

شناسایی نقش‌های جدید اندامک‌های ویبل - پالاده در بیماری فون ویلبراند

شیرین شهبازی^۱، رضا مهدیان^۲

چکیده

سابقه و هدف

اندامک‌های ویبل - پالاده، اجزای ذخیره کننده اختصاصی سلول‌های اندوتلیال هستند. حضور منحصر به فرد آن‌ها در این سلول‌ها، گواه ایفای نقش ویژه آن‌هاست و ردگیری این نقش‌ها، به کشف فیزیولوژی سلول‌های اندوتلیال کمک شایانی خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

مقاله حاضر به صورت مروری بر نتایج حاصل از مطالعات جدید پیرامون این اندامک‌ها از جمله تجربیات تحقیقاتی نویسندگان تهیه گردیده و سعی شده تا دربرگیرنده تمامی یافته‌ها در این زمینه باشد.

یافته‌ها

تفکیک این اندامک‌ها از لیزوزوم و شناسایی پروتئین‌های مهمی مانند فاکتور فون ویلبراند، پی سلکتین و استئوپروتئین که در آن ذخیره می‌شوند، تاکید دیگری بر نقش خاص آن‌ها بوده است. توجه به این موضوع که صدمات عروقی سریعاً باعث تخلیه محتویات این اندامک‌ها به داخل گردش خون می‌شود، برانگیزنده این سؤال خواهد بود که فقدان آن‌ها چه نتایج پاتولوژیکی به همراه خواهد داشت. وضعیتی که در مبتلایان به نوع وخیم بیماری فون ویلبراند بروز می‌کند.

نتیجه‌گیری

تحقیقات جدیدی که در چند سال اخیر در حال انجام است، به سرعت پرده از راز حضور اندامک‌های ویبل - پالاده بر می‌دارد و نقش‌های متعدد آن‌ها را شناسایی می‌نماید. مقاله حاضر مروری بر این یافته‌ها و نمایی از تحقیقات آینده است که در راستای این رمزگشایی صورت خواهد پذیرفت.

کلمات کلیدی: اندامک‌های ویبل - پالاده، فاکتور فون ویلبراند، سلول‌های اندوتلیال، بیماری فون ویلبراند

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲۹

تاریخ پذیرش: ۸۹/ ۲/ ۴

۱- مؤلف مسئول: PhD ژنتیک - استادیار گروه ژنتیک پزشکی - دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۳۱

۲- PhD , MD ، استادیار مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی - بخش پزشکی مولکولی انستیتو پاستور ایران

مقدمه

در سال ۱۹۶۴، دکتر ویبل و دکتر پالاده برای نخستین بار اندامک‌های میله‌ای شکلی را که تنها در سلول اندوتلیال وجود داشت شرح دادند (۱). این یافته در مورد اندامک‌های ویبل - پالاده (Weibel-Palade bodies) گسترش نیافت مگر تا سال ۱۹۸۹ که دکتر واگنر و همکارانش توضیح دادند که فاکتور فون ویلبراند، اصلی‌ترین تشکیل‌دهنده این اندامک‌های ذخیره‌ای است (۲).

از آن سال تا کنون، نقش‌های متعددی برای این اندامک‌ها شناسایی شده که درجه‌های جدیدی را از حضور آن‌ها به طور اختصاصی در سلول‌های اندوتلیال، پیش روی محققین گشوده است.

۱- فاکتور فون ویلبراند:

پیش از هر توضیحی در مورد اندامک‌های ویبل - پالاده، آشنایی مختصری با فاکتور فون ویلبراند ضروری به نظر می‌رسد. فاکتور فون ویلبراند یک گلیکو پروتئین پلاسمایی است که با غلظت ۵-۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به صورت مولتی‌مرهای بزرگی در گردش خون یافت می‌شود (۳).

تنها سلول‌هایی که این پروتئین را بیان می‌کنند، سلول‌های اندوتلیال و مگاکاریوسیت‌ها هستند. این پروتئین دارای دو نقش اساسی است: یکی این که با اتصال به کلاژن ظاهر شده در بافت زیر اندوتلیوم متعاقب جراحات عروقی، باعث القای روند تجمع و فعالیت پلاکتی و نهایتاً ایجاد میخ پلاکتی و انعقاد می‌شود و دیگر این که حامل فاکتور ۸ انعقادی و به عبارت دیگر محافظت‌کننده آن در جریان خون است (۴-۷).

ژن فاکتور فون ویلبراند، بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۲ قرار دارد و نواقص آن منجر به بیماری خونریزی دهنده فون ویلبراند می‌گردد (۸). متعاقب ساخته شدن، فاکتور فون ویلبراند یا مستقیماً به داخل گردش خون ترشح می‌شود یا به صورت مولتی‌مرهای خیلی بلند گاهی به بزرگی چهل زیر واحد، در اندامک‌های ویبل - پالاده ذخیره شده و در مواقع ضروری به داخل خون آزاد می‌شود (۲، ۳). شکل ذخیره‌ای آن در مگاکاریوسیت‌ها و

پلاکت‌ها، در گرانول آلفا یافت می‌شود (۹).

۲- ساختار اندامک:

اندامک‌های ویبل - پالاده، منحصرراً در سلول اندوتلیال مهره‌داران یافت می‌شوند. طول آن‌ها ۵-۱ میکرومتر است، پهنایی حدود ۲۰۰-۱۰۰ نانومتر و غشایی یک لایه‌ای دارند. داخل آن‌ها متراکم و مملو از مولتی‌مرهای فشرده شده پروتئین فون ویلبراند است که زیر میکروسکوپ، ظاهری از توپول‌های کنار هم را به آن می‌بخشد (۱۰، ۱) (شکل ۱).



شکل ۱: مورفولوژی اندامک ویبل - پالاده: A - تصویر میکروسکوپ الکترونی اندامک القا شده توسط سازه حاوی ژن vWF در سلول‌های HEK. B - برش افقی اندامک (۱۱).

مطالعه‌های میکروسکوپ الکترونی مشخص کرد مجرای پدیدار شده متعاقب برش طولی اندامک، واجد شکل رشته‌مانندی است که برش عرضی توخالی بودن این رشته‌ها را تایید می‌کند (۱۳، ۱۲، ۱). مطالعه‌های تکمیلی توسط میکروسکوپ ایمونوگلد مشخص کرد این ساختار که یک ساختمان توبولینی حقیقی نیست، برای رنگ‌آمیزی‌های پروتئین فون ویلبراند واکنش نشان می‌دهد (۱۴).

اخیراً مشخص شده که شکل میله‌ای مانند این اندامک‌ها، ماحصل حضور مولتی‌مرهای فاکتور فون ویلبراند است که در داخل اندامک، یک شکل رشته‌ای و توبول مانند را به خود می‌گیرند (۱۵). هم چنین مشخص شده که وجود یک ساختار منظم رشته یا توبول مانند، برای آزاد شدن سریع فاکتور فون ویلبراند و ایفای نقشش در پاسخ سریع به صدمات عروقی بسیار مهم است. به عبارت دیگر باز شدن از یک شکل کلاف منظم، مانع گره خوردگی رشته‌های بلند مولتی‌مر پروتئین فون ویلبراند

اندامک‌های ویبل - پالاده هستند، بیان‌ساز واجد ژن *vWF*، منجر به پیدایش اندامک‌ها شد (۲۰).

