

خون

فصلنامه‌ی علمی- پژوهشی
دوره ۸ شماره ۱ بهار ۹۰ (۷۳-۶۰)

مقاله موروثی

اتصالات سلولی و مسیرهای انتقال پیام در پلاکت‌ها

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

چکیده سابقه و هدف

پلاکت‌ها کوچکترین سلول‌های خونی هستند که کلیدی‌ترین نقش را در هموستانز 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 موروثی، 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.

پافته‌ها

پلاکت‌ها در محل آسیب عروق، از طریق گیرنده‌های غشایی خود به ماتریکس خارج سلولی زیر اندوتیال متصل شده، ضمن فعال سازی 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، WF و گیرنده‌های غشاء پلاکتی از قبیل GPVI، GPIb-V-IX و ایتنگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ می‌باشند. عملکرد پلاکتی در فرآیندهایی چون هموستانز، ترومبوز و التهاب، حاصل برقراری واکنش‌های بین سلولی و فعال شدن مسیرهای سیگنالی بین سیتوپلاسمی است.

نتیجه گیری

این مطالعه با بحث و بررسی مبنای مولکولی ساختارهای آنتی‌ژنیک، اتصالات سلولی و واکنش‌های پلاکتی، سعی در درک بهتر مکانیسم انقاد 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، ایتنگرین‌ها، مسیر پیام، ماتریکس خارج سلولی، چسبندگی سلولی

تاریخ دریافت: ۱۹/۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۹/۸/۴

۱- مؤلف مسؤول: PhD ایمونوهماتولوژی - استادیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان - خیابان هزار جریب - کد پستی: ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

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

۳- PhD ژنتیک - استادیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

مقدمه

غلتیدن، از طریق GPVI با کلازن تماس برقرار می‌کنند(۳). سیگنال‌های داخل سلولی وابسته به کلازن، 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 A2 می‌شود. این آگونیست‌ها همراه با لخته تولید شده موضعی، گیرنده‌هایی که با پروتئین‌های G هتروتریمر جفت می‌شوند(Gq,G12/G13,Gi) را تحريك کرده، نهایتاً منجر به القای سایر سیگنال‌های سلولی و فعالیت کامل پلاکت‌ها می‌شوند(۴).

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 پروتومبیناز فراهم می‌کنند. انعقاد با شکافت در فیبرینوژن توسط سرین پروتئازترومبین 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 تحريك کند(۱).

در این مقاله سعی نموده‌ایم در ابتدا تعدادی گیرنده‌ای پلاکتی مانند کمپلکس GPIb-V-IX و ایتگرین‌ها را از لحاظ ساختاری و عملکردی بررسی نماییم. هم چنین نکاتی چند درباره نقش پروتئین‌هایی مثل تالین، پروتئین کیناز Akt و بر هم کنش 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 GPIb-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

پلاکت‌ها سلول‌های کوچک بدون هسته هستند که در مغز استخوان پستانداران توسط مگاکاربوسیت‌ها تولید و وارد جریان خون می‌شوند. در طول عمر ۱۰ روزه خود، پلاکت‌ها هرگز متحمل اتصالات سخت نمی‌شوند مگر زمانی که لایه سلولی اندوتیال 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 اندوتیال، 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 اندوتیال 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 می‌گردد. فعال‌سازی رسپتورهای 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 کترل نشده لخته در عروق می‌تواند منجر به انسداد عروق و کم خونی موضعی و انفارکتوس اندام‌های حیاتی مثل قلب شود(۳).

ماتریکس خارج سلولی شامل تعداد زیادی ماکرومولکول‌های چسبنده است که عبارتند از: لامینین، فیبرونکتین، کلازن‌ها و فاکتور فون ویلبراند(vWF = von Willebrand Factor). جریان زیاد خون در مرکز رگ با چسبنده‌گی و تجمع پلاکت‌ها مخالف است. در جریان خون سرخرگی، اتصال آغازین پلاکت‌ها به ماتریکس خارج سلولی با واسطه واکنش متقابل بین vWF و GPIba متصل به کلازن ایجاد می‌شود که این اتصال ممکن است در سرخرگ‌های کوچک و سیاهرگ‌ها که خون باشد کمتری جریان دارد، متفاوت باشد. اتصال vWF و GPIba 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

