

خون

فصلنامه علمی پژوهشی
دوره ۱۴ شماره ۲ تابستان ۹۶ (۱۰۰-۹۲)

میزان بیان رسپتور اسکاونجر B1 و نقش آن‌ها در عملکرد پلاکت‌های بیماران واجد پلاک آترواسکلروزیک

مهناز عباسعلی‌زاده^۱، پریسا نهضتی^۱، مهدی‌الله بخشیان^۲، محسن حمیدپور^۳، علی‌اکبر خادم معبدی^۴، محمد رضا طباطبایی^۵

چکیده سابقه و هدف

SR-B1 به عنوان رسپتور اصلی HDL عمل کرده و در انتقال معکوس کلسترول نقش مهمی دارد. بر عکس افزایش میزان LDL سرم که خطر بروز آترواسکلروزیس را افزایش می‌دهد، غلظت پلاسمایی HDL و افزایش رسپتور مربوطه با بروز بیماری‌های آترواسکلروزیس ارتباط معکوس دارد. با توجه به نقش توأم پلاکت‌ها و پلاک آترواسکلروزیس، در این مطالعه بیان SR-B1 در پلاکت و نقش این رسپتور بر فعالیت پلاکت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به روش مورد-شاهد (case-control) صورت گرفت. ۲۴ نفر از بیماران قلبی - عروقی واجد پلاک آترواسکلروزیک و ۲۴ نفر از افراد داوطلب سالم به عنوان کنترل انتخاب شدند. پس از جمع آوری پلاکت نمونه‌ها، میزان بیان رسپتور با استفاده از روش وسترن بلات و میزان تجمع پلاکت‌ها با روش اگریگومتری ارزیابی شد. نتایج داده‌ها با استفاده از آزمون t-test و SPSS ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

نتایج حاصل از وسترن بلات بیانگر کاهش بیان پروتئین SR-B1 در افراد بیمار (AU) (۰/۴) در مقایسه با نمونه‌های کنترل بود (AU) (۰/۰۱) ($p < 0.01$). میزان تجمع پلاکتی با استفاده از آگونیست ADP در گروه بیماران (۸۵٪) نسبت به گروه کنترل (۵۱٪) افزایش معناداری نشان داد ($p < 0.01$).

نتیجه گیری

در بیماران قلبی - عروقی کاهش بیان رسپتور SR-B1 انسانی در پلاکت‌ها و همین طور افزایش فعالیت و اگریگاسیون پلاکت‌ها مشاهده شد.

کلمات کلیدی: پلاکت‌ها، آترواسکلروزیس، بیماران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۴
تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۳

- ۱- کارشناس ارشد خون‌شناسی و بانک خون - دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران
- ۲- خون‌شناسی و بانک خون - استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران
- ۳- مؤلف مسئول: PhD خون‌شناسی و بانک خون - دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران - کد پستی: ۱۹۷۱۶۵۳۸۳
- ۴- آمار حیاتی - دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران
- ۵- کارشناس ارشد خون‌شناسی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

مقدمه

مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان SR-B1 در سطح پلاکت و نقش آن در عملکرد پلاکت‌های بیماران آترواسکلروز انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه به صورت مورد - شاهدی (case-control) انجام شد. پس از کسب رضایت از افرادی که با علائم بیماری قلبی به درمانگاه تخصصی قلب بیمارستان شهدای تجریش مراجعه کرده بودند، بر اساس بررسی نتایج داده‌های مقالات مروری؛ با $n=50$ ، تعداد ۲۴ نفر از بیماران دارای پلاک آترواسکلروتیک و ۲۴ فرد سالم داوطلب که از نظر سن و جنس با بیماران همتراز بودند، به عنوان نمونه‌های کنترل مورد بررسی قرار گرفتند.

جاداسازی پلاکت:

با سانتریفیوژ کردن ۱۰ میلی‌لیتر خون سیتراته بیماران و افراد داوطلب سالم در دور 200 g به مدت ۱۰ دقیقه، پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) تهیه شد. بعد از جadasازی PRP نمونه مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه و با دور بالا (500 g) سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت آن به عنوان PPP مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد جهت از بین بردن تداخلات پروتئین‌های پلاسماء، پلاکت‌های جadasازی شده با محلول ایزوتونیک بافر شستشو داده شدند.

بررسی آزمایش‌های بیوشیمیایی بیماران: چربی‌های خون (کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL)، آنزیم‌های کبدی (LDL، AST، ALT) و آنزیم‌های قلبی بیماران (CPK، CK-MB) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد.