علاوه بر نقش کلیدی فاکتور فون ویلبراند در پیدایش اندامک‌های ویبل - پالاده، لویی رابرت و همکارانش با یافتن پوشش کلاترینی بر روی این اندامک‌ها، به اهمیت کمپلکس AP-1 پی بردند. این کمپلکس متشکل از یک پروتئین وابسته به پوشش کلاترینی است که در شکل‌گیری اندامک‌های داخل سلولی نقش بازی می‌کند (۲۱). این گروه از محققین متوجه شدند که یک پوشش کلاترینی سیتوپلاسمی برای شکل‌گیری یک اندامک با ظاهری کشیده لازم است (۲۲). در یک مطالعه، دیگر محققان به اهمیت یک گونه فعال از Rab3D در شکل‌گیری اندامک‌های ویبل - پالاده پی بردند. متعاقب بیان بالای این small GTP-binding protein، اندامک‌های کشیده‌تری در سلول پیدا شد در حالی که بیان یک گونه غیر فعال Rab3D، منجر به عدم تشکیل این اندامک‌ها گردید (۲۳).

با توجه به همه این شواهد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگر چه فاکتور فون ویلبراند نقش تعیین‌کننده‌ای در پیدایش این اندامک‌ها بازی می‌کند، اما تنها عامل مؤثر در به وجود آمدن آن‌ها نیست. می‌توان تصور کرد که اثر القایی فاکتور فون ویلبراند به کمک عوامل ایجاد و شکل‌گیری اندامک‌های درون سلولی آمده و باعث شکل‌گیری ویبل - پالاده‌ها می‌شود.

۴- محتویات اندامک:

به غیر از فاکتور فون ویلبراند که جزء اصلی اندامک‌های ویبل - پالاده است و حضورش شکل خاص این اندامک‌ها را به آن‌ها می‌بخشد، پروتئین‌های متعدد دیگری با نقش‌های فیزیولوژیک متنوع در این اندامک حاضر هستند (جدول ۱). در ادامه توضیحاتی در مورد تعدادی از آن‌ها آورده شده است.

الف- پی - سلکتین (*P-selectin*):

یک پروتئین داخل غشایی متعلق به خانواده سلکتین‌ها است (۲۴). هم در سلول اندوتلیال و هم در پلاکت یافت

می‌شود و عملکرد آن را در به کارگیری پلاکت‌ها برای شروع روند انعقاد تسهیل می‌کند. یکی از عواملی که باعث پیدایش ساختار کلاف مانند می‌شود، pH پایین اندامک‌ها می‌باشد. نشان داده شده که اگر سلول‌های اندوتلیال واجد اندامک‌های ویبل - پالاده را تحت اثر مواد شیمیایی خنثی‌کننده pH مانند موننن‌زین (monensin) قرار دهیم، اندامک‌ها ظرف یک ساعت گرد و کروی مانند می‌شوند و ساختار توبولی داخل آن‌ها ناپدید می‌گردد (۱۵). متعاقباً اگر سلول برای آزادسازی محتویات داخل اندامک‌ها تحریک شود، مولتی‌مرهای فون ویلبراند به صورت در هم پیچیده و گره خورده که فاقد توانایی اتصال به پلاکت هستند آزاد می‌شود. این شواهد مشخص کرد که عملکرد صحیح فاکتور فون ویلبراند به ساختار ویژه اندامک‌های ویبل - پالاده کاملاً وابسته است.

۳- پیدایش اندامک:

دستگاه گلژی محل اصلی انتقال پروتئین‌ها و شکل‌گیری اندامک‌های داخل سلولی است. هر دو مسیر ترشح پیوسته و ذخیره شدن داخل سلول پروتئین‌ها، از این دستگاه شروع می‌شود. مشاهدات میکروسکوپ الکترونی مشخص کرد که پیدایش اندامک‌های ویبل - پالاده نیز از دستگاه گلژی منشأ می‌گیرد. هم چنین مشخص شد که این اندامک‌ها ساختاری متفاوت از لیزوزوم دارند (۱۶، ۱۷). شواهد موجود نشان‌دهنده اهمیت فاکتور فون ویلبراند در پیدایش اندامک‌های ویبل - پالاده می‌باشد. مطالعه‌ها بر روی موش‌های ترانسژنیک فاقد فاکتور فون ویلبراند نشان داد در سلول‌های اندوتلیال این موش‌ها، هیچ اندامک ویبل - پالاده‌ای تشکیل نشده است (۱۸). از طرف دیگر بیان این فاکتور به کمک روش‌های مهندسی ژنتیک در رده‌های سلولی که ذاتاً قادر به بیان و ساخت فون ویلبراند نیستند، منجر به تشکیل اندامک‌هایی با ساختاری شبیه به ویبل - پالاده که واجد مولتی‌مرهای ویلبراند بودند، شد (۱۹). این مشاهده‌ها در مطالعه‌ای که بر روی سلول‌های اندوتلیال به دست آمده از سگ‌های مبتلا به نوع وخیم بیماری فون ویلبراند که از فقدان کامل این پروتئین رنج می‌بردند انجام شده بود، تایید شد. در این سلول‌ها که به طور طبیعی فاقد

آزاد شده از پلاکت‌های فعال نیز نقش مهمی در میانکشد پلاکت و لکوسیت بازی می‌کند که مرحله مهمی در انعقاد و جابه‌جایی‌های فیبرین است (۲۹). نهایتاً پس از خاتمه عملکردش، پی‌سلکتین می‌تواند به داخل سلول باز یافت شود (۳۰).

برای نخستین بار در سال ۱۹۸۹، حضور پی‌سلکتین در اندامک‌های ویبل - پالاده مشخص شد (۲۵). بر خلاف فاکتور فون ویلبراند، پی‌سلکتین هیچ نقشی در القای پیدایش اندامک‌ها ندارد. بیان پی‌سلکتین با کمک روش‌های مهندسی ژنتیک در سلول‌هایی که به طور طبیعی فاقد آن هستند، باعث تجمع پی‌سلکتین در اندامک‌های داخل سلولی مانند لیزوزوم‌ها شد و هیچ اندامک ویبل - پالاده‌ای مشاهده نگردید. مطلب فوق دلالت بر این موضوع داشت که برای تجمع در ویبل - پالاده، پی‌سلکتین به کمک و هدایت این پروتئین یا پروتئین‌های دیگری نیاز دارد (۳۱).

این مشاهده‌ها اساسی شد برای مطالعاتی که بر روی نقش فاکتور فون ویلبراند در هدایت پی‌سلکتین به داخل اندامک‌های ذخیره‌ای صورت پذیرفت. گروهی از محققین با استفاده از یک رده سلول اپیتلیال که mRNA پی‌سلکتین را بیان می‌کرد اما فاکتور فون ویلبراند را نه، نشان دادند که آلوده‌سازی این سلول‌ها با سازه حامل ژن vWF، منجر به پیدایش اندامک‌های ویبل - پالاده و نهایتاً ذخیره پی‌سلکتین با همراهی فاکتور فون ویلبراند در آن‌ها می‌شود (۳۲). این یافته اخیراً با تاکید بر جزئیات بیشتری مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، قطعات عملکردی متعددی از فاکتور فون ویلبراند به همراه پی‌سلکتین با روش‌های مهندسی ژنتیک به میزبان مناسب ارایه شد و ناحیه مسؤول فاکتور فون ویلبراند در این راهنمایی و جهت بخشی شناسایی گردید (۳۳).

هم چنین مطالعه‌ها بر روی سلول‌های اندوتلیال عروق ریوی موش‌های ترانسژنیک فاقد فاکتور فون ویلبراند که نتیجتاً اندامک ویبل - پالاده نیز ندارند نشان داد که پی‌سلکتین جای‌گیری نابه‌جایی در لیزوزوم یا اندامک‌های ذخیره‌ای غیر اختصاصی دیگر پیدا کرده است.

