باشد. اتصال $GPIIb$ و vWF ناپایدار است اما سریعاً باعث می‌شود که پلاکت‌ها با میل ترکیبی زیادی در ارتباط تنگاتنگ قرار گیرند. پلاکت‌ها در مسیر جریان خون جا به جا می‌شوند و در طول این

غلطیدن، از طریق $GPVI$ با کلاژن تماس برقرار می‌کنند (۳). سیگنال‌های داخل سلولی وابسته به کلاژن، باعث تغییر ساختاری در ایتگرین‌های پلاکت مثل $\alpha IIb\beta 3$ و $\alpha 2\beta 1$ شده، ساختار این مولکول‌ها را به حالت "میل ترکیبی زیاد" تغییر می‌دهند. این فرآیند باعث القای آزاد شدن واسطه‌های ثانویه مثل ADP ، سروتونین و ترومبوکسان A_2 می‌شود. این آگونیست‌ها همراه با لخته تولید شده موضعی، گیرنده‌هایی که با پروتئین‌های G هتروتریمر جفت می‌شوند ($Gq, G12/G13, Gi$) را تحریک کرده، نهایتاً منجر به القای سایر سیگنال‌های سلولی و فعالیت کامل پلاکت‌ها می‌شوند (۴، ۵).

پلاکت‌ها به طور مستقیم مسیر انعقاد را فعال نمی‌کنند اما برای انعقاد مؤثر، حیاتی‌اند به طوری که یک سطح فسفولیپیدی برای جمع شدن کمپلکس پیش انعقادی پروترومبیناز فراهم می‌کنند. انعقاد با شکافت در فیبرینوژن توسط سرین پروتئاز ترومبین و تشکیل شبکه نامحلول پلیمر فیبرین ادامه می‌یابد. به محض تولید ترومبین بر سطح پلاکت فعال، فیبرین در لخته پلاکتی ته نشین می‌شود. ترومبین یک آگونیست پلاکتی است که می‌تواند تجمع پلاکت‌ها و تشکیل لخته را تحریک کند (۱).

در این مقاله سعی نموده‌ایم در ابتدا تعدادی گیرنده‌های پلاکتی مانند کمپلکس $GPIIb-V-IX$ و ایتگرین‌ها را از لحاظ ساختاری و عملکردی بررسی نماییم. هم‌چنین نکاتی چند درباره نقش پروتئین‌هایی مثل تالین، پروتئین کیناز Akt و برهم‌کنش بین دم‌های سیتوپلاسمی ایتگرین و تراکم لیگاند در فرآیند انتقال پیام در پلاکت‌ها و مهار انتقال پیام در پلاکت‌ها ذکر شده‌اند. جدول ۱ فهرستی از گیرنده‌های پلاکتی که در این مقاله بحث شده است را بیان نموده و نقش عملکردی هر یک را به اختصار توضیح می‌دهد.

کمپلکس $GPIIb-V-IX$:

این کمپلکس جزو گیرنده‌های چسبنده ($Adhesion$ receptors) پلاکت‌ها است و اتصال اولیه پلاکت‌ها را با ماتریکس خارج سلولی که در معرض قرار گرفته است، برقرار می‌سازد. تعداد این گیرنده در سطح هر پلاکت زیاد

جدول ۱: ساختار مولکولی و عملکرد فیزیولوژیک گیرنده‌های پلاکتی

گیرنده پلاکتی	ساختار مولکولی و عملکرد فیزیولوژیک
GPIb-V-IX	این کمپلکس شامل ۴ زیر واحد GPIb α ، GPIb β ، GPIX و GPV و از جمله گیرنده‌های چسبنده می‌باشد. اتصال اولیه پلاکت با ماتریکس خارج سلولی توسط این گیرنده برقرار می‌شود.
گیرنده‌های کلاژن	اینتگرین $\alpha 2\beta 1$ اولین و مرکزی‌ترین گیرنده کلاژن شناخته شده است و در چسبیدن پلاکت به ماتریکس خارج سلولی تحت جریان خون با شدت زیاد نقش مؤثر دارد.
	گیرنده GPV1 این گیرنده راه‌انداز اصلی فعالیت و تجمع پلاکت در محل آسیب عروق می‌باشد.
	سایر گیرنده‌های کلاژن عبارتند از: پروتئین ۶۸ کیلو دالتونی، پروتئین ۶۵ کیلو دالتونی، CD36، پروتئین‌های متصل‌شونده به کلاژن نوع III و پروتئین‌های ۷۴ کیلو دالتونی متصل شونده به کلاژن نوع I. این گیرنده‌ها احتمالاً نقش حمایتی یا تعدیل پاسخ وابسته به GPV1 را دارا می‌باشند.
اینتگرین‌ها	اینتگرین‌های $\beta 1$ $\alpha 1\beta 1$ گیرنده کلاژن که در چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها نقش محوری دارد (این گیرنده در بخش گیرنده‌های کلاژن بررسی شده است)
	$\alpha 5\beta 1$ گیرنده فیبرونکتین
	$\alpha 6\beta 1$ گیرنده لامینین
	اینتگرین‌های $\beta 3$ $\alpha IIb\beta 3$ گیرنده اصلی گلیکوپروتئینی فیبرینوژن و فراوان‌ترین اینتگرین پلاکت است. این گیرنده چسبندگی همراه با تجمع و پهن شدن پلاکت‌ها (Platelet spreading): تغییر مورفولوژی پلاکت از فرم صفحه‌ای و قرص مانند و تشکیل پاهای کاذب که پس از فعال شدن پلاکت متعاقب تماس با سطوح زیر اندوتلیال ایجاد می‌شود) و تشکیل لخته را وساطت می‌کند.
	$\alpha V\beta 3$ گیرنده ویترونیکتین است که می‌تواند به فیبرونکتین و استئوپنتین نیز وصل شود.

(۲۵۰۰۰ کپی) است. ۴ ژن مختلف تحت عناوین زیر واحدهای آلفا و بتای GPIb، GPIX و GPV این کمپلکس را کد می‌کنند که همه متعلق به ابر خانواده پروتئین‌هایی با تکرارهای غنی از لوسین هستند (۱). تمام زیر واحدها برای بیان مؤثر کمپلکس در سطح سلول مورد نیازند (۶). فعالیت GPIb α در سطح سلول بستگی به زیر واحدهای دیگری یعنی GPIX و GPIb β دارد. جهش در هر کدام از زیر واحدهای کمپلکس GPIb-V-IX باعث فقدان یا کاهش بیان GPIb α و بروز ناهنجاری‌هایی از قبیل سندرم برنارد سولیر (Bernard soulier syndrome) BSS می‌شود. GPIX و GPV به صورت غیر کووالان به یکدیگر متصلند (۷). تحقیقات جدید در مورد گیرنده GPIb-V-IX مشخص کرده است که GPIb-IX دارای فعالیت انعقادی مستقل از

GPIb α می‌باشد. این مسأله با حذف پایانه آمین GPIb α در پلاکت‌های انسانی و موشی متعاقب استفاده از اندوپیتیداز O - سیالوگلیکوپروتئین یا NK - پروتئاز و فعال شدن پلاکت‌ها و بروز فسفا تیدیل سرین در غشای پلاسمایی علی‌رغم مهار GPIb α و نیز مشاهده عدم بروز اختلال در فعال شدن آبشار انعقادی و ساخت ترومبین، ثابت شده است (۸).