جدول ۱: ساختار مولکولی و عملکرد فیزیولوژیک گیرنده‌های پلاکتی

گیرنده پلاکتی	ساختار مولکولی و عملکرد فیزیولوژیک
GPLb-V-IX	این کمپلکس شامل ۴ زیر واحد α 2 β 1، α 3 β 1، α 4 β 1 و از جمله گیرنده‌های چسبنده می‌باشد. اتصال اولیه پلاکت با ماتریکس خارج سلولی توسط این گیرنده برقرار می‌شود.
α 2 β 1	اولین و مرکزی‌ترین گیرنده کلاژن شناخته شده است و در چسبیدن پلاکت به ماتریکس خارج سلولی تحت جریان خون باشد زیاد نقش مؤثر دارد.
GPVI	این گیرنده را مانداز اصلی فعالیت و تجمع پلاکت در محل آسیب عروق می‌باشد.
گیرنده‌های کلاژن	عبارتند از: پروتئین ۶۸ کیلو دالتونی، پروتئین ۴۵ کیلو دالتونی، CD36، سایر گیرنده‌های متصل شونده 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 GPVI را دارا می‌باشند.
α 1 β 1	گیرنده کلاژن که در چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها نقش محوری دارد (این گیرنده در بخش گیرنده‌های کلاژن بررسی شده است)
α 5 β 1	گیرنده فیبرونکتین
α 6 β 1	گیرنده لامینین
ایتگرین‌ها	گیرنده اصلی کلیکوپروتئینی فیبرینوزن و فراوان‌ترین ایتگرین 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 فعل شدن پلاکت متعاقب تماس با سطوح زیر اندوتیال ایجاد می‌شود) و تشکیل لخته را وساطت می‌کند.
α IIb β 3	ایتگرین‌ها
α V β 3	گیرنده ویترونکتین است که می‌تواند به فیبرونکتین و استئوپتین نیز وصل شود.

GPIba می‌باشد. این مسئله با حذف پایانه آمین در α 1 β 1 پلاکت‌های انسانی و موشی متعاقب استفاده از اندوپیتیداز ۰ - سیالوگلیکوپروتئین یا NK - پروتئاز و فعل شدن پلاکت‌ها و بروز فسفا تیدیل سرین در غشای پلاسمایی علی‌رغم مهار GPIba و نیز مشاهده عدم بروز اختلال در فعل شدن آبشار انعقادی و ساخت ترومیبن، ثابت شده است.(۸).

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

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

متحمل تغییرات ساختاری می‌شوند. فسفریلاسیون سرین ۱۶۶ زیر واحد GPIb β ، اتصال vWF را توسط کمپلکس GPIb-V-IX به طور منفی تنظیم می‌کند^(۳). در اتصال vWF و GPIb α به یکدیگر، کوفاکتورهایی از جمله ریستوستین و بوتروستین دخالت دارند. ریستوستین در حضور vWF، آگلوتیناسیون پلاکت‌ها را القا می‌کند. ابتدا بار الکتریکی سطح پلاکت‌ها به واسطه اتصال به ریستوستین کاهش یافته سپس vWF به عنوان پل بین پلاکت‌ها عمل می‌نماید. بوتروستین، میل ترکیبی ناحیه A1 از vWF را برای GPIb α ، افزایش می‌دهد^(۴، ۱۳).

به تازگی مشخص شده است که GPIb α به یک گلیکوپروتئین پلاسمایی تحت عنوان بتا ۲ گلیکوپروتئین I متصل می‌شود^(۱۵). این مولکول هدف اتوآنی‌بادی‌ها در سندرم آنتی‌فسفوکلیپید 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 GPIb α -vWF شده و در چسبندگی پلاکتی نقش مؤثری ایفا نماید^(۲۰). بتا ۲ گلیکوپروتئین I هم چنین با اتصال به ترومیین مانع عملکرد مهاری هپارین کوفاکتور II بر ترومیین شده، در شرایط *ex vivo* باعث فعال شدن پلاکت‌ها و تجمع (aggregation) پلاکتی می‌شود^(۲۱).