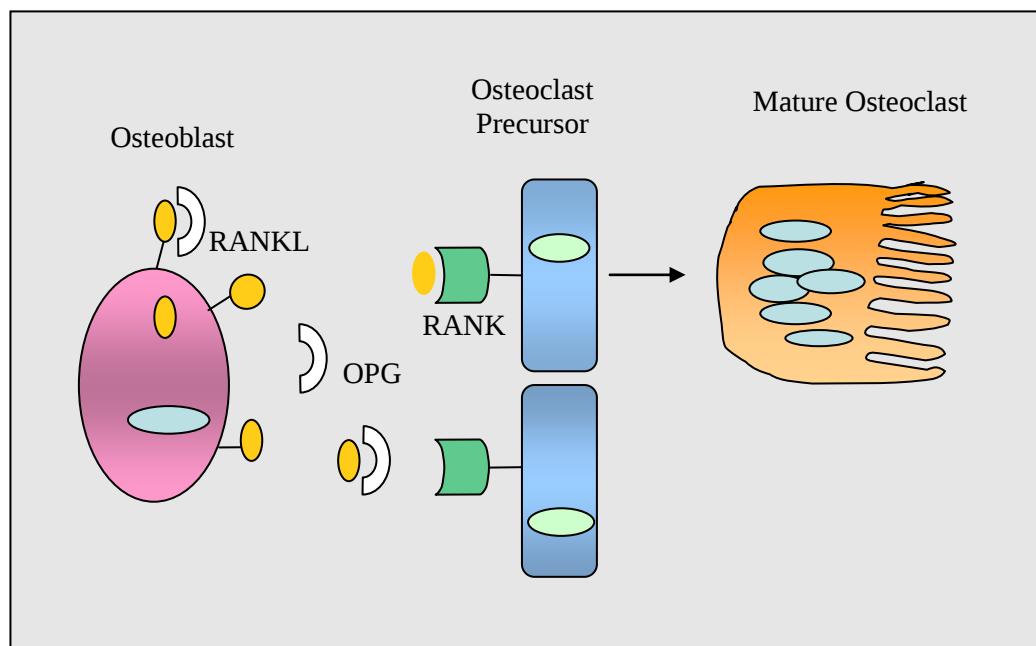
تجمع پی‌سلکتین در کیسه‌های ذخیره‌ای به غیر از اندامک ویبل - پالاده، قابلیت این گیرنده برای حضور

می‌شود. در پی تحریک سلول اندوتلیال، به سرعت از اندامک‌های ویبل - پالاده آزاد شده و در سطح سلول فعال شده بیان می‌شود (۲۶، ۲۵). سپس با لیگاند خود بر روی لکوسیت، لیگاند گلیکوپروتئینی شماره ۱ پی‌سلکتین (P-selectin glycoprotein ligand-1)، وارد واکنش شده و باعث آرام‌تر شدن حرکت لکوسیت‌ها در جریان خون و اتصال محکم آن‌ها به دیواره عروق و نشست خارج از عروقی (extravasation) محل التهاب می‌شود (۲۴).

جدول ۱: فهرست پروتئین‌های موجود در اندامک‌های ویبل - پالاده

عملکرد	پروتئین
هموستاز	(Wagner <i>et al.</i> , 1982; Ewenstein <i>et al.</i> , 1987) فاکتور فون ویلبراند
پاسخ‌های التهابی	(Bonfanti <i>et al.</i> , 1989; McEver <i>et al.</i> , 1989) پی - سلکتین
پاسخ‌های التهابی	CD63 (Vischer and Wagner, 1993)
پاسخ‌های التهابی	(Utgaard <i>et al.</i> , 1998; Wolff <i>et al.</i> , 1998) ایترلوکین ۸
انقباض عروقی	(Russell <i>et al.</i> , 1998) اندوتلین
انقباض عروقی	(Russell <i>et al.</i> , 1998) آنزیم تبدیل‌کننده اندوتلین
پاسخ‌های التهابی	$\alpha 1,3$ -fucosyltransferase VI (Schnyder-Candrian <i>et al.</i> , 2000)
فیبرینولیز	Tissue-type plasminogen activator (Rosenblatt <i>et al.</i> , 1999)
پاسخ‌های التهابی	(Oyenebraten <i>et al.</i> , 2004) اثوتاکسین ۳
رگزایی	(Fiedler <i>et al.</i> , 2004) آنژیوپوتنین ۲
استخوان‌سازی / پاسخ‌های التهابی	(Zannettino <i>et al.</i> , 2005) اوستئوپروتئین

موش‌های فاقد پی - سلکتین، نواقص به کارگیری لکوسیت در محل التهاب را نشان داده‌اند (۲۷). نکته جالب توجه این جا بود که این موش‌ها نواقصی در روند هموستازشان نیز نشان دادند و این مطالعه برای اولین بار شواهدی در نقش پی‌سلکتین در انعقاد را ارایه داد. این نواقص به صورت طولانی شدن زمان خونریزی (bleeding time) تا ۴۰٪ حالت طبیعی بود (۲۸). به علاوه پی‌سلکتین



شکل ۲: رسپتور در گردش استئوپروتئجین (OPG) به RANKL که از استئوبلاست‌ها آزاد شده متصل می‌شود و مانع اتصال آن به گیرنده‌اش RANK بر روی استئوکلاست‌ها می‌شود. این عملکرد نهایتاً منجر به توقف بلوغ و تمایز استئوکلاست‌ها می‌شود.

مکانیزم‌های متفاوتی از فعالیت استئوکلاست‌ها جلوگیری کرده و مانع باز جذب توده استخوانی می‌گردد (۳۷) (شکل ۲). نقش ضد پوکی استخوان این پروتئین، با بررسی‌ها در موش‌های ترانسژنیک فاقد آن تایید شد. در این موش‌ها فعالیت بالای استئوکلاستی و پوکی استخوان زودرس مشاهده شد (۳۸).

علاوه بر نقش مهم و شناخته شده استئوپروتئجین در فیزیولوژی استخوان، در فیزیولوژی و پاتولوژی عروقی نیز عملکردهایی برای آن شناسایی شده است. در پی تحقیقات بر روی سلول‌های اندوتلیال، این گیرنده به عنوان یک فاکتور بقا با مکانیزم مهار کردن آپوپتوز سلولی شناخته شد (۳۹). علاوه بر آن مطالعه بر روی موش‌های ترانسژنیک فاقد استئوپروتئجین، تجمع کلسیم در جداره آئورت و عروق کلیوی را نشان داده بود. نکته جالب اینجاست که پوکی استخوان و تجمع کلسیم در عروق، دو یافته پاتولوژیکی هستند که مکرراً با هم بروز می‌کنند و فاکتورهای خطر مشترک متعددی مانند پیری، بیماری‌های التهابی، استفاده از گلوکوکورتیکوئیدها، نارسایی مزمن

در سطح سلول در پی تحریک سلول اندوتلیال را مختل می‌کند. این مسأله نواقص تجمع لکوسیت‌ها و پاسخ التهابی را به دنبال داشته و همان طور که در مدل موشی نشان داده شد، باعث گسترش بیماری‌های عفونی مانند مننژیت می‌گردد (۱۸).

ب- استئوپروتئجین (Osteoprotegerin):

پروتئین بعدی حاضر در اندامک‌های ویبل - پالاده، استئوپروتئجین است. پروتئینی که اولین بار در سال ۱۹۹۷ شناسایی و در گروه خانواده گیرنده‌های Tumor Necrosis Factor (TNF) دسته‌بندی شد (۳۴). استئوپروتئجین در بافت‌های گوناگونی مانند قلب، ریه و استخوان بیان می‌شود (۳۵، ۳۶). عملکرد اصلی این پروتئین مهار تجزیه استخوانی می‌باشد.