بررسی بیان پروتئین SR-B1 با روش وسترن بلاست: پروتئین سلول‌های پلاکت با استفاده از بافر لیز پلاکتی اصلاح شده (1 mM NaCl ، 1 mM Tris ، 20 mM PMSF و 0.1% تریتیون X) استخراج شد (۱۷، ۱۸). با استفاده از روش برادرافورد غلظت پروتئین موجود در لیزات سلولی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای

آترواسکلروز یا تصلب شرایین، بیماری التهابی دیواره عروق خونی است که از رسوب لیپیدها به ویژه لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL) در لایه انتیمای شریان‌های متوسط یا بزرگ ناشی می‌شود. رسوبات ایجاد شده در دراز مدت با تشکیل پلاک باعث سختی دیواره شریان‌ها، تنگی عروق، ترومبوز و در نهایت باعث بیماری عروق کرونر قلبی (CAD) می‌شود (۱، ۲). بر اساس آمار سازمان جهانی بهداشت، بیماری‌های قلبی-عروقی ناشی از تصلب شرایین عامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است (۳). برخلاف خاصیت آتروزئیک LDL، HDL به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد آپوپتوزی، فعال‌سازی eNOS، ضد ترومبوزی و هم چنین نقش در انتقال معکوس کلسترول (RCT)، در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی عملکرد محافظتی دارد (۴-۶).

منظور از انتقال معکوس کلسترول، در واقع برداشت کلسترول از بافت‌های مجیطی و انتقال آنها به کبد جهت متابولیسم و دفع از طریق صفرا و مدفوع است که افزایش RCT با کاهش کلسترول تمام بدن، سبب کاهش خطر بیماری‌های عروق کرونری می‌شود (۷). بنابراین غلظت پلاسمایی HDL با بروز بیماری‌های قلبی ارتباط معکوس دارد (۸، ۹).

SR-B1 انسانی همانند SR-B1 موشی در برداشت انتخابی کلسترول استراز HDL به سلول‌ها نقش دارد.علاوه بر این، SR-B1 جریان دوطرفه کلسترول غیراستریفیه و فسفولیپیدهای بین سلول‌ها و HDL را تسهیل می‌کند. به گونه‌ای که افزایش بیان SR-B1 کبدی باعث افزایش SR-B1 و کاهش شدت آترواسکلروز می‌شود (۱۱-۱۳). یک پروتئین غشایی 83 kDa متعلق به CD36 است (۱۴). این ریپتور در سطح انواع مختلفی از سلول‌ها از قبیل مونوцит‌ها، هپاتوцит‌ها و سلول‌های اندوتیالیال بیان می‌شود (۱۵). یافته‌های جدید نشان‌دهنده این است که SR-B1 بر سطح پلاکت‌های موشی و انسانی نیز بیان شده و به عنوان ریپتور اصلی HDL عمل می‌کند. طبق مطالعه‌ها، کاهش بیان SR-B1 در سطح پلاکت با افزایش اگریگاسیون پلاکت در ارتباط می‌باشد (۱۶).

سالم مقایسه گردید. میانگین سن در بیماران ۴۶ سال و در گروه شاهد ۴۳ سال بود(جدول ۱). میانگین تریگلیسرید، کلسترول، LDL و HDL در بیماران به ترتیب ۱۲۷، ۱۵۹، ۸۲/۸ و ۴۵ میلیگرم بر دسی لیتر و در گروه شاهد به ترتیب ۱۲۹، ۱۴۸، ۷۰ و ۵۲ میلیگرم بر دسی لیتر بود(نمودار ۱). در آزمایش مولکولی، با استفاده از روش وسترن بلاک سطح پروتئین SR-B1 را در هر دو گروه بیمار و کنترل بررسی کردیم و با نرم افزار J Image دانسیته باندهای تعیین شد(شکل ۱). همان طور که در شکل ۱ مشاهده می شود، داده های آماری نشان داده اند که در گروه بیمار میزان پروتئین SR-B1 نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است($p < 0.001$)^(p). در این مطالعه از β -actin به عنوان کنترل استفاده شد چون بیان آن در تمام سلول یکسان است. از آن جایی که میزان لود تمامی نمونه ها باید برابر باشد، در صورتی که خطای در مرحله لود کردن یا حتی روش برآذفورد برای تعیین میزان پروتئین باشد، به وسیله می توان تفاوت در وارد کردن ژل و نسبت انتقال بین نمونه ها را یکسان سازی کرد و خطای وارد کردن مقادیر پروتئین در چاهکها را حذف نمود.