نقش کمپلکس GPIb در انتقال پیام پلاکتی: بر هم کنش آغازی IX-GPIB-V-IX با vWF باعث انتقال پیام در پلاکت‌ها می‌شود که منجر به ترشح گرانولوها و افزایش میل ترکیبی ایتگرین و نهایتاً فعال شدن aIIb β 3 می‌شود. این برهمکنش برای آغاز تماس‌های دیواره عروق و پلاکت، به خصوص در جریان زیاد خون مهم است^(۲۲)، (۲۲). متعاقب اتصال GPIb، مسیر انتقال پیام وابسته به تیروزین کیناز فعال می‌شود. عواملی که نقش اصلی را در این مسیر ایفا می‌کنند عبارتند از: تیروزین کینازهای غیر Src، Fyn، Lyn، (Non-receptor tyrosine kinase)، Syk، فسفولیپاز C γ 2 (PLC γ 2) و پروتئین‌های آدأپتور مثل Shc. شواهد موجود نشان می‌دهد که انتقال پیام و ارتباط

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

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

در جریان خون سرخرگی، واکنش بین GPIb α و ناحیه A1 از مولکول vWF ضروری بوده و ناحیه ۴۵ کیلو دالتونی غنی از لوسین در انتهای آمین GPIb 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 کلائز تجمع می‌یابد و جهت شکار پلاکت‌های در گردش به GPIb α واقع بر سطح پلاکت‌های بیان‌کننده GPIb-V-IX متصل می‌شود. نقش اصلی GPIb-V-IX در این اتصال ناپایدار، کاهش سرعت پلاکت‌ها در محل آسیب است تا بتواند به دیگر گیرنده‌ها و نیز سطح ترمبوزنیک، اتصال یابند. در واکنش بین vWF و GPIb α به نظر می‌رسد که هر دو گیرنده و لیگاند

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

ایتگرین $\alpha 2\beta 1$ اولین و مرکزی‌ترین گیرنده کلژن شناخته شده است. این گیرنده در چسبیدن پلاکت به ماتریکس خارج سلولی تحت جریان خون با شدت زیاد نقش مؤثر دارد. ایتگرین $\alpha 2\beta 1$ برای اتصال به کلژن به یون منیزیم وابسته است و می‌تواند به کلژن نوع I, II, III, IV, XI خصوصاً کلژن نوع I متصل شود. به تازگی مشخص شده که این اتصال بر چسبندگی پلاکتی از طریق پیوند GPIb-vWF با کلژن نوع III اثر مهاری دارد (۳۰-۲۸). ایتگرین $\alpha 2\beta 1$ در فرآیند چسبندگی نقش مهم اما قابل جایگزینی دارد چرا که ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ 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 β با ناحیه فعال وابسته به یون فلزی از زیر واحد α با ناحیه فعال می‌کند. ناحیه خارج سلولی نزدیک به غشاء در $\beta 1$ ، غنی از سیستئین و پل‌های دی‌سولفیدی و مسؤول تغییرات ساختاری ایتگرین 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 کلژن لازم است تحریک نکرده و طبق مدل "۲ مکان - ۲ مرحله" عمل می‌کند. در این مدل ایتگرین $\alpha 2\beta 1$ ، بر هم کش پلاکت با کلژن را پایدار کرده و امکان اتصال با گیرنده دوم کلژن 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 کلژن به دو طریق در فعالیت سلولی شرکت می‌کند: ۱) به صورت غیر مستقیم: از طریق تقویت بر هم کنش‌های کلژن-GPVI- 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 کلژنی پلاکتی" توضیح داده خواهد شد. از طرف دیگر احتمال دارد GPIb توسط کیناز‌های خانواده Src، Fc γ R و GPIb، گیرنده‌هایی که از نظر فیزیکی به GPIb متصلند را فسفریله و پلاکت‌ها را فعال کند. اتصال vWF به GPIb، 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، ۲۶). اخیراً نحوه برقراری میان کنش GPIb و vWF نقش آن در ایجاد و پیشرفت سکته مغزی به تفصیل در یک مقاله مروری توسط استول و همکارانش مورد بحث و بررسی قرار گرفته است (۲۶). میان کنش GPIb و vWF در پیشرفت سکته مغزی و تشکیل لخته در مغز، نقش دارد. افزایش برهمکنش‌های این دو گیرنده با افزایش خطر سکته قلبی همراه است. اتصال GPIb 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 α ، مثل فسفولیپاز D1 (PLD1)، نقش مهمی در تشکیل لخته ثابت دارد (۲۶).