همان طور که مشخص شده، توده استخوانی از تعادلی بین تشکیل بافت استخوانی و تجزیه آن تاثیر می‌پذیرد. این دو عملکرد در سطح سلول وابسته به فعالیت استئوکلاست‌ها و استئوبلاست‌ها هستند. استئوپروتئجین با

کلیوی و کمبود استروژن دارند. وجود شواهد این که گیرنده مذکور، هم در پوکی استخوان و هم در صدمات عروقی نقش بازی می‌کند، این فرضیه را مطرح کرد که پروتئین کلیدی در هر دو پاتولوژی، استئوپروتجین است. اخیراً نشان داده شد که استئوپروتجین، در اندامک ویبل پالاده سلول‌های اندوتلیال به همراه فاکتور فون ویلبراند ذخیره می‌شود. نکته جالب توجه این که در پی مطالعه‌های هم-رسوب‌سازی (Co-immunoprecipitation)، محققین دریافتند که هر دو پروتئین با هم در پلاسما نیز گردش می‌کنند (۴۰).

مطالعه‌های تکمیلی در این زمینه جزئیات ارتباط بین استئوپروتجین و فاکتور فون ویلبراند را آشکار کرد. پژوهشگران دریافتند که یک میانکنش اختصاصی بین این دو مولکول وجود دارد و این میانکنش در شرایط فیزیولوژیک اندامک ویبل-پالاده رخ می‌دهد. هم چنین این نکته به اثبات رسید که بعد از تشکیل در شرایط داخل سلولی و آزاد شدن آن در جریان خون، کمپلکس پایداریش را حفظ کرده و به اجزای اولیه تفکیک نمی‌شود (۴۱). از یافته‌های دیگر این تحقیق، مکان‌یابی ناحیه خاص اتصال به استئوپروتجین بر روی فاکتور فون ویلبراند بود. با استفاده از قطعات نوترکیب این فاکتور و حفظ شرایط مناسب اتصال، نشان داده شد که قطعه حاوی ناحیه A1 مسئول انجام این میانکنش است (۴۱).

جدیدترین گزارش در این زمینه ضمن تایید نتایج مقاله‌های قبل، نشان داد که این کمپلکس جزء سومی هم دارد که آن فاکتور ۸ انعقادی است. در این مطالعه نشان داده شد که این کمپلکس می‌تواند در روند استخوان‌زدایی به عنوان عامل محدود کننده عمل کند، باعث بهبودی صدمات استخوانی شود و با تاثیر بر سلول‌های سرطانی با افزایش آپوپتوز به عنوان عامل ضد سرطان مطرح گردد (۴۲).

ج- آنژیوپوئیتین ۲ (Angiopoietin2):

خانواده آنژیوپوئیتین‌ها دارای سه عضو می‌باشند. آنژیوپوئیتین ۱، آنژیوپوئیتین ۲ و آنژیوپوئیتین ۴. آنژیوپوئیتین ۳ در موش بیان می‌شود و به نظر می‌آید که

مشابه آنژیوپوئیتین ۴ انسانی است (۴۳). این سه پروتئین به رسپتور مشترکی به نام Tie۲ متصل می‌شوند که غالباً در سلول‌های اندوتلیال بیان می‌گردد. کشف آنژیوپوئیتین ۲ در سال ۱۹۹۷ آن را به عنوان آگونیست آنژیوپوئیتین ۱ و Tie۲ مطرح کرد (۴۴). برخلاف آنژیوپوئیتین ۱ که توسط انواع سلول‌ها بیان می‌شود، آنژیوپوئیتین ۲ تنها در سلول‌های اندوتلیال بیان می‌گردد (۴۵).

آنژیوپوئیتین‌ها در طیف وسیعی از واکنش‌های درگیر در بدخیمی مانند رگ‌زایی، پاسخ‌های التهابی و نشت خارج از عروقی نقش بازی می‌کنند. از آنجایی که آنژیوپوئیتین ۱ و آنژیوپوئیتین ۲ با میل ترکیبی یکسان به ناحیه مشترکی بر روی Tie۲ متصل می‌شوند، عملکرد آنژیوپوئیتین ۲ فقط در سایه شناسایی اثر متقابل تکمیل‌کنندگی / آنتاگونیستی با آنژیوپوئیتین ۱ قابل بررسی است. اتصال آنژیوپوئیتین ۱ به Tie۲، القای اتوفسفوریلاسیون (autophosphorylation) رسپتور و انتقال پیامی که نهایتاً باعث استحکام، بقا و یکپارچگی (quiescence) سلول اندوتلیال می‌شود را در پی دارد. آنژیوپوئیتین ۱ با این مکانیزم، رسپتور Tie ۲ را برای هر تحت تاثیر قرارگرفتنی مهار می‌نماید تا سلول اندوتلیال در شرایط با ثبات خود باقی بماند.

آنژیوپوئیتین ۲ به عنوان یک مهار کننده اتصال آنژیوپوئیتین ۱/Tie۲ عمل می‌کند و باعث تسهیل اثر عوامل فعال‌کننده رگ‌زایی مانند Vascular Endothelial Growth Factor بر روی سلول اندوتلیال می‌شود (۴۵).

بیان آنژیوپوئیتین ۲ قویاً تحت کنترل است. mRNA آنژیوپوئیتین ۲ در سلول‌های با ثبات به ندرت یافت می‌شود اما در سلول‌های بدخیم با رگ‌زایی بالا، میزان بسیار بالایی از بیان آن را شاهد هستیم (۴۶). سیتوکین‌های متعدد اندوتلیالی مانند Fibroblast Growth Factor-2, Tumor Necrosis Factor, Vascular Endothelial Growth Factor می‌توانند بیان بالای آنژیوپوئیتین ۲ را القا نمایند. هم چنین عوامل محیطی متعددی نیز مانند هیپوکسی، میزان گلوکز بالا و اثر سوپر اکسیدازها این قابلیت را دارند. آزاد شدن آنژیوپوئیتین ۲، سریعاً اندوتلیوم را بی‌ثبات نموده و گواه این موضوع است که حضور آنژیوپوئیتین ۲ به یکپارچگی سلول اندوتلیال پایان داده و آن را برای رگ‌زایی جدید آماده

می‌نماید. اخیراً نیز نشان داده شده که آنژیوپوئیتین ۲ باعث نفوذپذیری این سلول‌ها و آغازگر یک پاسخ التهابی در سلول‌های اندوتلیال نیز می‌باشد (۴۷). می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تعادل بین آنژیوپوئیتین ۱ و آنژیوپوئیتین ۲ بر حفظ یا ایجاد عروق، تأثیر به سزایی دارد.

در سال ۲۰۰۴ مشخص شد که آنژیوپوئیتین ۲ در اندامک‌های ویبل - پالاده سلول‌های اندوتلیال ذخیره می‌شوند. جایی که همراه فاکتور فون ویلبراند است و در کمتر از یک دقیقه متعاقب تحریک سلولی به گردش خون آزاد می‌شود (۴۸). در مطالعه تکمیلی به عمل آمده جهت بررسی بیشتر این هم جای‌گیری، نشان داده شد که میانکنش اختصاصی بین دو مولکول وجود دارد و در غیاب فاکتور فون ویلبراند، آنژیوپوئیتین ۲ در سیتوپلاسم سلول به صورت منتشر و غیر متمرکز در اندامک خاصی درمی‌آید.

هم‌چنین نشان داده شد که دو مولکول به صورت کمپلکس در جریان خون گردش کرده اما آیا این که فاکتور فون ویلبراند نقش محافظتی برای آنژیوپوئیتین ۲ (همانند اثرش بر روی فاکتور ۸) بازی می‌کند یا نه، نیاز به مطالعه‌های بیشتری دارد (۴۹).

۵- آگروسیتوز اندامک:

آگروسیتوز اندامک‌های ویبل - پالاده، نقش مهمی هم در هموستاز و هم در پاسخ‌های التهابی عروقی بازی می‌کند. این عمل با تخلیه کامل اندامک‌ها در کمتر از یک دقیقه متعاقب تحریک همراه است و این نتیجه‌گیری را می‌تواند به همراه داشته باشد که آگروسیتوز اندامک‌های ویبل - پالاده، سریع‌ترین و ابتدایی‌ترین پاسخ در پی فعال شدن سلول‌های اندوتلیال است و مستقل از بیان ژن خاصی صورت می‌پذیرد.