GPIb-V-IX علاوه بر این که گیرنده چسبنده است، یک انتقال دهنده پیام نیز هست به طوری که می‌تواند اینتگرین $\alpha IIb\beta 3$ را فعال کرده و سپس چسبندگی محکم سلول‌ها را تسهیل نماید. GPIb-V-IX جهت فعال کردن $\alpha IIb\beta 3$ به گیرنده‌های کلاسیک فعال کننده از قبیل گیرنده‌های جفت شده با پروتئین G (GPCRs) یا GPVI وابسته نیست. انتقال

متحمل تغییرات ساختاری می‌شوند. فسفریلاسیون سرین ۱۶۶ زیر واحد GPIIb β ، اتصال vWF را توسط کمپلکس GPIIb-V-IX به طور منفی تنظیم می‌کند (۳). در اتصال vWF و GPIIb α به یکدیگر، کوفاکتورهای از جمله ریتوستین و بوتروستین دخالت دارند. ریتوستین در حضور vWF، آگلوتیناسیون پلاکت‌ها را القا می‌کند. ابتدا بار الکتریکی سطح پلاکت‌ها به واسطه اتصال به ریتوستین کاهش یافته سپس vWF به عنوان پل بین پلاکت‌ها عمل می‌نماید. بوتروستین، میل ترکیبی ناحیه A1 از vWF را برای GPIIb α ، افزایش می‌دهد (۱۴، ۱۳).

به تازگی مشخص شده است که GPIIb α به یک گلیکوپروتئین پلاسمایی تحت عنوان بتا ۲ گلیکوپروتئین I متصل می‌شود (۱۶، ۱۵). این مولکول هدف اتوانتی‌بادی‌ها در سندرم آنتی‌فسفولیپید می‌باشد که با ترمبوزهای وریدی و شریانی و سقط‌های مکرر شناسایی می‌گردد (۱۷). بتا ۲ گلیکوپروتئین I می‌تواند در شرایط طبیعی در بدن به صورت احیا درآمده، با تاثیر بر تیول‌های آزاد باعث افزایش اتصالات GPIIb α -vWF شده و در چسبندگی پلاکتی نقش مؤثری ایفا نماید (۲۰-۱۸، ۱۶). بتا ۲ گلیکوپروتئین I هم چنین با اتصال به ترومبین مانع عملکرد مهاریهپارین کوفاکتور II بر ترومبین شده، در شرایط *ex vivo* باعث فعال شدن پلاکت‌ها و تجمع (aggregation) پلاکتی می‌شود (۲۱).

نقش کمپلکس GPIIb در انتقال پیام پلاکتی:

بر هم کنش آغازی GPIIb-V-IX با vWF باعث انتقال پیام در پلاکت‌ها می‌شود که منجر به ترشح گرانول‌ها و افزایش میل ترکیبی ایتگرین و نهایتاً فعال شدن α IIB β 3 می‌شود. این برهمکنش برای آغاز تماس‌های دیواره عروق و پلاکت، به خصوص در جریان زیاد خون مهم است (۲۳، ۲۲). متعاقب اتصال GPIIb α ، مسیر انتقال پیام وابسته به تیروزین کیناز فعال می‌شود. عواملی که نقش اصلی را در این مسیر ایفا می‌کنند عبارتند از: تیروزین کینازهای غیر گیرنده (Non-receptor tyrosine kinase)، Src، Fyn، Lyn، Syk، فسفولیپاز $\text{C}\gamma 2$ (PLC $\gamma 2$) و پروتئین‌های آداپتور مثل Shc. شواهد موجود نشان می‌دهد که انتقال پیام و ارتباط

پیام GPIIb ممکن است در خلال همراهی با پروتئین‌هایی مثل 14-3-3-Zeta، Src، کیناز، کالمودولین و PI3 کیناز اتفاق بیفتد. پروتئین‌های آداپتور (Adaptor proteins) ADAP پیش‌برنده دو فرآیند دگرانولاسیون و چسبندگی پلاکتی، به تازگی به عنوان جزئی از مسیرهای انتقال پیام از داخل به خارج (Integrin inside-out pathways) وابسته به ایتگرین شناسایی شده‌اند. این مسیرها متعاقب اتصال vWF و GPIIb-V-IX فعال شده و مستقل از زنجیره گامای Fc می‌باشند. لذا پروتئین‌های ADAP را، جزو تکمیلی مسیر فعال شدن α IIB β 3 توسط GPVI و GPIIb-V-IX در انتقال پیام می‌دانند. غلتیدن پلاکت‌ها بر روی سطح vWF چند دقیقه طول می‌کشد و بعد از آن چسبندگی پایدار به واسطه α IIB β 3 (توسط vWF) ایجاد می‌شود (۹).

GPIIb α ، واسطه‌ای اتصال پلاکت به vWF:

GPIIb α مهم‌ترین زیر واحد عملکردی کمپلکس GPIIb-V-IX و اولین گیرنده شناخته شده ترومبین می‌باشد. برهم‌کنش ترومبین و GPIIb α مسیرهایی را فعال می‌سازد که منجر به تجمع پلاکت‌ها، تغییر شکل پلاکت و فعال شدن MAP کینازها می‌شود. پایانه کربوکسیلی GPIIb α که در سمت سیتوپلاسمی قرار دارد، جایگاه اتصال مولکول‌های سیگنالی مانند پروتئین متصل شونده به اکتین و 14-3-3-Zeta است (۷، ۳). نقش GPIIb α در هموستاز، التهاب، تولید و تکوین پلاکت‌ها ثابت شده است.

در جریان خون سرخرگی، واکنش بین GPIIb α و ناحیه A1 از مولکول vWF ضروری بوده و ناحیه ۴۵ کیلو دالتونی غنی از لوسین در انتهای آمین GPIIb α در این برهم‌کنش دخیل است. فقدان این ناحیه باعث می‌شود پلاکت مورد نظر نتواند در لخته شریانی در حال رشد، شرکت کند (۱۲، ۱۰). در این شرایط vWF بر سطح کلاژن تجمع می‌یابد و جهت شکار پلاکت‌های در گردش به GPIIb α واقع بر سطح پلاکت‌های بیان‌کننده GPIIb-V-IX متصل می‌شود. نقش اصلی GPIIb-V-IX در این اتصال ناپایدار، کاهش سرعت پلاکت‌ها در محل آسیب است تا بتوانند به دیگر گیرنده‌ها و نیز سطح ترومبوژنیک، اتصال یابند. در واکنش بین GPIIb α و vWF به نظر می‌رسد که هر دو گیرنده و لیگاند

طریق vWF واکنش دارند، گیرنده‌های کلاژن زیادی بر روی سطح پلاکت از قبیل اینتگرین $\alpha 2\beta 1$ و GPVI (عضو ابر خانواده ایمنوگلوبولین‌ها) مشخص شده است (۲۷، ۱).

این‌تگرین $\alpha 2\beta 1$ (CD49b/CD29, VLA-GPIa/IIa):

این‌تگرین $\alpha 2\beta 1$ اولین و مرکزی‌ترین گیرنده کلاژن شناخته شده است. این گیرنده در چسبیدن پلاکت به ماتریکس خارج سلولی تحت جریان خون با شدت زیاد نقش مؤثر دارد. این‌تگرین $\alpha 2\beta 1$ برای اتصال به کلاژن به یون منیزیم وابسته است و می‌تواند به کلاژن نوع I, II, III, IV, XI خصوصاً کلاژن نوع I متصل شود. به تازگی مشخص شده که این اتصال بر چسبندگی پلاکتی از طریق پیوند GPIb-vWF با کلاژن نوع III اثر مهاری دارد (۳۰-۲۸). این‌تگرین $\alpha 2\beta 1$ در فرآیند چسبندگی نقش مهم اما قابل جایگزینی دارد چرا که این‌تگرین $\alpha IIb\beta 3$ نیز می‌تواند اتصال پلاکت به ماتریکس خارج سلولی مقاوم به جریان را وساطت کند. $\alpha 2\beta 1$ تنها گیرنده سطحی پلاکت شامل ناحیه I است که مکان اصلی اتصال لیگاند و منیزیم می‌باشد. ناحیه I زیر واحد $\alpha 2$ با ناحیه فعال وابسته به یون فلزی از زیر واحد β تماس برقرار می‌کند. ناحیه خارج سلولی نزدیک به غشاء در $\beta 1$ ، غنی از سیستئین و پل‌های دی سولفیدی و مسؤول تغییرات ساختاری این‌تگرین در انتقال پیام از داخل سلول به خارج سلول است. $\alpha 2\beta 1$ فعالیت تیروزین کیناز را که برای فعالیت پلاکتی القا شده توسط کلاژن لازم است تحریک نکرده و طبق مدل "۲ مکان - ۲ مرحله" عمل می‌کند. در این مدل این‌تگرین $\alpha 2\beta 1$ ، بر هم کش پلاکت با کلاژن را پایدار کرده و امکان اتصال با گیرنده دوم کلاژن را میسر می‌سازد. این گیرنده انتقال پیام وابسته به تیروزین کیناز را فعال می‌کند و نهایتاً منجر به فعال شدن پلاکت می‌شود. در مدل "۲ مکان - ۲ مرحله" چسبندگی پلاکت‌ها و فعال شدن آن‌ها، دو رویداد مجزا از هم می‌باشند.