گیرنده‌های کلژنی پلاکتی:

فیرهای کلژن زیر اندوتیال، سوبستراتی ترومبوژنیک هستند که مستقیماً فعالیت سلول‌ها را القا و چسبندگی، تجمع و فعالیت انعقادی آن‌ها را با مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم حمایت می‌کنند. فیرهای کلژن I و III در عروق خونی و کلژن نوع IV در غشاء پایه زیر اندوتیال، مهم‌ترین نوع ترکیبات ماتریکس خارج سلولی هستند. کلژن، از میان ماکرومولکول‌ها، قوی‌ترین محرك پلاکت‌ها است که به طور اختصاصی با GPVI و کنش نشان می‌دهد. علاوه بر GPIb و ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ که با کلژن نوع III از

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.

این طریق مانع انتقال پیام وابسته به GPVI می‌گردد(۳۴). وجود GPVI برای پایداری چسبندگی پلاکت بر سطح کلازن یا ماتریکس خارج سلولی ضروری است، اما همانند گیرنده GPIb-V-IX به تهایی 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 کلازن 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 WF^v) به پروتئین ماتریکس متصل می‌شوند(۳۶).

دیگر گیرندهای کلازنی پلاکت‌ها:

در پلاکت فاقد کمپلکس GPVI-Fc γ R - کلازن، 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 به کلازن را حفظ می‌کنند(۳۷). این مشاهده‌ها نشان دهنده وجود گروه سومی از گیرندهای کلازنی بر سطح پلاکت است که تعدادی از آن‌ها عبارتند از: پروتئین ۶۸ کیلو دالتونی، پروتئین ۶۵ کیلو دالتونی، CD36، پروتئین‌های متصل شونده به کلازن نوع III و پروتئین‌های ۷۴ کیلو دالتونی متصل شونده به کلازن نوع I(۱). این

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

گلیکو پروتئین VI (GPVI):

گیرنده کلازنی 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 کوالان با یکدیگر همراهند. GPVI بر فعالیت‌های پلاکتی از قبیل چسبندگی، دگرانولاسیون، تجمع و فعالیت انعقادی نقش مؤثر دارد. این گیرنده جزو گیرندهای گذرنده از غشاء 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).

GPVI در منطقه گذرنده از غشاء، یک آرژنین با بار مشبت دارد که باعث اتصال غیر کوالانی آن به Fc γ R می‌شود. پایانه سیتوزولی GPVI، ناحیه غنی از اسید آمینه پروولین 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 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 سیگنال‌زوم، شامل آدپتور SLP-76، LAT و پروتئین‌های افکتور فسفولیپاز C، فسفو اینوزیتید ۳ (PI-3) کیناز G پروتئین‌های کوچک تشکیل می‌دهد. PLC γ ۲، تشكیل پیامبر ثانویه ۱، ۲ - دی‌اسیل گلیسرول (DAG) و اینوزیتول ۱، ۴، ۵ - تری فسفات (IP3) را القا می‌کند. دی‌اسیل گلیسرول، پروتئین C کیناز را فعال می‌کند و IP3 آزادسازی

وصل می‌شوند. در پلاکت غیرفعال، ایتگرین‌ها 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 ایتگرین‌ین 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 $\alpha IIb\beta 3$ ، چسبندگی را افزایش داده و منجر به بر هم کنش ایتگرین - ایتگرین و تجمع پلاکت‌یی می‌شود^(۳). به محض اتصال لیگاند به $\alpha IIb\beta 3$ ، 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 سیگنانالی ارتباط برقرار می‌کنند. زیر واحد αIIb با کانال کلر و با پروتئین متصل شونده به ایتگرین 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 کنش بین دو اسید آمینه Trp110 و Arg261 واقع بر دو زنجیره αIIb و $\beta 3$ ، در فعال سازی گیرنده $\alpha IIb\beta 3$ و انتقال پیام از خارج به داخل نقش اساسی دارد^(۴). آنتی‌بادی‌ها بیماری‌های قلبی - عروقی است^(۴۲-۴۴). آنتی‌بادی‌ها مثل Abciximab، آنالوگ‌های پیتیدی از قبیل پیتید حلقوی Eptifibotide و پیتیدی مانند Tirolybin، Lamifiban اتصال لیگاند به $\alpha IIb\beta 3$ و در نتیجه فعالیت $\alpha IIb\beta 3$ را مهار می‌کنند^(۳۹).