نتایج مربوط به اگریگومتری:

نتایج قبلی حضور SR-B1 در پلاکتها انسانی و میزان بیان آن را نشان دادند. در ادامه این که آیا تفاوت در میزان بیان SR-B1 بر سطح پلاکها با عملکرد آن ارتباط دارد یا خیر مورد بررسی واقع شد. برای پاسخ به این پرسش، پلاکتها افراد بیمار قلبی - عروقی و گروه کنترل گرفته و جداسازی شد و با استفاده از روش اگریگاسیون پلاکت، مورد بررسی قرار گرفت. اگریگاسیون پلاکتها گروه کنترل در مواجهه با آگونیست ADP به طور طبیعی حدود ۶۵٪/۷۰ دیده شد. برای اطمینان از پاسخ اگریگومتری در بیماران قلبی - عروقی و رد عامل مداخله گر دارویی، آزمون اگریگومتری بر روی دو دسته از بیماران بسترهای در CCU و بسترهای در اورژانس که هنوز داروهای مؤثر بر پلاک دریافت نکرده بودند، انجام شد(نمودار ۲).

بررسی بیان پروتئین، با استفاده از روش SDS-PAGE ۸۰ میکروگرم از پروتئین هر یک از نمونه ها به ژل ۹٪ پلی آکریلامید انتقال داده شد و الکتروفوروز شدند. پس از این مرحله پروتئین های تفکیک شده، با استفاده از دستگاه بلاستینگ به غشای نیتروسلولز منتقل گردیدند. بلکنگ با استفاده از بافر فسفات سالین حاوی ۵٪ شیر حشك انجام گرفت. بلاکها با آنتی بادی اولیه مونوکلونال علیه SR-B1 و β -اکتین(آمریکا، آبکام) به مدت ۱۲ ساعت انکوبه شدند. بعد از شستشوی کافی، بلاکها برای ۶۰ دقیقه در دمای اتاق با آنتی بادی ثانویه کونژوگه با Anti HRP (mouse IgG (آمریکا، آبکام) انکوبه شد، سپس با استفاده از کیت(ECL = Enhanced chemiluminescence) (زیست فن آوران نجم- ایران) و فیلم رادیولوژی و استفاده از محلول ظهور و ثبوت باندهای پروتئین های فوق آشکار شدند. روش کار ECL بدین صورت بود که ۸۰۰ میکرولیتر از بافر A و ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از محلول های D و C موجود در کیت ECL به یک ویال ۱/۵ میلی لیتری استریل اضافه گردید تا حجم به ۱ میلی لیتر برسد و در نهایت ۰/۲۵ میکرولیتر($H_2O_2 / ۳۵\%$) به محلول اضافه شد. در اتاق تاریک، بعد از قرار دادن بلاک در کیسه نایلونی، از محلول ECL بر روی بلاک ریخته و فیلم عکاسی بر روی کیسه نایلونی در محلی که بلاک وجود داشت قرار گرفت. در نهایت با قرار دادن فیلم عکاسی درون محلول ظهور و ثبوت، باندهای پروتئین آشکار شد.

بررسی میزان تجمع پلاکتی:

۵۰ میکرولیتر از PRP حاوی 10^5 mL پلاکت با #AG001K ADP Biomed (Hyphen) از کمپانی (μ L ۲۵ غلظت ۱۰ میکرومولار) به عنوان آگونیست پلاکتی مجاور شده و فعالیت آنها توسط دستگاه اگریگومتری بررسی شد. نتایج داده ها با استفاده از برنامه آماری SPSS و آزمون t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

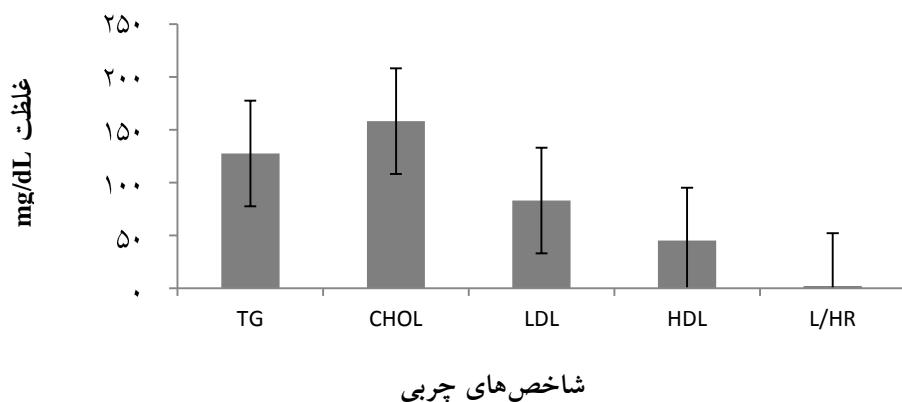
مطالعه حاضر بر روی ۴۸ نفر(۲۴ نفر بیمار و ۲۴ نفر شاهد) انجام شد و نتایج حاصل در بیماران با نتایج افراد