اتصال $\alpha 2\beta 1$ به کلاژن به دو طریق در فعالیت سلولی شرکت می‌کند: (۱) به صورت غیر مستقیم: از طریق تقویت بر هم‌کنش‌های کلاژن GPVI- (۲) به صورت مستقیم: توسط یک سری رویدادهای انتقال پیام سلولی به نام

عوامل فوق متعاقب اتصال GPIb می‌تواند مشابه مسیر GPVI در پلاکت‌ها باشد (۲۴). این مسیر در بخش‌های دیگر مقاله تحت عنوان "گیرنده‌های کلاژنی پلاکتی" توضیح داده خواهد شد. از طرف دیگر احتمال دارد GPIb توسط کینازهای خانواده Src، Fc γ R و Fc γ RIIA، گیرنده‌هایی که از نظر فیزیکی به GPIb متصلند را فسفریله و پلاکت‌ها را فعال کند. اتصال vWF به GPIb α ، تحت جریان سرخرگی باعث تحریک تجمع یون کلسیم، فعالیت پروتئین کیناز C، پروتئین کیناز G و فسفو اینوزیتید ۳ کیناز (PI3K) و بازآرایی اسکلت سلولی می‌شود. هم چنین این اتصال، میل ترکیبی $\alpha IIb\beta 3$ را به طور غیر مستقیم از طریق تحریک ترشح ADP افزایش می‌دهد (۲۵، ۲۲). اخیراً نحوه برقراری میان‌کنش GPIb α و vWF نقش آن در ایجاد و پیشرفت سکتة مغزی به تفصیل در یک مقاله مروری توسط استول و همکارانش مورد بحث و بررسی قرار گرفته است (۲۶). میان‌کنش GPIb α و vWF در پیشرفت سکتة مغزی و تشکیل لخته در مغز، نقش دارد. افزایش برهم‌کنش‌های این دو گیرنده با افزایش خطر سکتة قلبی همراه است. اتصال GPIb α به ناحیه A1 از vWF، برهم‌کنش ضروری جهت چسبیدن پلاکت‌ها به دیواره عروق در شرایط جریان خون شدید می‌باشد، به طوری که فقدان vWF با اختلال جدی در فرآیند انعقاد همراه است. مسیرهای انتقال پیام زیرین GPIb α ، مثل فسفولیپاز D1 (PLD1)، نقش مهمی در تشکیل لخته ثابت دارد (۲۶).

گیرنده‌های کلاژنی پلاکتی:

فیبرهای کلاژن زیر اندوتلیال، سویسترای ترومبوژنیک هستند که مستقیماً فعالیت سلول‌ها را القا و چسبندگی، تجمع و فعالیت انعقادی آن‌ها را با مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم حمایت می‌کنند. فیبرهای کلاژن I و III در عروق خونی و کلاژن نوع IV در غشای پایه زیر اندوتلیال، مهم‌ترین نوع ترکیبات ماتریکس خارج سلولی هستند. کلاژن، از میان ماکرومولکول‌ها، قوی‌ترین محرک پلاکت‌ها است که به طور اختصاصی با GPVI واکنش نشان می‌دهد. علاوه بر GPIb و این‌تگرین $\alpha IIb\beta 3$ که با کلاژن نوع III از

"انتقال پیام از خارج سلول به داخل آن". $\alpha 2\beta 1$ ، GPIb و GPVI به طور هماهنگ در چسبندگی و فعال‌سازی پلاکت‌ها بر روی ماتریکس خارج سلولی با یکدیگر مشارکت می‌کنند (۱).

گلیکو پروتئین VI (GPVI):

گیرنده کلاژنی GPVI، راه‌انداز اصلی فعالیت و تجمع پلاکت در محل آسیب عروق می‌باشد. این گیرنده به صورت یک کمپلکس مولتی پروتئینی شامل GPVI و گیرنده قطعه Fc آنتی‌بادی IgG (Fc γ R) است که به صورت غیر کوآلان با یکدیگر همراهند. GPVI بر فعالیت‌های پلاکتی از قبیل چسبندگی، دگرانولاسیون، تجمع و فعالیت انعقادی نقش مؤثر دارد. این گیرنده جزو گیرنده‌های گذرنده از غشای تیپ I بوده و شامل دو ناحیه خارج سلولی شبه Ig-C2 است که توسط باندهای دی‌سولفیدی به هم متصلند. هم چنین این گیرنده دارای یک شاخه شبه موسین، یک منطقه گذرنده از غشاء و یک پایانه سیتوپلاسمی کوتاه ۵۱ آمینواسیدی می‌باشد (۳۱، ۳، ۱).

GPVI در منطقه گذرنده از غشاء، یک آرژنین با بار مثبت دارد که باعث اتصال غیر کوآلانی آن به Fc γ R می‌شود. پایانه سیتوزولی GPVI، ناحیه غنی از اسید آمینه پرولین دارد که به طور انتخابی به ناحیه SH3 تیروزین کیناز خانواده Src، Fyn، Lyn وصل می‌شود. اتصال GPVI به لیگاندش منجر به تماس Fyn، Lyn با زنجیره Fc γ R شده و در نتیجه باعث فسفوریلاسیون تیروزین ITAM (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) می‌شود (۳۲). سپس تیروزین کیناز Syk از طریق ناحیه SH2 به تیروزین فسفریله متصل شده، اتو فسفریله و فعال می‌شود. فعال شدن Syk یک آبشار انتقال پیام را در ناحیه غشایی غنی از کلسترول آغاز می‌کند و یک سیگنالوزوم، شامل آداپتور SLP-76، LAT و پروتئین‌های افکتور فسفولیپاز C، فسفو اینوزیتید ۳ (PI-3) کیناز و G پروتئین‌های کوچک تشکیل می‌دهد. PLC γ 2، تشکیل پیامبر ثانویه ۱، ۲- دی اسیل گلیسرول (DAG) و اینوزیتول ۱، ۴، ۵- تری فسفات (IP3) را القا می‌کند. دی اسیل گلیسرول، پروتئین کیناز C را فعال می‌کند و IP3 آزادسازی

کلسیم از انبار داخل سلولی را القا و منجر به افزایش غلظت کلسیم سیتوزولی می‌شود. انتقال پیام به واسطه GPVI منجر به فعال شدن ایتگرین و آزادسازی واسطه‌گرهایی می‌شود که در رشد لخته نقش دارند (۳۳). TULA-2 هیستیدین - تیروزین فسفاتازی است که به تازگی بر سطح پلاکت‌های انسانی و موشی شناسایی شده است. ثابت شده است که این گیرنده در مسیر انتقال پیام وابسته به GPVI دارای نقش تنظیم کننده می‌باشد. TULA-2 به Syk متصل شده، آن را فسفریله نموده و از این طریق مانع انتقال پیام وابسته به GPVI می‌گردد (۳۴).