ایتگرین‌ین: $\alpha 6\beta 1$ ، $\alpha 5\beta 1$ ، $\alpha v\beta 3$: ساختار زیر واحد α و β در این ترکیبات با کمی تفاوت، مشابه $\alpha 2\beta 1$ است. این ایتگرین‌ها به پروتئین‌های مختلف ماتریکس خارج سلولی وصل می‌شوند.

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

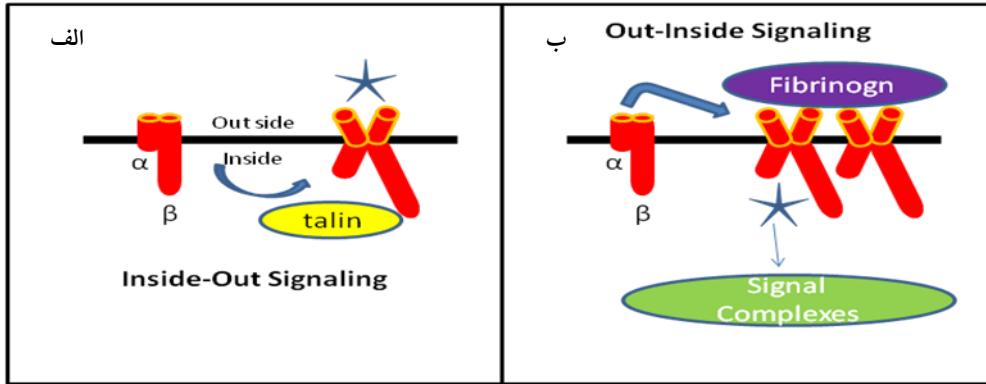
ایتگرین‌ها:

ایتگرین‌ها گیرنده‌های گذرنده از غشای هترودایمری تیپ I هستند که بر هم‌کنش‌های سلول - 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 β 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 ایتگرین $\beta 1$ مختلف به نام‌های $\alpha 2\beta 1$ (گیرنده کلاژن)، $\alpha 5\beta 1$ (گیرنده فیبرونکتین)، $\alpha 6\beta 1$ (گیرنده لامینین) و دو ایتگرین $\beta 3$ به نام‌های $\alpha IIb\beta 3$ و $\alpha V\beta 3$ را بیان می‌کنند. ایتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ در چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها، نقش محوری دارند^(۴). در بخش قبل به توضیح در مورد $\alpha 2\beta 1$ پرداخته شد.

ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ (*GPIIb/IIIa*):

گیرنده اصلی گلیکوپروتئینی فیبرینوژن و فراوان‌ترین ایتگرین پلاکت است. این گیرنده چسبندگی با تجمع و پهن شدن پلاکت‌ها (Platelet Spreading) و تشکیل لخته را وساطت می‌کند. از خصوصیات ویژه ایتگرین فوق این است که می‌تواند قبل از فعال شدن به فیبرینوژن غیر متحرک بچسبد^(۳۶). فقدان عملکرد $\alpha IIb\beta 3$ باعث بیماری گلانزمن ترومبوآستنی (Glanzmann Thrombastenia) می‌شود که نشانه آن خونریزی شدید همراه با عدم تجمع و چسبندگی ناقص پلاکت‌ها است. هترودایمر ایتگرین توسط اتصال غیر کووالان زیر واحد αIIb و $\beta 3$ تشکیل می‌شود. $\alpha IIb\beta 3$ 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 شبیه I در زیر واحد β به طور وابسته به منگنز به هم



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 وسپس 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، ۴۹).

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 رژن‌ها می‌شود(۴۷).