جدول ۱: مشخصات دموگرافی بیماران قلبی دارای پلاک آتروسکلروزیس و نتایج آزمایش‌های پانل لیپیدی

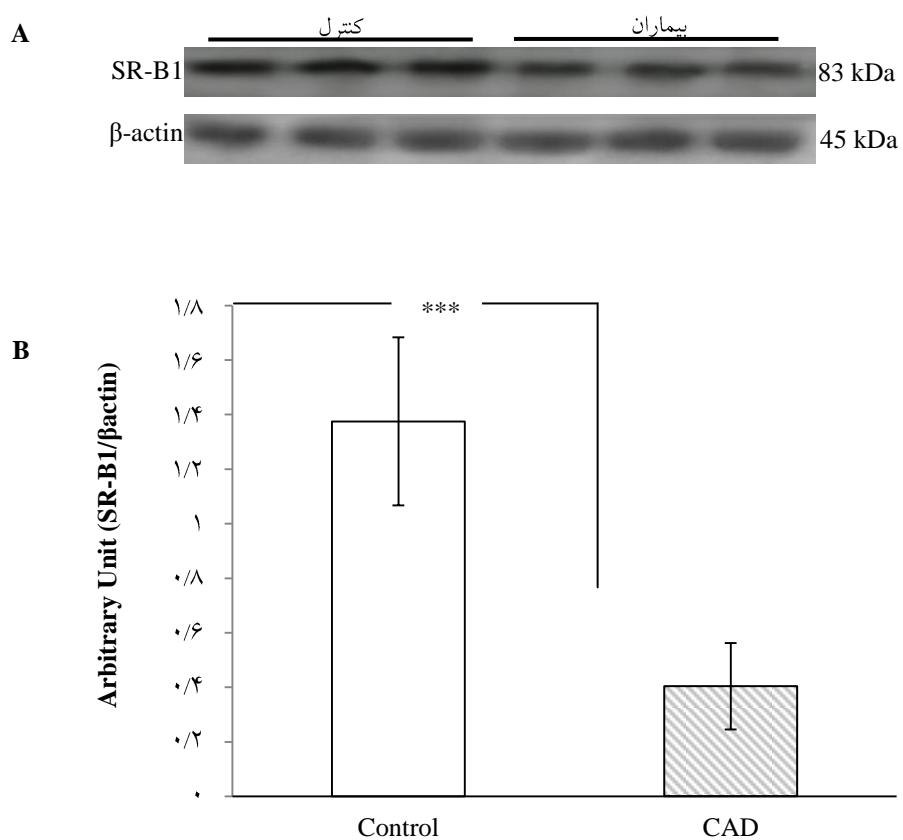
بیمار	سن	جنس	T-chol mg/dL	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	TG mg/dL	بیماری	درجه پلاک آتروسکلروزیک
۱	۵۶	مرد	۲۳۲	۱۰۹	۵۴	۱۴۶	MI	+۲
۲	۷۹	مرد	۱۲۸	۹۵	۴۰	۷۲	ACS	+۱
۳	۵۸	مرد	۱۳۵	۱۲۱	۳۴	۷۷	MI	+۲
۴	۵۰	مرد	۱۷۵	۹۰	۳۹	۱۱۲	MI	+۱
۵	۴۹	زن	۱۷۷	۸۴	۳۸	۱۲۲	MI	+۱
۶	۵۹	زن	۱۳۷	۲۷۹	۵۵	۵۰	ACS	+۱
۷	۶۸	مرد	۱۳۲	۶۱	۵۰	۶۸	ACS	+۱
۸	۶۶	زن	۲۲۲	۱۲۵	۵۰	۱۴۰	ACS	+۱
۹	۵۱	زن	۲۲۶	۱۱۲	۴۰	۴۱	ACS	+۱
۱۰	۶۵	زن	۱۰۰	۱۴۳	۶۳	۶۳	U.A	+۱
۱۱	۷۹	مرد	۲۱۰	۵۰	۶۳	۱۴۰	MI	+۱
۱۲	۵۱	زن	۱۲۹	۲۲۷	۴۶	۴۰	ACS	+۱
۱۳	۶۳	مرد	۱۳۱	۱۳۵	۴۱	۶۳	ACS	+۱
۱۴	۶۷	مرد	۱۱۰	۱۱۴	۳۹	۴۵	MI	+۱
۱۵	۴۶	زن	۲۱۸	۱۰۸	۵۲	۱۳۳	U.A	+۱
۱۶	۵۸	مرد	۱۳۵	۱۱۸	۴۳	۷۰	ACS	+۱
۱۷	۶۴	زن	۲۲۴	۱۳۰	۵۱	۱۴۳	MI	+۱
۱۸	۵۷	مرد	۱۷۳	۱۲۲	۴۱	۹۷	Angina	+۱
۱۹	۶۲	مرد	۱۶۴	۱۲۶	۵۸	۶۵	MI	+۱
۲۰	۴۱	مرد	۱۸۹	۱۲۹	۳۹	۹۷	U.A	+۱
۲۱	۶۷	زن	۱۶۳	۱۳۲	۴۳	۵۹	MI	+۱
۲۲	۵۱	زن	۲۲۶	۱۱۲	۴۰	۴۱	ACS	+۱
۲۳	۶۵	زن	۱۰۰	۱۴۳	۶۳	۶۳	U.A	+۱
۲۴	۷۷	مرد	۱۷۱	۱۴۴	۳۵	۱۰۷	ACS	+۱