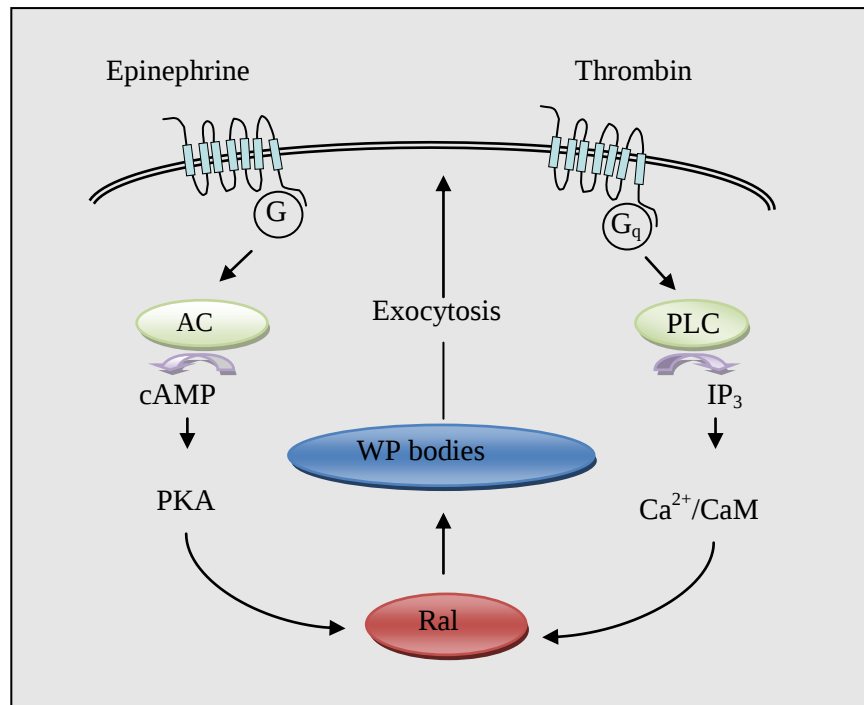
در شرایط *In vivo* تعداد زیادی از محرک‌ها قادر به القای آگروسیتوز اندامک‌ها هستند. پروتئین‌های التهابی مانند اجزای سیستم کمپلمان، هیستامین و سرامیدها، پروتئین‌های انعقادی مانند ترومبین و فیبرین و یا محرک‌های فیزیکی مانند تروما، هیپوکسی و تشعشعات از اهم این عوامل تحریک کننده هستند (۵۷-۵۰).

در شرایط *In vitro*، ترکیبات شیمیایی مانند phorbol myristate یا Calcium ionophore A23187 acetate از موادی هستند که مکرراً در آزمایش‌ها جهت القای آگروسیتوز اندامک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵۹، ۵۸). آزادسازی ذخایر اندامک‌های ویبل - پالاده در درمان‌های بالینی نیز جهت افزایش میزان فاکتور فون ویلبراند خون در نوع خفیف این بیماری با تجویز یک آنالوگ وازوپرسین به نام 1-desamino-8-D-arginin vasopressin (DDAVP) صورت می‌پذیرد (۶۰). در بخش‌های بعدی بیشتر در مورد انواع بیماری فون ویلبراند بحث خواهد شد. مکانیزم اصلی آگروسیتوز اندامک‌های ویبل - پالاده، هنوز شناخته شده نیست اما دو دسته از آگونیست‌ها در این امر دخیل شناخته شده‌اند. گروه اول که شامل ترومبین و هیستامین است، القا را از طریق افزایش کلسیم داخل سلولی انجام می‌دهند. این روند یک پاسخ سریع کمتر از ۵ دقیقه را در پی خواهد داشت. کالמודولین پروتئینی است که در این مسیر نقش بازی می‌کند (۶۱). گروه دوم القاکننده‌ها مانند اپی نفرین و آدنوزین‌ها هستند که حضورشان باعث افزایش cyclic AMP در سلول شده که آزاد شدن آرام‌تر محتویات اندامک‌ها را تا حدود ۱۰ دقیقه در پی خواهد داشت (۶۲).

نکته قابل توجه اینجاست که هر دو این مسیرها نهایتاً به فعال شدن Ral که یک small GTP-binding protein است منتهی می‌گردد (شکل ۳).

یکی از دیدگاه‌های مورد توجه مطرح در آگروسیتوز اندامک‌ها، بحث آزادسازی اختصاصی و به نوعی تنظیم شده آن‌ها می‌باشد. اخیراً تحقیقی نشان داد که آگروسیتوز فاکتور فون ویلبراند و پی‌سلکتین می‌تواند به طور مجزا توسط آگونیست‌های متفاوت القا شود (۶۳). علاوه بر این جدیدترین یافته‌ها در این زمینه نشان می‌دهد که تحریک سلول‌های اندوتلیال الزاماً به آزاد شدن فاکتور فون ویلبراند از اندامک‌های ویبل - پالاده منجر نمی‌شود و این امر می‌تواند با شدت تحریک، مربوط باشد.

به عبارت دیگر در موارد تحریک ضعیف، منافذ کوچکی بر روی غشای اندامک‌ها پدید می‌آید که به آزاد شدن مولکول‌های کوچک ذخیره شده در آن‌ها از طریق



شکل ۳: شمایی از مسیرهای پیام‌رسانی با واسطه ترومبین و اپی‌نفرین که منتهی به فعال شدن Ral و آگروسیتوز اندامک‌های ویبل - پالاده می‌شود. Gs/Gq: G proteins coupled receptors; AC: Adenylate cyclase; CaM: Calmoduline cAMP: Cyclic Adenosine monophosphate; PKA: Protein kinase A; IP3: Inositol,1,4,5-triphosphate; PLC: Phospholipase C (۶۵).

می‌رسد.

بحث

بیماری فون ویلبراند:

این بیماری ارثی شایع‌ترین اختلال خونریزی دهنده در انسان است که از نواقص پروتئین فون ویلبراند ناشی می‌شود. با توجه به وابستگی فاکتور ۸ انعقادی برای بقا در پلاسما به فاکتور فون ویلبراند، در این بیماری درجاتی از کاهش این فاکتور انعقادی هم دیده می‌شود. بیماری فون ویلبراند دارای شیوع جهانی برابر ۱-۰/۱ درصد می‌باشد و این میزان در موارد ارجاعی به مراکز درمانی به ۱ در ۱۰۰۰۰ مراجعه کننده می‌رسد (۶۷، ۶۶).

تظاهرات بالینی:

اختلالات انعقادی در این بیماران به صورت خونریزی‌های جلدی - مخاطی تظاهر می‌یابد. این

این منافذ منجر می‌گردد در حالی که مولکول‌های درشت مانند مولتی‌مرهای فاکتور فون ویلبراند هم‌چنان به حالت ذخیره باقی می‌مانند (۶۴). شواهد جدید این نکته را مشخص می‌کند که این اندامک‌ها تنها کیسه‌های ذخیره‌ای ساده نیستند و نقشی فعال و اختصاصی در فیزیولوژی عروقی بازی می‌کنند.