هم چنین ایتگرین‌ها می‌توانند با یکدیگر و با دیگر گیرندهای برهم کنش داده که این ارتباط می‌تواند منجر به مهار و یا فعال شدن ایتگرین‌ها شود. به عنوان مثال بر همکنش زیر واحدی $\alpha II\beta$ 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(۴۵).

با فعال شدن پلاکت، که ممکن است متعاقب تحریک فیزیولوژیک توسط ADP یا ترومیین 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 استئوپونتین 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، ۴۶).

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(۴۵).

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 بازآرایی آلستریک 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 آدیپتور سیتوپلاسمی متصل شونده به ایتگرین است که در متوقف کردن خونریزی، عملکرد ایتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ و چسبندگی پلاکتی نقش دارد(۴۶). تغییرات ساختاری در پایانه سیتوپلاسمی ایتگرین آغاز شده، از طریق قطعه گذرنده از غشاء، به قطعه خارج سلولی ایتگرین منتقل می‌شود. جایگاه اتصال تالین در ایتگرین‌ها 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 ایتگرین و اکتین اسکلت سلولی ارتباط برقرار می‌کند و برای عملکرد، فعال شدن و چسبندگی ایتگرین‌های $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ پلاکت و هموستاز ضروری است. از طرفی تالین سیتوپلاسمی می‌تواند به پایانه سیتوپلاسمی زیر واحدهای $\beta 1$ و $\beta 3$ ایتگرین متصل و باعث تغییر ساختار و فعال شدن ایتگرین 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 ایتگرین $\alpha 2\beta 1$ به کلائز و تشکیل لخته با واسطه $\alpha IIb\beta 3$ ضروری است(۴۹).

تأثیر تراکم لیگاندها در انتقال پیام:

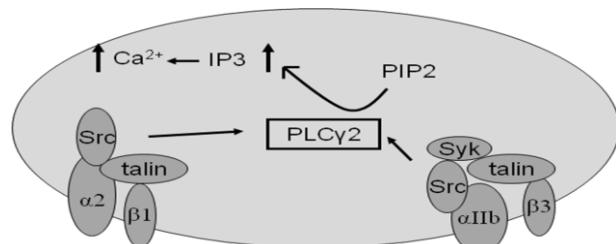
تراکم فیبرینوژن به عنوان لیگاند $\alpha IIb\beta 3$ ، بر روی انتقال پیام، چسبندگی، تجمع پلاکت‌ها و کلسیم داخل سلولی اثر می‌گذارد. چسبیدن ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ به فیبرینوژن ثابت کم تراکم، منجر به افزایش سریع کلسیم سیتوپلاسمی، مهار تشکیل Lamellipodia و Filopodia و سیتوپلاسمی، به کارگرفتن لایه‌های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

در مقابل چسبیدن ایتگرین $\alpha IIb\beta 3$ 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 نهايتاً تحريک فعالیت تیروزین کیناز، افزایش کلسیم سیتوپلاسمی و بازآرایی اسکلت سلولی می‌شود. افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی، نشانه مسیر انتقال پیام از خارج به داخل سلول است. تمامی این فرآيندها در نهايتمانجر به فعال شدن $\alpha 2\beta 1$ می‌شود(شکل ۲)(۵).



شکل ۲: ارتباط عملکردی $\alpha 2\beta 1$ و $\alpha IIb\beta 3$ 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 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 کلائز 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 پروستاسیکلین (PGI2) عملکرد پلاکت را مهار می‌کند. PECAM-1 (Platelet endothelial cell adhesion molecule) گیرنده چسبندۀ سلولی است که در انواع زیادی از سلول‌های خونی و سلول‌های اندوتیال بیان می‌شود. این گیرنده در تنظیم یک سری فرآیندهای سلولی از جمله مهاجرت ترانس اندوتیال لکوسیت‌ها، تنظیم فعالیت سلولی، آپوپتوزیس، متاستاز و واکنش‌های التهابی مؤثر است. PECAM-1 فعالیت پلاکت را شده توسط کلژن و لامینین را مهار و تعدیل می‌کند. عملکرد PECAM با اتصال لیگاندۀ هموفیلیک و هم چنین ایتگرین $\alpha V\beta 3$ و CD38 وساطت می‌شود. دائمر شدن این گیرنده، چسبندگی پروتئین‌ها و الیگومریزه شدن آن باعث ایجاد سیگنال سلولی می‌شود. وقتی تحریک از طریق اتصال لیگاندۀ هموفیلیک یا توده‌ای شدن انجام می‌شود، تیروزین پایانه سیتوپلاسمی PECAM-1 به دنبال چسبیدن به لامینین پلاکت توسط خانوارde Src کیناز، فسفریله می‌شود و فسفریلاسیون ITAM زنجیره GPVI/Fc γ R تیروزین که توسط لامینین القا شده و فعل شدن افکتورهای زیرین آن در مسیر انتقال پیام یعنی Syk کیناز را مهار می‌کند(۲).