MI indicates: Myocardial Infarction; ACS, Acute coronary syndrome, U.A; Unstable Angina.

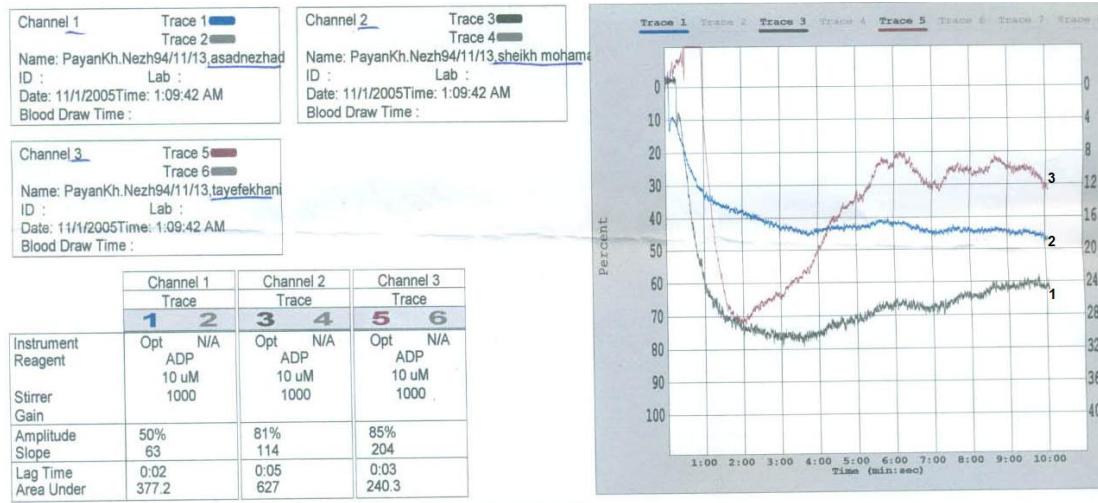
T-Chol, total cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; HDL-C, HDL cholesterol, TG, Triglyceride, Atherosclerotic plaque scoring as: Mild 1+, Moderate 2+, Sever 3+



نمودار ۱: میانگین پارامترهای لیپیدی در بیماران: میانگین TG، CHO، LDL و HDL در بیماران به ترتیب ۱۲۷، ۱۵۹، ۸۲/۸ و ۴۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و نسبت L/H (LDL/HDL ratio) که کمتر از ۲ می‌باشد.



شکل ۱: میزان پروتئین SR-B1 در دو گروه بیمار و سالم با استفاده از روش وسترن بلازینگ. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است. در قسمت A سه نمونه از هر دو گروه به صورت تصادفی نشان داده شده است. در قسمت B نمودار میزان دانسیتومتری داده‌های گروه بیمار (۰/۴ AU) و کنترل (۱/۴ AU) مشخص شده است که اختلاف معناداری بین دو گروه وجود دارد ($p < 0.001$ ***).



نمودار ۲: نمودار اگریگاسیون پلاکت‌ها در مواجهه با آگونیست ADP، منحنی‌های شماره ۲ و ۳ تجمع پلاکتی گروه بیماران قلبی واجد پلاک آترواسکلروزیک بدون مصرف داروی آنتاگونیست و منحنی شماره یک کنترل می‌باشد.

CAD هستند. در مجموع یافته‌ها بیانگر این امر است که جریان و انتقال کارآمد کلسترول از بافت‌های محیطی به کبد در پیشگیری از آترواسکلروز امری حیاتی می‌باشد. علاوه بر این، ارزیابی خطر ابتلاء به آترواسکلروز تنها بر اساس غلظت کلسترول HDL پلاسما ممکن است گمراه کننده باشد(۲۰)، بنابراین اثر تداخلی این فاکتورها در این مطالعه قابل حذف نبود.