ع- اندامک ویبل - پالاده و بیماری فون ویلبراند:

مباحث بالا ارتباط مستقیم و تنگاتنگ اندامک‌های ویبل - پالاده و پروتئین فون ویلبراند را بارها مورد اشاره قرار داد و اهمیت حضور هر دو عامل را در پاسخ‌های سریع به صدمات عروقی و پاسخ‌های التهابی آشکار کرد. حال نکته باقی مانده قابل بحث این است که در غیاب این عوامل چه مشکلات و صدماتی پیش رو است. قبل از هر چیز ذکر توضیحاتی پیرامون حالات پاتولوژیک فقدان فاکتور فون ویلبراند و اندامک‌های ویبل - پالاده ضروری به نظر

پیدا/یش اندامک در بیماران نوع سه:

با تاکید بر این نکته که در نوع ۳ یا نوع وخیم بیماری فقدان فاکتور فون ویلبراند مشاهده می شود و از آن جایی که تشکیل اندامک های ویبل - پالاده، مستقیماً به حضور این پروتئین وابسته است، می توان به علل عدم پیدایش این اندامک ها در سلول های اندوتلیال در این نوع بیماری پی برد. مطالعه های حیوانی متعددی عدم حضور اندامک ها را در حیوانات مبتلا یا مدل های حیوانی ترانسژنیک، نشان داده است (۷۵، ۲۰، ۱۸). مطالعه های محدود عملکردی (Functional Study) انجام شده با استفاده از سازه های واجد جهش های نوع ۳ بیماری فون ویلبراند نیز شواهد دیگری از عدم توانایی آن ها در القای شکل گیری اندامک ها را به اثبات رسانده است (۷۶، ۲۰). می توان انتظار داشت که در نوع ۱ و ۲ هم درجاتی از نقص چه عملکردی چه ساختاری در این اندامک ها وجود دارد اما با مطالعه های کمی که در این زمینه انجام گرفته، نمی توان به یک نتیجه گیری مناسب دست یافت.

دورنمای بالینی عدم حضور اندامک در بیماران فون ویلبراند:

شناسایی نقش های متعدد پروتئین های ذخیره شده در اندامک های ویبل - پالاده روشنگر ویژگی خاص این اندامک ها بود که جایگاه آنان را از سطح یک کیسه ذخیره ای ساده به یک عضو فعال و اختصاصی در روند فیزیولوژیک سلول اندوتلیال ارتقا بخشید. البته دانسته های جدید، بیشتر از روشن کردن ابهامات پیرامون این اندامک ها، برانگیزنده سؤالات متعدد و اساسی در مورد جنبه های مختلف بیولوژیک و فیزیولوژیک آن ها بوده است. پاسخ گویی به این سؤالات نیازمند مطالعه های تکمیلی متعددی است که از زاویه های گوناگون به بررسی این اندامک ها بپردازد. شاید وجه مهمی از این تحقیقات را بتوان بر روی بیماران نوع ۳ فون ویلبراند متمرکز کرد و به دنبال پاسخ گویی به این سؤال اساسی بود که آیا فقدان اندامک های ویبل - پالاده که متعاقباً دسترسی به مخزن قابل آزاد شدن گروهی از پروتئین های مؤثر در روندهای گوناگون فیزیولوژیک را ناممکن می کند، مشکلات

اختلالات می تواند به صورت کبودی بدون سابقه ضربه باشد. خونریزی از بینی از تظاهرات با شیوع بالا در این بیماران است. خونریزی های دهانی نیز از مشکلات دیگر این بیماران است که یا متعاقب جراحی های دهانی یا به صورت خود به خودی از لثه بروز می کند. یکی از مشکل سازترین تظاهرات در زنان منوراژی است که به واسطه آن گروهی از بیماران به نقص ژنتیکی خود پی می برند (۶۸). خونریزی های طولانی شده بعد از جراحی ها و زایمان نیز از دیگر مشخصات این بیماری است (۶۹).

انواع بیماری فون ویلبراند به سه نوع دسته بندی می شود: در انواع ۱ و ۳ اختلال به صورت نقص کمی فاکتور فون ویلبراند است و در نوع ۲ نقص کیفی این فاکتور مشاهده می شود. نوع ۱ حدود ۷۰٪ موارد را شامل شده و به صورت اتوزومال غالب به ارث می رسد. در این نوع بیماری، کمبود نسبی فاکتور فون ویلبراند مشاهده می شود در حالی که باقی مانده این پروتئین عملکرد طبیعی خود را حفظ می کند (۷۱، ۷۰).

همان طور که پیش تر ذکر شد، تجویز داروی DDAVP به آزادسازی ذخایر فاکتور ویلبراند در این بیماران کمک می کند تا نقص نسبی این فاکتور موقتاً برطرف شود. در نوع ۲ که حدود ۲۵٪ موارد را شامل می شود، نقص در عملکرد فاکتور فون ویلبراند وجود دارد و پروتئین سنتز شده قادر به انجام فعالیت های طبیعی اعم از اتصال به پلاکت یا همراهی فاکتور ۸ انعقادی نیست. از دیگر نواقص کیفی فاکتور فون ویلبراند می توان به عدم حساسیت نسبت به پروتئازهای کوتاه کننده مولتی مرها اشاره کرد (۷۲). عموماً تظاهرات بالینی در این نوع از بیماری از شدت بیشتری نسبت به نوع ۱ برخوردار است (۷۳).

آخرین نوع، نوع ۳ است که فرم وخیم این بیماری است و تظاهرات شدیدی دارد. به صورت اتوزومال مغلوب به ارث رسیده و حدود ۵٪ کل موارد بیماری را شامل می شود. در این نوع از بیماری، فقدان کامل فاکتور فون ویلبراند مشاهده می شود و میزان فاکتور ۸ انعقادی هم به کمتر از ۱۰٪ حد طبیعی کاهش پیدا می کند (۷۴).

نقش مهمی ایفا خواهد کرد.

نتیجه‌گیری

از اهداف نگارش مقاله مروری حاضر ضمن گردآوری و ارایه یافته‌ها و نقطه نظرات جدید در این زمینه، جلب توجه پزشکان و کادر درمانی مسؤول بیماران فون ویلبراند می‌باشد تا با دقت نظر خاصشان در ردیابی علایم مرتبط با هر کدام از وضعیت‌های آسیب شناختی ذکر شده، عرصه تحقیق را با یافته‌هایشان روشن تر کرده و سهم کشورمان را در ارایه نقطه نظرات علمی گسترش دهند. امید است نتایج حاصله از تحقیقات در بهبود کیفیت زندگی این بیماران مؤثر واقع شده و سطح سلامت را در آنان ارتقا بخشد.

ناشناخته‌ای را برای این بیماران به همراه داشته یا خیر. اگرچه تاکنون گزارشی در این زمینه وجود نداشته و غیر از عوارض خونریزی دهنده در این بیماران، مشکلات دیگری به طور عمومی ثبت نگردیده است اما نمی‌توان قطعاً وجود هر نقص ثانویه به عدم تشکیل اندامک‌های ویبل - پالاده را رد کرد. علی‌رغم این که بیماران در طول زندگی خود فاکتور فون ویلبراند را به صورت نو ترکیب یا فرآورده پلاسمایی دریافت می‌کنند اما فقدان فرم ذخیره‌ای آن یا بقیه پروتئین‌های داخل اندامک‌های ویبل - پالاده، می‌تواند در روندهای گوناگون مانند: بقای بافت استخوانی، رگ‌زایی و پاسخ‌های التهابی به صورت مزمن مشکلاتی ایجاد نماید. دانستن این نکات قطعاً در طراحی روند درمانی بیماران

References :