وجود GPVI برای پایداری چسبندگی پلاکت بر سطح کلاژن یا ماتریکس خارج سلولی ضروری است، اما همانند گیرنده GPIb-V-IX به تنهایی برای ایجاد یک چسبندگی پایدار کافی نمی‌باشد (۳۵). از این رو GPVI همراه با GPCR (G protein coupled receptor)، که توسط تولیدات موضعی یا آگونیست‌های آزاد شده تحریک می‌شود، عمل کرده و فعالیت سلولی، تغییر فرم ایتگرین از میل ترکیبی کم به زیاد، چسبندگی پایدار و رشد لخته را وساطت می‌کند. پیوستگی پلاکت‌ها و مقاومت آن‌ها در مقابل حرکت بر روی کلاژن به اتصال ایتگرین‌ها به خصوص $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ نیاز دارد که به طور مستقیم یا غیر مستقیم (همراه با vWF) به پروتئین ماتریکس متصل می‌شوند (۳۶).

دیگر گیرنده‌های کلاژنی پلاکت‌ها:

در پلاکت فاقد کمپلکس GPVI-Fc γ R- کلاژن، فسفوریلاسیون تیروزین به میزان کمی تحریک می‌شود. هم چنین در حضور آنتی‌بادی‌های مسدود کننده GPVI و $\alpha 2\beta 1$ ، پلاکت‌های موش ۲۰٪ از میزان پاسخ نرمال GPVI-Fc γ R به کلاژن را حفظ می‌کنند (۳۷). این مشاهده‌ها نشان دهنده وجود گروه سومی از گیرنده‌های کلاژنی بر سطح پلاکت است که تعدادی از آن‌ها عبارتند از: پروتئین ۶۸ کیلو دالتونی، پروتئین ۶۵ کیلو دالتونی، CD36، پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن نوع III و پروتئین‌های ۷۴ کیلو دالتونی متصل شونده به کلاژن نوع I (۱). این

گیرنده‌ها احتمالاً نقش حمایتی یا تعدیل پاسخ وابسته به GPVI را دارا می‌باشند.

اینتگرین‌ها:

اینتگرین‌ها گیرنده‌های گذرنده از غشای هترودايمری تیپ I هستند که بر هم‌کنش‌های سلول - سلول و سلول - ماتریکس خارج سلولی را تنظیم می‌کنند. ساختار آن‌ها شامل دو زیر واحد بزرگ α و زیر واحد کوچک β است که به طور غیر کووالان در ارتباطند و انواع آن‌ها از ترکیب ۱۸ زیر واحد α و ۸ زیر واحد β تشکیل می‌شوند. هر دو زیر واحد شامل یک پایانه آمین خارج سلولی بزرگ، یک ناحیه گذرنده از غشاء و یک پایانه سیتوپلاسمی کوتاه است (۳۸).

پلاکت‌ها، سه اینتگرین $\beta 1$ مختلف به نام‌های $\alpha 2\beta 1$ (گیرنده کلاژن)، $\alpha 5\beta 1$ (گیرنده فیبرونکتین)، $\alpha 6\beta 1$ (گیرنده لامینین) و دو اینتگرین $\beta 3$ به نام‌های $\alpha \text{IIb}\beta 3$ و $\text{V}\beta 3\alpha$ را بیان می‌کنند. اینتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha \text{IIb}\beta 3$ در چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها، نقش محوری دارند. (۳۹، ۴۰) در بخش قبل به توضیح در مورد $\alpha 2\beta 1$ پرداخته شد.

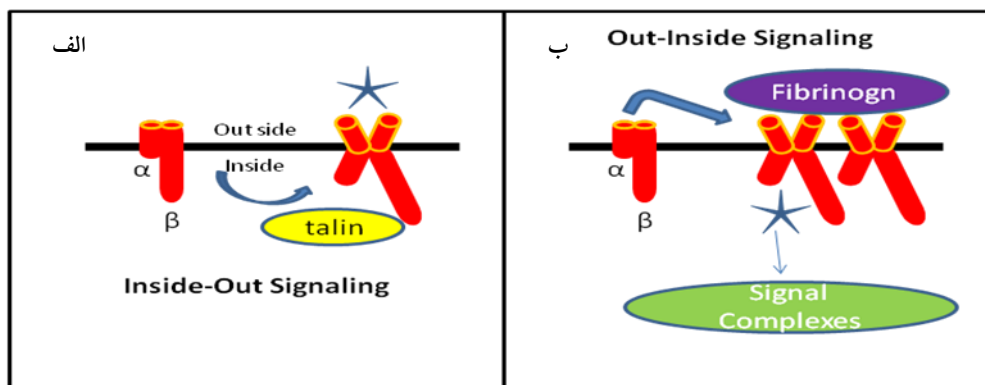
اینتگرین $\alpha \text{IIb}\beta 3$ (GPIIb/IIIa):

گیرنده اصلی گلیکوپروتئینی فیبرینوژن و فراوان‌ترین اینتگرین پلاکت است. این گیرنده چسبندگی با تجمع و پهن شدن پلاکت‌ها (Platelet Spreading) و تشکیل لخته را وساطت می‌کند. از خصوصیات ویژه اینتگرین فوق این است که می‌تواند قبل از فعال شدن به فیبرینوژن غیر متحرک بچسبد (۳۶). فقدان عملکرد $\alpha \text{IIb}\beta 3$ باعث بیماری گلانزمن ترومبوآستنی (Glanzmann Thrombastenia) می‌شود که نشانه آن خونریزی شدید همراه با عدم تجمع و چسبندگی ناقص پلاکت‌ها است. هترودايمراینتگرین توسط اتصال غیر کووالان زیر واحد αIIb و $\beta 3$ تشکیل می‌شود. $\alpha \text{IIb}\beta 3$ به لیگاندهای مختلفی که شامل ترادف RGD (Arg-Gly-Asp) است وصل می‌شود مثل: فیبرینوژن، فیبرین، vWF، فیبرونکتین، ترومبوسپوندین و ویترونکتین (۴۰). آرژنین (Arg) زنجیره β در زیر واحد α و آسپارتیک اسید ناحیه شبه I در زیر واحد β به طور وابسته به منگنز به هم

وصل می‌شوند. در پلاکت غیرفعال، اینتگرین‌ها در حالت "میل ترکیبی کم" یا "خاموش" هستند که ساختار انعطاف‌پذیری داشته و مکان‌های اتصال ترادف RGD پنهان است. اما در فعالیت القا شده پلاکت‌ها توسط آگونیست‌ها، انتقال پیام از داخل به خارج منجر به تغییر ساختاری اینتگرین به حالت "میل ترکیبی زیاد" یا "روشن" می‌شود و مکان اتصال RGD آشکار می‌گردد (۵). فرآیند برهنه شدن مکان اتصال ترادف RGD توسط یون منگنز آغاز می‌شود. فعال شدن $\alpha \text{IIb}\beta 3$ ، چسبندگی را افزایش داده و منجر به بر هم کنش اینتگرین - اینتگرین و تجمع پلاکتی می‌شود (۳). به محض اتصال لیگاند به $\alpha \text{IIb}\beta 3$ ، فرآیندهایی مثل پهن شدن پلاکت‌ها و فعالیت پیش انعقادی پلاکت در خلال رویدادهای انتقال پیام از خارج به داخل القا می‌شود. پایانه سیتوپلاسمی αIIb و $\beta 3$ با تعدادی از مولکول‌های سیگنالی ارتباط برقرار می‌کنند. زیر واحد αIIb با کانال کلر و با پروتئین متصل شونده به اینتگرین و کلسیم و با زیر واحد کاتالیکی پروتئین فسفاتاز I بر هم کنش می‌دهد. فیلامین، α اکتینین، میوزین و اسکلمین، پروتئین‌های اسکلت سلولی هستند که در پهن شدن پلاکت‌ها دخیلند. تیروزین ۴۱۸ از خانواده کیناز Src اتوفسفریله شده و یک آبشار انتقال پیام را برقرار می‌کند که تشکیل Lamellipodia را تنظیم می‌نماید. به تازگی مشخص شده است که میان کش بین دو اسید آمینه Trp110 و Arg261 واقع بر دو زنجیره αIIb و $\beta 3$ ، در فعال سازی گیرنده $\alpha \text{IIb}\beta 3$ و انتقال پیام از خارج به داخل نقش اساسی دارد (۴۱). $\alpha \text{IIb}\beta 3$ به دلیل اهمیت آن در تجمع پلاکت‌ها، هدف دارویی برای بیماری‌های قلبی - عروقی است (۴۲-۴۴). آنتی‌بادی‌ها مثل Abciximab، آنالوگ‌های پپتیدی از قبیل پپتید حلقوی Eptifibatide گرفته شده از عقرب و آنالوگ‌های غیر پپتیدی مانند Lamifiban، Tirofiban اتصال لیگاند به $\alpha \text{IIb}\beta 3$ و در نتیجه فعالیت $\alpha \text{IIb}\beta 3$ را مهار می‌کنند (۳۹).