اصلی‌ترین عملکرد فیزیولوژیک SR-B1، عمل به عنوان رسپتور HDL و نقش در متابولیسم کلسترول می‌باشد. انتقال معکوس کلسترول یکی از عملکردهای محافظتی HDL در برابر آترواسکلروز است. طی این فرآیند، ذرات HDL، کلسترول آزاد را از بافت‌های خارج کبدی جهت متابولیسم و دفع به کبد منتقل می‌کنند(۲۰، ۱۲). در واقع ذرات HDL به موجب جلوگیری از تجمع کلسترول اضافی در دیواره عروق، باعث کاهش پیشرفت آترواسکلروز می‌شوند(۲۱). گفته می‌شود که SR-B1 در برداشت انتخابی کلسترول استر HDL و جریان دو طرفه کلسترول غیر استریفیه و فسفولیپیدها بین سلول‌ها و HDL نقش مهمی دارد(۱۲). همان‌گونه که اشاره شد، SR-B1 دارای ۳۰٪ تشابه توالی با CD36 می‌باشد. CD36 بر سطح انواع مختلفی از سلول‌ها مانند منتوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های اندوتیال عروقی و پلاکت‌ها بیان می‌شود. این

بحث

در این مطالعه، بیان SR-B1 را در پلاکت‌های انسانی مورد بررسی قرار دادیم. نتایج مطالعه‌های ما حاکی از کاهش بیان SR-B1 در پلاکت بیماران قلبی - عروقی در مقایسه با گروه کنترل بود. هم چنین اگریگاسیون پلاکت‌های بیماران در مواجهه با آگونیست ADP بالاتر از حد طبیعی بود. بنابراین در این بیماران بین میزان بیان SR-B1 و فعالیت پلاکت‌ها ارتباط معکوس مشاهده شد. در کل، این یافته‌ها ارتباط بین میزان بیان SR-B1 با فعالیت پلاکت را نشان داد. عوامل مختلفی مانند هورمون‌ها (استروژن و ACTH)، کلسترول، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین E و آگونیست PPAR می‌توانند بیان SR-B1 را تغییر دهند(۱۹). از طرفی، طبیعی بودن میانگین پارامترهای لیپیدی در بیماران قلبی - عروقی در واقع مؤید این امر است که نمی‌توان گفت همه بیماران قلبی - عروقی الزاماً هایپرکلسترولمیک هستند. همان طوری که مقدار بالای HDL نیز در این بیماران نمی‌تواند به عنوان یک فاکتور پیشگیری‌کننده از ایجاد بیماری در نظر گرفته شود. ابتدا تصور بر این بود که افزایش سطح HDL باعث افزایش انتقال معکوس کلسترول می‌شود. در صورتی که همیشه این چنین نیست. به عنوان مثال افراد با کمبود لیپاز کبدی با وجود سطح کلسترول HDL بالا، بیشتر در معرض ابتلاء

می‌باشد. با این حال، مکانیسم مولکولی نحوه تنظیم عملکرد پلاکت توسط SR-B1 در حال حاضر ناشناخته است (۲۲). ذل و همکاران در پلاکت موش‌های SR-B1 Knockdown (به معنای کاهش بیان ژن *B1*)، شاخص‌هایی مانند افزایش میزان کلسترول غیراستریفیه به کلسترول تام (UC/TC) و هم چنین اختلالات مورفولوژیکی مانند افزایش اندازه و ساختارهای غیرطبیعی پلاکت را نشان دادند. تغییرات حاصل در ترکیبات لیپید و ساختار پلاکت‌ها باعث کاهش نیمه عمر پلاکت و ترومبوستیونی در موش‌های SR-B1 KO می‌شود (۲۵). یافته‌های نشان داده‌اند که فقدان SR-B1 در موش‌های KO به طور چشمگیری، ابتلا به آترواسکلروز را تسريع می‌کند در حالی که بیان SR-B1 کبدی باعث سرکوب آترواسکلروز می‌شود (۲۶-۲۹). به علت اثرات ضد آتروژنیک افزایش بیان SR-B1 کبدی، SR-B1 احتمالاً می‌تواند به عنوان یک تارگت دارویی جهت درمان بیماری‌های قلبی - عروقی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

کاهش بیان SR-B1 در پلاکت بیماران آترواسکلروزیس با افزایش اگریگاسیون و فعالیت پلاکت‌ها در ارتباط می‌باشد. در مطالعه‌های بعدی بررسی مکانیسم مولکولی اثر SR-B1 در فعالیت پلاکت پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسنده‌گان مقاله از همکاری بیمارستان شهدای تجربی و معاونت پژوهشی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه شهید بهشتی، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