- 1- Weibel ER, Palade GE. New Cytoplasmic Components in Arterial Endothelia. *J Cell Biol* 1964; 23: 101-12.
- 2- Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ. Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *J Cell Biol* 1982; 95(1): 355-60.
- 3- Sporn LA, Marder VJ, Wagner DD. Inducible secretion of large, biologically potent von Willebrand factor multimers. *Cell* 1986; 46(2): 185-90.
- 4- Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 395-424.
- 5- Wagner DD, Fay PJ, Sporn LA, Sinha S, Lawrence SO, Marder VJ. Divergent fates of von Willebrand factor and its propolypeptide von Willebrand antigen II) after secretion from endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84(7): 1955-9.
- 6- Ruggeri ZM. Structure of von Willebrand factor and its function in platelet adhesion and thrombus formation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14(2): 257-79.
- 7- van Schooten CJ, Shahbazi S, Groot E, Oortwijn BD, van den Berg HM, Denis CV, *et al.* Macrophages contribute to the cellular uptake of von Willebrand factor and factor VIII in vivo. *Blood* 2008; 112(5): 1704-12.
- 8- Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Worrall NK, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, *et al.* Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989; 264(33): 19514-27.
- 9- Cramer EM, Meyer D, le Menn R, Breton-Gorius J. Eccentric localization of von Willebrand factor in an internal structure of platelet alpha-granule resembling that of Weibel-Palade bodies. *Blood* 1985; 66(3): 710-3.
- 10- Michaux G, Cutler DF. How to roll an endothelial cigar: the biogenesis of Weibel-Palade bodies. *Traffic* 2004; 5(2): 69-78.
- 11- Wagner DD. The Weibel - Palade body: the storage granule for von Willebrand factor and P - selectin. *Thromb Haemost* 1993; 70(1): 105-10.
- 12- Ewenstein BM, Warhol MJ, Handin RI, Pober JS. Composition of the von Willebrand factor storage organelle (Weibel-Palade body) isolated from cultured human umbilical vein endothelial cells. *J Cell Biol* 1987; 104(5): 1423-33.
- 13- Reinders JH, de Groot PG, Sixma JJ, van Mourik JA. Storage and secretion of von Willebrand factor by endothelial cells. *Haemostasis* 1988; 18(4-6): 246-61.
- 14- Rondaij MG, Bierings R, Kragt A, van Mourik JA, Voorberg J, *et al.* Dynamics and plasticity of Weibel-Palade bodies in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(5): 1002-7.
- 15- Michaux G, Abbitt KB, Collinson LM, Haberichter SL, Norman KE, Cutler DF. The physiological function of von Willebrand's factor depends on its tubular storage in endothelial Weibel-Palade bodies. *Dev Cell* 2006; 10(2): 223-32.
- 16- Lemeunier A, Burri PH, Weibel ER. Absence of acid phosphatase activity in specific endothelial organelles. *Histochemie Histochemistry* 1969; 20 (2) : 143 - 9.
- 17- Sengel A, Stoeber P. Golgi origin of tubular inclusions in endothelial cells. *J Cell Biol* 1970; 44(1): 223-6.
- 18- Denis CV, André P, Saffaripour S, Wagner DD. Defect in regulated secretion of P-selectin affects leukocyte recruitment in von Willebrand factor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(7): 4072-7.
- 19- Wagner DD, Saffaripour S, Bonfanti R, Sadler JE, Cramer EM, Chapman B, *et al.* Induction of specific storage organelles by von Willebrand factor propolypeptide. *Cell* 1991; 64(2): 403-13.
- 20- Haberichter SL, Merricks EP, Fahs SA, Christopherson PA, Nichols TC, Montgomery RR. Re-establishment of vWF-dependent Weibel-Palade bodies in VWD endothelial cells. *Blood* 2005; 105(1): 145-52.
- 21- Hirst J, Robinson MS. Clathrin and adaptors. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1404(1-2): 173-93.

- 22- Lui-Roberts WW, Collinson LM, Hewlett LJ, Michaux G, Cutler DF. An AP-1/clathrin coat plays a novel and essential role in forming the Weibel-Palade bodies of endothelial cells. *J Cell Biol* 2005; 170(4): 627-36.
- 23- Knop M, Aareskjold E, Bode G, Gerke V. Rab3D and annexin A2 play a role in regulated secretion of vWF, but not tPA, from endothelial cells. *EMBO J* 2004; 23(15): 2982-92.
- 24- Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 1999; 79(1): 181-213.
- 25- Bonfanti R, Furie BC, Furie B, Wagner DD. PADGEM (GMP140) is a component of Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *Blood* 1989; 73(5): 1109-12.
- 26- McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, Marshall-Carlson L, Bainton DF. GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 1989; 84(1): 92-9.
- 27- Mayadas TN, Johnson RC, Rayburn H, Hynes RO, Wagner DD. Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P selectin-deficient mice. *Cell* 1993; 74(3): 541-54.
- 28- Subramaniam M, Frenette PS, Saffaripour S, Johnson RC, Hynes RO, Wagner DD. Defects in hemostasis in P-selectin-deficient mice. *Blood* 1996; 87(4): 1238-42.
- 29- Palabrica T, Lobb R, Furie BC, Aronovitz M, Benjamin C, Hsu YM, *et al.* Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature* 1992; 359(6398): 848-51.
- 30- Subramaniam M, Koedam JA, Wagner DD. Divergent fates of P- and E-selectins after their expression on the plasma membrane. *Mol Biol Cell* 1993; 4(8): 791-801.
- 31- Koedam JA, Cramer EM, Briend E, Furie B, Furie BC, Wagner DD. P-selectin, a granule membrane protein of platelets and endothelial cells, follows the regulated secretory pathway in AtT-20 cells. *J Cell Biol* 1992; 116(3): 617-25.
- 32- Hop C, Guilliatt A, Daly M, de Leeuw HP, Brinkman HJ, Peake IR, *et al.* Assembly of multimeric von Willebrand factor directs sorting of P-selectin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(7): 1763-8.
- 33- Michaux G, Pullen TJ, Haberichter SL, Cutler DF. P-selectin binds to the D'-D3 domains of von Willebrand factor in Weibel-Palade bodies. *Blood* 2006; 107(10): 3922-4.
- 34- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, *et al.* Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89(2): 309-19.
- 35- Tan KB, Harrop J, Reddy M, Young P, Terrett J, Emery J, *et al.* Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells. *Gene* 1997; 204(1-2): 35-46.
- 36- Yun TJ, Chaudhary PM, Shu GL, Frazer JK, Ewings MK, Schwartz SM, *et al.* OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40. *J Immunol* 1998; 161(11): 6113-21.
- 37- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, *et al.* Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(7): 3597-602.
- 38- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, *et al.* osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12(9): 1260-8.
- 39- Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM, *et al.* Osteoprotegerin is an alpha vbeta 3-induced, NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem*. 2000; 275(28): 20959-62.
- 40- Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM, *et al.* Osteoprotegerin (OPG) is localized to the Weibel-Palade bodies of human vascular endothelial cells and is physically associated with von Willebrand factor. *J Biol Chem* 2000; 275(28): 20959-62.
- 41- Shahbazi S, Lenting PJ, Fribourg C, Terraube V, Denis CV, Christophe OD. Characterization of the interaction between von Willebrand factor and osteoprotegerin. *J Thromb Haemost* 2007; 5(9): 1956-62.
- 42- Baud'huin M, Duplomb L, Téletchéa S, Charrier C, Maillason M, Fouassier M, *et al.* Factor VIII-von Willebrand factor complex inhibits osteoclastogenesis and controls cell survival. *J Biol Chem* 2009; 284(46): 31704-13.
- 43- Shim WS, Ho IA, Wong PE. Angiopoietin: a TIE(d) balance in tumor angiogenesis. *Mol Cancer Res* 2007; 5(7): 655-65.
- 44- Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, *et al.* Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997; 277(5322): 55-60.
- 45- Fiedler U, Augustin HG. Angiopoietins: a link between angiogenesis and inflammation. *Trends in immunology* 2006; 27(12): 552-8.
- 46- Stratmann A, Risau W, Plate KH. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol* 1998; 153(5): 1459-66.
- 47- Lemieux C, Maliba R, Favier J, Théorêt JF, Merhi Y, Sirois MG, *et al.* Angiopoietins can directly activate endothelial cells and neutrophils to promote proinflammatory responses. *Blood* 2005; 105(4): 1523-30.
- 48- Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, Hegen A, Grunow V, Schmidt JM, *et al.* The Tie-2 ligand angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood* 2004; 103(11): 4150-6.
- 49- Shahbazi Sh, Cherel S, Marex G, Angiopoietin-2 is targeted to weibel-Palade bodies of endothelial cells through defined domains of von Willberand factor. [Forthcoming].
- 50- Bhatia R, Matsushita K, Yamakuchi M, Morrell CN, Cao W, Lowenstein CJ. Ceramide triggers Weibel-Palade body exocytosis. *Circ Res* 2004; 95(3): 319-24.
- 51- Hamilton KK, Sims PJ. Changes in cytosolic Ca²⁺ associated with von Willebrand factor release in human endothelial cells exposed to histamine. Study of