اینتگرین $\alpha \text{v}\beta 3$ ، $\alpha 5\beta 1$ ، $\alpha 6\beta 1$:

ساختار زیر واحد α و β در این ترکیبات با کمی تفاوت، مشابه $\alpha 2\beta 1$ است. این اینتگرین‌ها به پروتئین‌های مختلف ماتریکس خارج سلولی وصل می‌شوند.



شکل ۱: انتقال پیام دوطرفه در ایتگرین‌ها الف: انتقال پیام از داخل سلول به خارج ب: انتقال پیام از خارج به داخل سلول

۲ - انتقال پیام از محیط خارج سلولی به داخل آن: اتصال لیگاند خارج سلولی به ایتگرین‌ها باعث ایجاد تغییرات ساختاری در ایتگرین و سپس فعال شدن آن‌ها می‌شود. سپس ایتگرین‌ها می‌توانند از طریق ناحیه سیتوپلاسمی خود به اسکلت سلولی وصل شده و با تعداد زیادی مولکول سیگنال داخل سلولی همراه شوند (شکل ۱ - ب) (۴۶، ۳۹).

انتقال سیگنال در دو جهت، به واسطه پایانه‌های سیتوپلاسمی کوتاه فاقد فعالیت آنزیمی و کنش متقابل پروتئین‌های ایتگرین و پروتئین‌های داخل سلولی انجام می‌شود. فرآیند انتقال پیام باعث تغییر در فرآیندهای داخل سلولی زیادی مثل انتشار، مهاجرت، تمایز و تغییر بیان ژن‌ها می‌شود (۴۷).

هم چنین ایتگرین‌ها می‌توانند با یکدیگر و با دیگر گیرنده‌ها بر هم کنش داده که این ارتباط می‌تواند منجر به مهار و یا فعال شدن ایتگرین‌ها شود. به عنوان مثال بر هم‌کنش زیر واحدهای αIIb و $\beta 3$ در فعال شدن ایتگرین نقش دارد. یک پل نمکی بین آسپارتیک اسید شماره ۷۲۳ مربوط به $\beta 3$ و آرژنین ۹۹۵ در αIIb ، که اسید آمینه‌های بسیار حفظ شده‌ای هستند، ایجاد می‌شود که انتقال پیام ایتگرین را محدود می‌کند (۵، ۴).

با فعال شدن پلاکت، که ممکن است متعاقب تحریک فیزیولوژیک توسط ADP یا ترومبین به عنوان پیام‌های داخل سلولی و یا اتصال تالین انجام گیرد، ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ متحمل تغییرات ساختاری (باز شدن قلاب بین

ویترونکتین، لیگاند ترجیحی $\alpha v\beta 3$ است، اما می‌تواند به فیبرونکتین و استئوپونین نیز وصل شود. $\alpha 5\beta 1$ گیرنده فیبرونکتین و $\alpha 6\beta 1$ گیرنده اصلی لامینین است. $\alpha 5\beta 1$ و $\alpha 6\beta 1$ در فرآیند چسبندگی در *in vivo* شرکت می‌کنند اما به عنوان گیرنده‌های ضروری در این فرآیند محسوب نمی‌شوند. بر هم کنش‌های لامینین - $\alpha 6\beta 1$ ، پهن شدن پلاکت‌ها به واسطه GPVI را تحریک می‌کند. این ایتگرین‌ها پاسخ پلاکت را تعدیل کرده و در فرآیندهای چسبندگی، فعال شدن و پهن شدن پلاکت‌ها نسبتاً مهم هستند (۴۵، ۳).

انتقال پیام توسط ایتگرین‌ها:

ایتگرین‌ها، توانایی انتقال پیام از عرض غشاء را در دو جهت دارند که هر دو مسیر برای هموستاز و تشکیل لخته مهم است (۵، ۴).

۱- انتقال پیام از داخل سلول به خارج آن: ایتگرین‌ها در حالت غیر فعال و با میل ترکیبی کم بر روی سطح پلاکت بیان می‌شوند. سپس سیگنال‌های داخل سلولی باعث تغییرات ساختاری در ایتگرین و بازآزایی آلوستریک آن‌ها شده که در عرض غشاء پیش رفته و باعث تغییر در بر هم کنش‌های داخل سلولی می‌شود. پروتئین‌های سیتوزولی می‌توانند به ناحیه سیتوپلاسمی ایتگرین وصل شده و در نتیجه ایتگرین‌ها به حالت "میل ترکیبی زیاد" و فعال در می‌آیند. افزایش میل ترکیبی ایتگرین برای لیگاند "فعال شدن ایتگرین" نام دارد (شکل ۱ - الف) (۴).

تالین و اتصالات پلاکتی آن:

تالین یک آداپتور سیتوپلاسمی متصل شونده به اینتگرین است که در متوقف کردن خونریزی، عملکرد اینتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ و چسبندگی پلاکتی نقش دارد (۴۶). تغییرات ساختاری در پایانه سیتوپلاسمی اینتگرین آغاز شده، از طریق قطعه گذرنده از غشاء، به قطعه خارج سلولی اینتگرین منتقل می‌شود. جایگاه اتصال تالین در اینتگرین‌ها انتهای آمین زیر واحدهای $\beta 1A$ ، $\beta 1D$ ، $\beta 2$ ، $\beta 3$ ، $\beta 5$ و $\beta 7$ بوده، برای پروتئین‌های اسکلت سلولی مثل وینکولین و F-اکتین، انتهای کربوکسیل می‌باشد. تالین بین اینتگرین و اکتین اسکلت سلولی ارتباط برقرار می‌کند و برای عملکرد، فعال شدن و چسبندگی اینتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ پلاکت و هموستاز ضروری است. از طرفی تالین سیتوپلاسمی می‌تواند به پایانه سیتوپلاسمی زیر واحدهای $\beta 1$ و $\beta 3$ اینتگرین متصل و باعث تغییر ساختار و فعال شدن اینتگرین و انتقال پیام از داخل سلول به خارج از آن شود. به تازگی نقش مشارکتی وینکولین نیز در این انتقال پیام به اثبات رسیده است (۴۸). تالین هم چنین در چسبیدن اینتگرین $\alpha 2\beta 1$ به کلاژن و تشکیل لخته با واسطه $\alpha IIb\beta 3$ ضروری است (۴۹). (۴)

تأثیر تراکم لیگاندها در انتقال پیام:

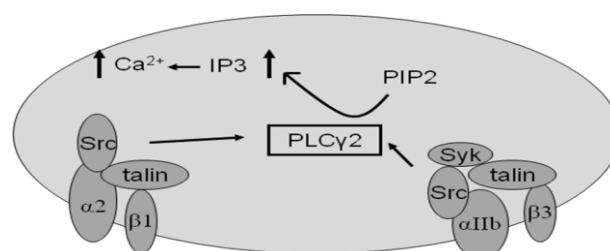
تراکم فیبرینوژن به عنوان لیگاند $\alpha IIb\beta 3$ ، بر روی انتقال پیام، چسبندگی، تجمع پلاکت‌ها و کلسیم داخل سلولی اثر می‌گذارد. چسبیدن اینتگرین $\alpha IIb\beta 3$ به فیبرینوژن ثابت کم تراکم، منجر به افزایش سریع کلسیم سیتوزولی، مهار تشکیل *Filopodia* و *Lamellipodia*، فعال شدن کینازهای *Src* و *Rac*، پلیمریزاسیون اکتین، به کارگرفتن لایه‌های اضافی از پلاکت برای چسبندگی و در نتیجه افزایش تجمع پلاکت‌ها، فعال شدن کیناز *FAK* که به *ADP* یا *Rac1* برای تجمع پلاکت‌ها نیاز دارد و در نهایت تشدید انتقال پیام می‌شود (۳۹).