دو رسپتور در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها دارای عملکرد متمایز می‌باشند (۲۲). گزارش شده است که CD36 به عنوان گلیکوپروتئین اصلی پلاکت در مراحل اولیه چسبندگی پلاکت‌ها به کلژن نقش دارد. والیوتیل و همکاران نشان دادند که یک خانواده جدید از فسفولیپیدهای اکسید شده در oxLDL به نام oxPCCD36 به عنوان یک لیگاند با میل بالا به CD36 متصل شده و باعث افزایش فعالیت پلاکت می‌گردد. در oxPCCD36 پلاسمای موش‌های هایپرلیپیدمیک HDL تجمع یافته و از طریق اسکاونجر رسپتور CD36 پلاکت‌ی شرایط پروتروموبیوتیک را القا می‌کند (۲۳). در این مطالعه علاوه بر بیان SR-B1، نقش آن در اگریگاسیون پلاکت را نیز مورد بررسی قرار دادیم. افزایش اگریگاسیون و فعالیت پلاکت از جمله فرآیندهای مهم در پیشرفت بیماری‌های قلبی - عروقی می‌باشد (۲۴). نتایج مطالعه نشان داد که میزان بیان SR-B1 با اگریگاسیون پلاکت ارتباط معکوس دارد. ایماچی و همکاران نیز به نتایج مشابه با تحقیق حاضر دست یافتند. علاوه بر این، آن‌ها هم چنین مشاهده کردند که بیان SR-B1 بر سطح پلاکت با میزان کلسترول داخل سلولی پلاکت ارتباط معکوس دارد. بر همین اساس گفته می‌شود که بیان SR-B1 علاوه بر اگریگاسیون پلاکت، بر متابولیسم کلسترول در پلاکت نیز می‌تواند تاثیرگذار باشد (۱۶). مطالعه‌های انجام شده روی موش‌های CD36-/- نشان داده‌اند که فعالیت ضد ترومبوزی HDL وابسته به SR-B1 پلاکت است. علاوه بر این، والیوتیل و همکاران مشاهده کردند که اکسیدشده (OxHDL)، مهارکننده قوی اگریگاسیون پلاکت

References:

- Douglas G, Channon KM. The pathogenesis of atherosclerosis. Medicine 2014; 42(9): 480-4.
- Wang T, Palucci D, Law K, Yanagawa B, Yam J, Butany J. Atherosclerosis: pathogenesis and pathology. Diagnostic Histopathology 2012; 18(11): 461-7.
- Lloyd-Jones DM. Cardiovascular risk prediction basic concepts, current status, and future directions. Circulation 2010; 121(15): 1768-77.
- Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. Circ Res 2005; 96(12): 1221-32.
- Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. Circ Res 2006; 98(11): 1352-64.
- Murphy AJ, Woollard KJ. High-density lipoprotein: a potent inhibitor of inflammation. Clin Exp Pharmacol Physiol 2010; 37(7): 710-8.
- Kent AP, Stylianou IM. Scavenger receptor class B member 1 protein: hepatic regulation and its effects on lipids , reverse cholesterol transport , and