- microcarrier cell monolayers using the fluorescent probe indo-1. *J Clin Invest* 1987; 79(2): 600-8.
- 52- Hattori R, Hamilton KK, McEver RP, Sims PJ. Complement proteins C5b-9 induce secretion of high molecular weight multimers of endothelial von Willebrand factor and translocation of granule membrane protein GMP-140 to the cell surface. *J Biol Chem* 1989; 264(15): 9053-60.
 - 53- Levine JD, Harlan JM, Harker LA, Joseph ML, Counts RB. Thrombin-mediated release of factor VIII antigen from human umbilical vein endothelial cells in culture. *Blood* 1982; 60(2): 531-4.
 - 54- Ribes JA, Francis CW, Wagner DD. Fibrin induces release of von Willebrand factor from endothelial cells. *J Clin Invest* 1987; 79(1): 117-23.
 - 55- Reidy MA, Chopek M, Chao S, McDonald T, Schwartz SM. Injury induces increase of von Willebrand factor in rat endothelial cells. *Am J Pathol* 1989; 134(4): 857-64.
 - 56- Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC, Wagner DD, Mayadas TN, *et al.* Hypoxia-induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation. *J Clin Invest* 1996; 97(2): 493-500.
 - 57- Hallahan DE, Staba-Hogan MJ, Virudachalam S, Kolchinsky A. X-ray-induced P-selectin localization to the lumen of tumor blood vessels. *Cancer Res* 1998; 58(22): 5216-20.
 - 58- de Groot PG, Gonsalves MD, Loesberg C, van Buul-Wortelboer MF, van Aken WG, van Mourik JA. Thrombin-induced release of von Willebrand factor from endothelial cells is mediated by phospholipid methylation. Prostacyclin synthesis is independent of phospholipid methylation. *J Biol Chem* 1984; 259(21): 13329-33.
 - 59- Loesberg C, Gonsalves MD, Zandbergen J, Willems C, van Aken WG, Stel HV, *et al.* The effect of calcium on the secretion of factor VIII-related antigen by cultured human endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1983; 763(2): 160-8.
 - 60- Mannucci PM. Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first 20 years. *Blood* 1997; 90(7): 2515-21.
 - 61- Birch KA, Pober JS, Zavoico GB, Means AR, Ewenstein BM. Calcium/calmodulin transduces thrombin-stimulated secretion: studies in intact and minimally permeabilized human umbilical vein endothelial cells. *J Cell Biol* 1992; 118(6): 1501-10.
 - 62- Vischer UM, Wollheim CB. Purine nucleotides induce regulated secretion of von Willebrand factor: involvement of cytosolic Ca²⁺ and cyclic adenosine monophosphate-dependent signaling in endothelial exocytosis. *Blood* 1998; 91(1): 118-27.
 - 63- Cleator JH, Zhu WQ, Vaughan DE, Hamm HE. Differential regulation of endothelial exocytosis of P-selectin and von Willebrand factor by protease-activated receptors and cAMP. *Blood* 2006; 107(7): 2736-44.
 - 64- Babich V, Meli A, Knipe L, Dempster JE, Skehel P, Weibel Palade bodies during a lingering kiss. *Blood* 2008; 111(11): 5282-90.
 - 65- Rondaij MG, Sellink E, Gijzen KA, ten Klooster JP, Hordijk PL, van Mourik JA. Small GTP-binding protein Ral is involved in cAMP-mediated release of von Willebrand factor from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(7): 1315-20.
 - 66- Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987; 69(2): 454-9.
 - 67- Werner EJ, Broxson EH, Tucker EL, Giroux DS, Shults J, Abshire TC. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr* 1993; 123(6): 893-8.
 - 68- Kouides PA. Females with von Willebrand disease: 72 years as the silent majority. *Haemophilia* 1998; 4(4): 665-76.
 - 69- Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, Bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, *et al.* Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84(2): 160-74.
 - 70- Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1994; 71(4): 520-5.
 - 71- Goodeve A, Eikenboom J, Castaman G, Rodeghiero F, Federici AB, Batlle J, *et al.* Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). *Blood* 2007; 109(1): 112-21.
 - 72- Mahdian R, Rayes J, Girma JP, Houllier A, Obert B, Meyer D, *et al.* Comparison of FRETs-vWF73 to full-length vWF as a substrate for ADAMTS13 activity measurement in human plasma samples. *Thromb Haemost* 2006; 95(6): 1049-51.
 - 73- Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, *et al.* Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost* 2006; 4(10): 2103-14.
 - 74- Shahbazi S, Mahdian R, Ala FA, Laverigne JM, Denis CV, Christophe OD, *et al.* Molecular characterization of Iranian patients with type 3 von Willebrand disease. *Haemophilia* 2009; 15(5): 1058-64.
 - 75- Royo T, Martínez-González J, Vilahur G, Badimon L. Differential intracellular trafficking of von Willebrand factor (vWF) and vWF propeptide in porcine endothelial cells lacking Weibel-Palade bodies and in human endothelial cells. *Atherosclerosis* 2003; 167(1): 55-63.
 - 76- Mohlke KL, Nichols WC, Rehemtulla A, Kaufman RJ, Fagerström HM, Ritvanen KL, *et al.* A common frameshift mutation in von Willebrand factor does not alter mRNA stability but interferes with normal propeptide processing. *Br J Haematol* 1996; 95(1): 184-91.

Review Article

Evaluation of Weibel-Palade bodies role in von Willebrand Disease

Shahbazi Sh.¹, Mahdian R.²

¹Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Pasteur Institute, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Weibel-Palade bodies (WPBs) are specific storage granules of vascular endothelial cells to which they are unique and for whose physiology they might play an important role.

Materials and Methods

We have reviewed the most recent literature published regarding the function of WPBs and their related proteins.

Results

Discrimination of WPBs from lysosomes drew scientists' attention to their biological importance. Furthermore, localization of the important proteins such as von Willebrand factor (vWF), P-selectin, and Osteoprotegerin has confirmed the critical role played by these organelles. The content of WPBs can be very quickly available in case of vascular injuries suggesting that they could act as regulators of rapid vascular responses. Since the biogenesis of these granules depends on the presence of vWF, it would be interesting to know how the absence of vWF and WPBs would affect the function of other stored proteins. This situation which is present in von Willebrand Disease needs to be evaluated.

Conclusions

This review contributes to a better knowledge of WPBs biology and function. At the same time, further investigations have yet to be done to reveal the roles these organelles can play.

Key words: Weibel-Palade Bodies, von Willebrand Factor, Endothelial Cells, von Willebrand Diseases

Sci J Iran Blood Transfus Org 2010; 7(2): 109-121

Received: 20 Dec 2009

Accepted: 24 Apr 2010

Correspondence: Shahbazi Sh., PhD of Genetics. Assistant Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.

P.O.Box: 14115-331, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82884556; Fax: (+9821) 82884555

E-mail: sh.shahbazi@modares.ac.ir