در مقابل چسبیدن اینتگرین $\alpha IIb\beta 3$ به فیبرینوژن با تراکم زیاد منجر به عدم افزایش در میزان کلسیم، تحریک تشکیل *lamellipodia* و *filopodia*، فعال شدن کینازهای

پایانه‌های سیتوپلاسمی) از حالت غیر فعال به حالت فعال شده و به فیبرینوژن متصل می‌شود (۴۶).

فعال شدن $\alpha IIb\beta 3$ ، شرط لازم و کافی برای فعال شدن $\alpha 2\beta 1$:

فعال شدن $\alpha IIb\beta 3$ از طرق مختلف مثل انتقال پیام از داخل به خارج سلول و یا اتصال به فیبرینوژن باعث تغییرات ساختاری در هر دو زیر واحد $\beta 3$ و αIIb می‌شود. این تغییرات منجر به انتقال پیام از خارج به داخل سلول و نهایتاً تحریک فعالیت تیروزین کیناز، افزایش کلسیم سیتوزولی و بازآرایی اسکلت سلولی می‌شود. افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی، نشانه مسیر انتقال پیام از خارج به داخل سلول است. تمامی این فرآیندها در نهایت منجر به فعال شدن $\alpha 2\beta 1$ می‌شود (شکل ۲) (۵).



شکل ۲: ارتباط عملکردی $\alpha IIb\beta 3$ و $\alpha 2\beta 1$ در فعال کردن کینازها و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی

میل ترکیبی $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ ، در جریان تشکیل لخته در دو مرحله تنظیم می‌شود:

- ۱- تحریک $\alpha IIb\beta 3$ ، $GPVI$ را فعال می‌کند.
- ۲- اتصال لیگاند به $\alpha IIb\beta 3$ فعال، در مسیر انتقال پیام از خارج به داخل سلول، $\alpha 2\beta 1$ را با القای تغییر ساختاری، به طور مستقیم فعال می‌کند و منجر به تجمع پلاکت‌ها و اتصال بیشتر کلاژن به پلاکت و چسبندگی بیشتر پلاکتی می‌شود (۵). به تازگی مشخص شده است میزان اتصال پلاکت به فیبرینوژن در جریان خون شریانی علاوه بر غلظت کمی گیرنده‌های $\alpha 2\beta 1$ ، به سطوح پلاسمایی $GPIb$ و vWF نیز بستگی دارد (۳۰).

بیش از حد تنظیم شود. NO و پروستاگلندین (PGI₂) عملکرد پلاکت را مهار می‌کنند. PECAM-1 (Platelet endothelial cell adhesion molecule) گیرنده چسبنده سلولی است که در انواع زیادی از سلول‌های خونی و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شود. این گیرنده در تنظیم یک سری فرآیندهای سلولی از جمله مهاجرت ترانس اندوتلیال لکوسیت‌ها، تنظیم فعالیت سلولی، آپوپتوزیس، متاستاز و واکنش‌های التهابی مؤثر است. PECAM-1 فعالیت پلاکت القا شده توسط کلاژن و لامینین را مهار و تعدیل می‌کند. عملکرد PECAM-1 با اتصال لیگاندهای هموفیلیک و هم چنین اینتگرین $\alpha V\beta 3$ و CD38 وساطت می‌شود. دایمر شدن این گیرنده، چسبندگی پروتئین‌ها و الیگومریزه شدن آن باعث ایجاد سیگنال سلولی می‌شود. وقتی تحریک از طریق اتصال لیگاندهای هموفیلیک یا توده‌ای شدن انجام می‌شود، تیروزین پایانه سیتوپلاسمی PECAM-1 به دنبال چسبیدن به لامینین پلاکت توسط خانواده Src کیناز، فسفریله می‌شود و فسفریلاسیون ITAM زنجیره GPVI/Fc γ R تیروزین که توسط لامینین القا شده و فعال شدن افکتورهای زیرین آن در مسیر انتقال پیام یعنی Syk کیناز را مهار می‌کند (۲).

PECAM-1 پاسخ پلاکتی وابسته به GPIb را مهار می‌کند و پاسخ پلاکتی با واسطه Fc γ RIIA را کاهش می‌دهد. لیگاند اصلی PECAM-1، خود مولکول است. بر هم کنش بین PECAM-1 موجود بر پلاکت‌ها و سلول‌های اندوتلیال، رشد لخته را در یک جریان فیزیکی مهار می‌کند. تعادل بین انتقال پیام با واسطه گیرنده‌های چسبنده فعال و گیرنده‌های آگونیست‌های محلول پلاکت و انتقال پیام تحریک شده توسط PECAM-1 می‌تواند آستانه تحریک برای تشکیل لخته را تنظیم و اندازه و پایداری لخته را مشخص کند (۵۱).

بحث

یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال پیام که در فعالیت پلاکتی مؤثر و تعیین کننده می‌باشد، مسیر انتقال پیام دو جهت اینتگرین‌ها است که با انتقال پیام از داخل سلول به خارج در تشکیل لخته و با انتقال پیام از خارج به داخل سلول در پایداری لخته مشارکت می‌کند. فعالیت پلاکت‌ها

PkC/PI3K، کاهش تجمع پلاکت‌ها و تشکیل پلاکت تک لایه و در نهایت باعث مهار انتقال پیام می‌شود (۳۹).

مولکول‌های فیبرینوژن در تراکم زیاد، غیر متحرک و عمود بر سطح هستند و دسترسی بیشتری به مکان‌های اتصال $\alpha IIb\beta 3$ دارند، در حالی که در تراکم کم این مولکول‌ها افقی‌اند و احتمال دستیابی به انتهای کربوکسیل اینتگرین کاهش یافته و تغییرات ساختاری، از طریق تماس‌های چند گانه بین فیبرینوژن و سطح، القا می‌شود. جذب فیبرینوژن به سطح در تراکم کم، منجر به توده‌ای شدن لیگاندها و متعاقباً توده‌ای شدن گیرنده‌های اینتگرین می‌شود. لذا بر هم کنش میان گیرنده‌های $\alpha IIb\beta 3$ ، تشدید شده و این مساله منجر به چسبندگی پلاکتی، آغاز انتقال سیگنال و فعال شدن و تجمع پلاکتی می‌شود (۵۰).

نقش پروتئین کیناز Akt در انتقال پیام:

PI3K، Akt2، Akt1 کینازهایی هستند که در انتقال پیام از داخل سلول به خارج آن، با واسطه GPIb-IX-V نقش دارند. این پروتئین کینازها با فعال کردن مسیر انتقال پیام (Cyclic guanosin mono phosphate) CGMP و به صورت غیر وابسته به مسیرهای تقویت کننده و افکتورهای (effector) مثل ADP و ترومبوکسان A2 منجر به چسبندگی پایدار و تجمع پلاکت‌ها می‌شود (۹).

Akt هم چنین در انتقال پیام وابسته به vWF، از طریق فعال کردن مسیر انتقال پیام پروتئین کینازهای وابسته به G پروتئین (PKG)، cGMP، نیتریک اکسید (NO) نقش دارد. Akt، vWF را فسفریله و فعال می‌کند. اتصال vWF به GPIb-IX، افزایش نیتریک اکسید و cGMP را در پلاکت‌ها القا می‌کند. Akt ساخت نیتریک اکسید و eNOS را تحریک می‌کند. Akt، افزایش cGMP القا شده توسط اتصال vWF به GPIb-IX را وساطت می‌کند. مسیر انتقال پیام cGMP، واسطه‌گر بعدی Akt در فعالیت وابسته به GPIb-IX پلاکت‌ها است (۱).