- atherosclerosis. *Hepat Med* 2011; 3: 29-44.
- 8- Luo DX, Cao DL, Xiong Y, Peng XH, Liao DF. A novel model of cholesterol efflux from lipid-loaded cells. *Acta Pharmacol Sin* 2010; 31(10): 1243-57.
 - 9- Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein—the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989; 321(19): 1311-6.
 - 10- von Eckardstein A, Nofer JR, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(1): 13-27.
 - 11- Mineo C, Shaul PW. Functions of scavenger receptor class B, type I in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23(5): 487-93.
 - 12- Yancey PG, Bortnick AE, Kellner-Weibel G, de la Llera-Moya M, Phillips MC, Rothblat GH. Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(5): 712-9.
 - 13- Shen WJ, Hu J, Hu Z, Kraemer FB, Azhar S. Scavenger receptor class B type I (SR-B1): a versatile receptor with multiple functions and actions. *Metabolism* 2014; 63(7): 875-86.
 - 14- Valiyaveettil M, Podrez E. Platelet hyperreactivity, scavenger receptors and atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2009; 7(S1): 218-21.
 - 15- Stephen SL, Freestone K, Dunn S, Twigg MW, Homer-Vanniasinkam S, Walker JH, et al. Scavenger receptors and their potential as therapeutic targets in the treatment of cardiovascular disease. *Int J Hypertens* 2010; 2010: 646929.
 - 16- Imachi H, Murao K, Cao W, Tada S, Taminato T, Wong NC, et al. Expression of human scavenger receptor B1 on and in human platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(5): 898-904.
 - 17- Fujisawa K, Tani P, McMillan R. Platelet associated antibody to glycoprotein IIb/IIIa from chronic immune thrombocytopenic purpura patients often bonds to divalent cation dependent antigens. *Blood* 1993; 81: 1284-9.
 - 18- Hamidpour M, Behrendt M, Griffiths B, Partridge L, Lindsey N. The isolation and characterization of antiplatelet antibodies. *Eur J Haematol* 2006; 76: 331-8.
 - 19- Krieger M. Scavenger receptor class B type I is a multiligand HDL receptor that influences diverse physiologic systems. *J Clin Invest* 2001; 108(6): 793-7.
 - 20- Tsompanidi EM, Brinkmeier MS, Fotiadou EH, Giakoumi SM, Kypros KE. HDL biogenesis and functions: role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2010; 208(1): 3-9.
 - 21- Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(8): 1702-11.
 - 22- Podrez EA, Byzova TV, Febbraio M, Salomon RG, Ma Y, Valiyaveettil M, et al. Platelet CD36 links hyperlipidemia, oxidant stress and a prothrombotic phenotype. *Nat Med* 2007; 13(9): 1086-95.
 - 23- Gawaz M. Platelets in the onset of atherosclerosis. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36(2): 206-10.
 - 24- Valiyaveettil M, Kar N, Ashraf MZ, Byzova TV, Febbraio M, Podrez EA. Oxidized high-density lipoprotein inhibits platelet activation and aggregation via scavenger receptor BI. *Blood* 2008; 111(4): 1962-71.
 - 25- Dole VS, Matuskova J, Vasile E, Yesilaltay A, Bergmeier W, Bernimoulin M, et al. Thrombocytopenia and platelet abnormalities in high-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(6): 1111-6.
 - 26- Trigatti B, Rayburn H, Viñals M, Braun A, Miettinen H, Penman M, et al. Influence of the high density lipoprotein receptor SR-B1 on reproductive and cardiovascular pathophysiology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(16): 9322-7.
 - 27- Huszar D, Varban ML, Rinninger F, Feeley R, Arai T, Fairchild-Huntress V, et al. Increased LDL Cholesterol and Atherosclerosis in LDL Receptor-Deficient Mice With Attenuated Expression of Scavenger Receptor B1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(4): 1068-73.
 - 28- Ueda Y, Gong E, Royer L, Cooper PN, Francone OL, Rubin EM. Relationship between expression levels and atherogenesis in scavenger receptor class B, type I transgenics. *J Biol Chem* 2000; 275(27): 20368-73.
 - 29- Kozarsky KF, Donahee MH, Glick JM, Krieger M, Rader DJ. Gene transfer and hepatic overexpression of the HDL receptor SR-B1 reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed LDL receptor-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(3): 721-7.

Original Article

The detection of Scavenger Receptor-B1 expression and its role on the function of platelets in patients with atherosclerotic disease

Abasalizade M.¹, Nehzati P.¹, Allahbakshian M.¹, Hamidpour M.¹, Khadem Mabodi A.A.¹, Tabatabaie M.R.²

¹School of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

SR-B1 acts as the main receptor for HDL and plays an important role in reverse cholesterol transport. In contrast to LDL level which causes Atherosclerotic plaque in artery, plasma concentration of HDL correlates inversely with the incidence of coronary artery disease and atherosclerosis. This study investigates the expression of Scavenger Receptor-B1 and its role on the function of platelets in patients with atherosclerotic disease.

Materials and Methods

The present case-control study evaluated the SR-B1 receptor of 24 patients with atherosclerotic plaque and 24 healthy volunteers as the normal control. After separation of platelet, the expression of SR-BI was detected using western blotting. Platelet function in response to agonists was examined by aggregometry. Finally, the data were statistically analyzed using SPSS version 16 software and the student T-test.

Results

The western blotting assay showed a significant reduction of SR-BI protein expression in AD patients (0.4 AU) compared with the healthy control (1.4 AU), ($p < 0.001$). The platelet aggregation in response to ADP showed a significant increase in patients (85%) compared to the control (51%), ($p < 0.001$).

Conclusions

The levels of SR-B1 expression correlate inversely with platelet aggregation.

Key words: Platelets, Atherosclerosis, Patients

Received: 25 Oct 2016

Accepted: 1 Feb 2017

Correspondence: Hamidpour M., PhD of Hematology & Blood Banking. Associate Professor of Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences.
Postal code: 1971653383, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 22717504; Fax: (+9821) 22717504
E-mail: mohsenhp@sbmu.ac.ir