مهار انتقال پیام پلاکتی:

فعالیت پلاکت‌ها باید برای ایجاد یک پاسخ مؤثر اما نه

تشکیل لخته در محل آسیب عروق بازی می‌کنند. پلاکت‌ها برای چسبیدن به ماتریکس خارج سلولی در محل آسیب از گیرنده‌های سطحی خود از قبیل GPIb-V-IX ، GPVI و ایتگرین‌ها استفاده می‌کنند. لیگاند این گیرنده‌ها ترکیباتی مانند کلاژن، vWF و فیبرینوژن می‌باشند. این گیرنده‌ها در تشکیل لخته با یکدیگر همکاری می‌کنند و اتصال لیگاند به گیرنده‌ها باعث فعال‌سازی مسیرهای مختلف انتقال پیام می‌شود که در نهایت منجر به پهن شدن پلاکت‌ها و تجمع آن‌ها در محل آسیب و تشکیل لخته می‌گردد. امید است این مقاله توانسته باشد با ارائه اطلاعات جدید در مورد اتصالات سلولی و مسیرهای سیگنالی پلاکتی گامی کوچک در درک بهتر مکانیسم‌های انعقادی، ترومبوز و هموستاز برداشته باشد.

برای ایجاد پاسخ مؤثر و کافی و تشکیل کنترل شده لخته باید به دقت توسط مولکول‌هایی مثل پروستاگلندین و PECAM-1 تنظیم شود. هماهنگی گیرنده‌ها در عملکرد پلاکت‌ها ضروری است به طوری که جهش در هر یک از مسیرهای درگیر منجر به ناهنجاری‌های گوناگون، از قبیل اختلالات قلبی و عروقی و تصلب شرایین می‌گردد. مارکرهای سطحی پلاکتی هم چنین می‌توانند با تحریک تولید آنتی‌بادی‌های پلاکتی متعاقب تزریق فرآورده‌های پلاکتی غیر خودی، منجر به بروز اختلالاتی چون ترومبوسیتوپنی آلوایمیون و پورپورای متعاقب انتقال خون گردند (۵۲). شناخت ساختارهای آنتی‌ژنیک پلاکتی از این جهت می‌تواند گامی مثبت در جهت رفع اختلالات ایمنوژنیک وابسته قلمداد گردد.

نتیجه‌گیری

پلاکت‌ها سلول‌های خونی هستند که نقش اصلی را در

References :

- Gibbins JM. Platelet adhesion signalling and the regulation of thrombus formation. *J Cell Sci* 2004; 117: 3415-25.
- Crockett J, Newman DK, Newman PJ. PECAM-1 as a negative regulator of laminin-induced platelet activation. *J Thromb Haemost* 2010; 8(7): 1584-93.
- Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell Adhesion Mechanisms in Platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(3): 403-12.
- Kim C, Lau TL, Ulmer TS, Ginsberg MH. Interactions of platelet integrin $\{\alpha\}$ IIb and $\{\beta\}$ 3 transmembrane domains in mammalian cell membranes and their role in integrin activation. *Blood* 2009; 113: 4747-53.
- Van de Walle GR, Schoolmeester A, Iserbyt BF, Cosemans JM, Heemskerk JW, Hoylaerts MF, *et al.* Activation of α IIb β 3 is a sufficient but also an imperative prerequisite for activation of α 2 β 1 on platelets. *Blood* 2007; 109: 595-602.
- Mo X, Luo SZ, Lo'pez JA, Li R. Juxtamembrane basic residues in glycoprotein Ibbeta cytoplasmic domain are required for assembly and surface expression of glycoprotein Ib-IX complex. *FEBS Lett* 2008; 582(23-24): 3270-74.
- Lova P, Canobbio I, Guidetti GF, Balduini C, Torti M. Thrombin induces platelet activation in the absence of functional protease activated receptors 1 and 4 and glycoprotein Ib-IX-V. *Cell signal* 2010; 22(11): 1681-7.
- Ravanat C, Strassel C, Hechler B, Schuhler S, Chicanne G, Payrastre B, *et al.* A central role of GPIb-IX in the procoagulant function of platelets that is independent of the 45- kDa GPIb $\{\alpha\}$ N - terminal extracellular domain. *Blood* 2010; 116(7): 1157-64.
- Yin H, Stojanovic A, Hay N, Du X. The role of Akt in the signaling pathway of the glycoprotein Ib-IX induced platelet activation. *Blood* 2008; 111(2): 658-65.
- Auton M, Zhu C, Cruz MA. The mechanism of VWF-mediated platelet GPIbalph binding. *Biophys J* 2010; 99(4): 1192-201.
- Vettore S, Scandellari R, Moro S, Lombardi AM, Scapin M, Randi ML, *et al.* Novel point mutation in a leucine-rich repeat of the GP1balph chain of the platelet von Willebrand factor receptor, GP1b/9/5, resulting in an inherited dominant form of Bernard-Soulier syndrome affecting two unrelated families: the N41H variant. *Haematologica* 2008; 93(11): 1743-7.
- Bergmeier W, Piffath CL, Goerge T, Cifuni SM, Ruggeri ZM, Ware J, *et al.* The role of platelet adhesion receptor GP1balph far exceeds that of its main ligand, von Willebrand factor, in arterial thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(45): 16900-5.
- Coller BS. The effect of Ristocetin and Von Willebrand factor on platelet electrophoretic mobility. *J Clin Invest* 1978; 61(5): 1168-1175.
- Fukuda K, Doggett T, Laurenzi IJ, Liddington RC, Diacovo TG. The snake venom protein botrocetin acts as a biological brace to promote dysfunctional platelet aggregation. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12(2): 152-9.
- Lenting PJ, Pegon JN, Groot E, de Groot PG. Regulation of von Willebrand factor-platelet interactions. *Thromb Haemost* 2010; 104(3): 449-55.
- Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, Yu P, Berndt MC, Andrews RK, *et al.* Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in complex with beta2-glycoprotein I can

- activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum* 2006; 54(8): 2558-67.
- 17- Giannakopoulos B, Passam F, Rahgozar S, Krilis SA. Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2007; 109(2): 422-30.
 - 18- Ioannou Y, Zhang JY, Passam FH, Rahgozar S, Qi JC, Giannakopoulos B, *et al.* Naturally occurring free thiols within {beta}2-glycoprotein I in vivo: nitrosylation, redox modification by endothelial cells and regulation of oxidative stress induced cell injury. *Blood* 2010; 116(11): 1961-70.
 - 19- Passam FH, Rahgozar S, Qi M, Raftery MJ, Wong JW, Tanaka K, *et al.* Beta 2 glycoprotein I is a substrate of thiol oxidoreductases. *Blood* 2010; 116(11): 1995-7.
 - 20- Passam FH, Rahgozar S, Qi M, Raftery MJ, Wong JW, Tanaka K, *et al.* Redox control of β 2-glycoproteinI-von Willebrand factor interaction by thioredoxin-1. *J Thromb Haemost* 2010; 8(8): 1754-62.
 - 21- Rahgozar S, Giannakopoulos B, Yan X, Wei J, Cheng Qi J, Gemmell R, *et al.* Beta2-glycoprotein I protects thrombin from inhibition by heparin cofactor II: potentiation of this effect in the presence of anti-beta2-glycoprotein I autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2008; 58(4): 1146-55.
 - 22- David T, Ohlmann P, Eckly A, Moog S, Cazenave JP, Gachet C, *et al.* Inhibition of adhesive and signaling functions of the platelet GPIb-V-IX complex by a cell penetrating GPIbalpha peptide. *J Thromb Haemost* 2006; 4(12): 2645-55.
 - 23- Reininger AJ. Platelet function under high shear conditions. *Hamostaseologie* 2009; 29(1): 21-2, 24.
 - 24- Asazuma N, Ozaki Y, Satoh K, Yatomi Y, Handa M, Fujimura Y, *et al.* Glycoprotein Ib von Willebrand factor interactions activate tyrosine kinases in human platelets. *Blood* 1997; 90(12): 4789-98.
 - 25- Andrews RK, Berndt MC. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 2004; 114(5-6): 447-53.
 - 26- Stoll G, Kleinschnitz C, Nieswandt B. The role of glycoprotein Ibalph and von Willebrand factor interaction in stroke development. *Hamostaseologie* 2010; 30(3): 136-8.
 - 27- Lisman T, Raynal N, Groeneveld D, Maddox B, Peachey AR, Huijzinga EG, *et al.* A single high-affinity binding site for von Willebrand factor in collagen III, identified using synthetic triple-helical peptides. *Blood* 2006; 108(12): 3753-6.
 - 28- Corbel C, Vaigot P, Salaün J. (alpha)IIb Integrin, a novel marker for hemopoietic progenitor cells. *Int J Dev Biol* 2005; 49(2-3): 279-84.
 - 29- Ruggeri ZM. Platelet adhesion under flow. *Microcirculation* 2009; 16(1): 58-83.
 - 30- Jung SM, Sonoda M, Tsuji K, Jimi A, Nomura S, Kanaji T, *et al.* Are integrin alpha(2)beta(1), glycoprotein Ib and vWf levels correlated with their contributions to platelet adhesion on collagen under high-shear flow. *Platelets* 2010; 21(2): 101-11.
 - 31- Bigalke B, Haap M, Stellos K, Geisler T, Seizer P, Kremmer E, *et al.* Platelet glycoprotein VI (GPVI) for early identification of acute coronary syndrome in patients with chest pain. *Thromb Res* 2010; 125(5): 184-9.
 - 32- Falet H, Pollitt AY, Begonja AJ, Weber SE, Duerschmied D, Wagner DD, *et al.* A novel interaction between FlnA and Syk regulates platelet ITAM-mediated receptor signaling and function. *J Exp Med* 2010; 207(9): 1967-79.
 - 33- Jung SM, Moroi M. Platelet glycoprotein VI. *Adv Exp Med Biol* 2008; 640: 53-63.
 - 34- Thomas DH, Getz TM, Newman TN, Dangelmaier CA, Carpino N, Kunapuli SP, *et al.* A novel histidine tyrosine phosphatase, TULA-2, associates with Syk and negatively regulates GPVI signaling in platelets. *Blood* 2010; 116(14): 2570-8.
 - 35- Gardiner EE, Arthur JF, Shen Y, Karunakaran D, Moore LA, Am Esch JS 2nd, *et al.* GPIIb/alpha-selective activation of platelets induces platelet signaling events comparable to GPVI activation events. *Platelets* 2010; 21(4): 244-52.
 - 36- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res* 2007; 100(12): 1673-85.
 - 37- Snell DC, Schulte V, Jarvis GE, Arase K, Sakurai D, Saito T, *et al.* Differential effects of reduced glycoprotein VI levels on activation of murine platelets by glycoprotein VI ligands. *Biochem J* 2002; 368(1): 293-300.
 - 38- Nieswandt B, Varga-Szabo D, Elvers M. Integrins in platelet activation. *J Thromb Haemost* 2009; 1: 206-9.
 - 39- Jiroušková M, Jaiswal JK, Collier BS. Ligand density dramatically affects integrin α IIb β 3-mediated platelet signaling and spreading. *Blood* 2007; 109(12): 5260-69.
 - 40- Hantgan RR, Stahle MC, Lord ST. Dynamic Regulation of Fibrinogen: Integrin α IIb β 3 Binding. *Biochemistry* 2010; 49(43): 9217-25.
 - 41- Hauschner H, Landau M, Seligsohn U, Rosenberg N. A unique interaction between α IIb β 3 and β 3 in the head region is essential for outside-in signaling-related functions of α IIb β 3 integrin. *Blood* 2010; 115(22): 4542-50.
 - 42- Berger PB. The glycoprotein IIb/IIIa inhibitor wars: an update. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(6): 476-8.
 - 43- Dong L, Zhang F, Shu X. Early administration of small-molecule glycoprotein IIb/IIIa inhibitors before primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: insights from randomized clinical trials. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2010; 15(2): 135-44.
 - 44- Tousoulis D, Paroutoglou IP, Papageorgiou N, Charakida M, Stefanadis C. Recent therapeutic approaches to platelet activation in coronary artery disease. *Pharmacol Ther* 2010; 127(2): 108-20.
 - 45- Gruner S, Prostredna M, Schulte V, Krieg T, Eckes B, Brakebusch C, *et al.* Multiple integrin-ligand interactions synergize in shear-resistant platelet adhesion at sites of arterial injury *in vivo*. *Blood* 2003; 102: 4021-27.
 - 46- Podolnikova NP, O'Toole TE, Haas TA, Lam SC, Fox JE, Ugarova TP. Adhesion-Induced Unclasp of Cytoplasmic Tails of Integrin α IIb β 3. *Biochemistry* 2009; 48(3): 617-29.
 - 47- Zou Z, Chen H, Schmaier A, Hynes RO, Kahn ML. Structure-function analysis reveals discrete β 3 integrin inside-out and outside-in signaling pathways in platelets. *Blood* 2007; 109(8): 3284-90.

- 48- Ohmori T, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Madoiwa S, Mimuro J, Honda S, *et al.* Vinculin activates inside-out signaling of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 400(3): 323-8.
- 49- Petrich BG, Marchese P, Ruggeri ZM, Spiess S, Weichert RA, Ye F, *et al.* Talin is required for integrin-mediated platelet function in hemostasis and thrombosis. *JEM* 2007; 204(13): 3103-11.
- 50- Li R, Mitra N, Gratkowski H, Vilaire G, Litvinov R, Nagasami C, *et al.* Activation of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ by modulation of transmembrane helix associations. *Science* 2003; 300(5620): 795-8.
- 51- Falati S, Patil S, Gibbins J, Gross P. L, Merrill-Skoloff G, Weiler H, *et al.* Opposing effects of P-selectin and PECAM-1 on arterial thrombus growth and stability in vivo. *J Thromb Haemost* 2003. Suppl. 1, OC054.
- 52- Landau M, Rosenberg N. Molecular insight into human platelet antigens: structural and evolutionary conservation analyses offer new perspective to immunogenic disorders. *Transfusion* 2010 Aug 30 [Epub ahead of print].

Review Article

Cellular adhesions and signaling pathways in platelets

Rahgozar S.¹, Pakravan G.¹, Ghaedi K.¹

¹Biology Department, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Abstract

Background and Objectives

Platelets are the smallest blood cells which play a major role in hemostasis. The aim of this article is to investigate the most effective cell adhesions and the most important signaling pathways to activate or deactivate platelets at the site of vessel injury.

Materials and Methods

The present manuscript, using 52 recent published articles, introduces the latest information regarding the platelet molecular interactions and signaling pathways.

Results

Platelets at the site of vessel injury bind to the subendothelial extracellular matrix through their surface receptors. These interactions lead to activation of some intracellular pathways contributing to the formation of blood clots. The molecules involved in these interactions are the extracellular matrix molecules such as laminin, fibronectin, collagen, vWF and the platelet surface receptors such as GPVI, GPIb-V-IX, α Ib β 3 and α 2 β 1 integrins. Platelet functions in hemostasis, thrombosis and inflammation are directly attributed to the platelet-cell interactions, cell junctions and the signaling pathways regulated through these interactions.

Conclusions

Studying this field and the related mechanisms provides a better understanding of coagulation and platelet dependent hematologic diseases, and may offer new perspectives to immunogenic disorders.

Key words: Platelets Activation, Integrins, Extracellular matrix, Cell Adhesion

Sci J Iran Blood Transfus Org 2011; 8(1): 60-73

Received: 12 May 2010

Accepted: 26 Oct 2010

Correspondence: Rahgozar S., PhD of Immuno-Hematology. Assistant Professor of Faculty of Science, University of Isfahan. Hezarjerib St. Postal code: 81746-73441, Isfahan, Iran. Tel: (+98311) 7932365; Fax: (+98311) 7932456
E-mail: rahgozar@sci.ui.ac.ir