PECAM-1 پاسخ پلاکتی وابسته به GPIb می‌کند و پاسخ پلاکتی با واسطه Fc γ RIIA را کاهش می‌دهد. لیگاند اصلی PECAM-1، خود مولکول است. بر هم کش بین PECAM-1 موجود بر پلاکت‌ها و سلول‌های اندوتیال، رشد لخته را در یک جریان فیزیکی مهار می‌کند. تعادل بین انتقال پیام با واسطه گیرنده‌های چسبندۀ 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(۳).

بعضی

یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال پیام که در فعالیت پلاکتی مؤثر و تعیین کننده می‌باشد، مسیر انتقال پیام دو جهت ایتگرین‌ها 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 تک لایه و در نهایت باعث مهار انتقال پیام می‌شود(۴).

مولکول‌های فیرینوژن در تراکم زیاد، غیر متحرک و عمود برسط هستند و دسترسی بیشتری به مکان‌های اتصالی $\alpha IIb\beta 3$ دارند، در حالی که در تراکم کم این مولکول‌ها افقی‌اند و احتمال دست‌یابی به انتهای کربوکسیل ایتگرین کاهش یافته و تغییرات ساختاری، از طریق تماس‌های چند گانه بین فیرینوژن و سطح، القا می‌شود. جذب فیرینوژن به سطح در تراکم کم، منجر به توده‌ای شدن لیگاندۀ و متعاقباً توده‌ای شدن گیرنده‌های ایتگرین می‌شود. لذا بر هم کنش میان گیرنده‌های $\alpha IIb\beta 3$ ، تشدید شده و این مساله منجر به چسبندگی پلاکتی، آغاز انتقال سیگنال و فعل شدن و تجمع پلاکتی می‌شود(۵).

نقش پروتئین کیناز Akt در انتقال پیام:

Kinazهایی هستند که در انتقال پیام از داخل سلول به خارج آن، با واسطه GPIb-IX-V نقش دارند. این پروتئین کینازها با فعل کردن مسیر انتقال پیام دارند. این پروتئین کینازها با فعل کردن مسیر انتقال پیام CGMP (Cyclic guanosin mono phosphate) و به صورت غیر وابسته به مسیرهای تقویت کننده و افکتورهایی (effector) مثل ADP و ترومبوکسان A2 منجر به چسبندگی پایدار و تجمع پلاکت‌ها می‌شود(۶).

Akt هم چنین در انتقال پیام وابسته به vWF، از طریق فعل کردن مسیر انتقال پیام پروتئین کینازهای وابسته به G پروتئین (PKG)، cGMP، نیتریک اکسید (NO) نقش دارد. Akt، vWF را فسفریله و فعل 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 eNOS را تحریک می‌کند. Akt، افزایش cGMP القا شده توسط اتصال vWF به GPIb-IX پلاکت‌ها است(۷).

مهار انتقال پیام پلاکتی:

فعالیت پلاکت‌ها باید برای ایجاد یک پاسخ مؤثر اما نه

تشکیل لخته در محل آسیب عروق بازی می‌کند. پلاکت‌ها برای چسبیدن به ماتریکس خارج سلولی در محل آسیب از گیرنده‌های سطحی خود از قبیل GPVI، GPIb-V-IX و اینتگرین‌ها استفاده می‌کند. لیگاند این گیرنده‌ها ترکیباتی مانند کلازن، 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 ارایه 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 پروستاسیکلین 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 شرايين 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 گردد(۵۲). شناخت ساختارهای آنتی‌ژنیک پلاکتی از این جهت می‌تواند گامی مثبت در جهت رفع اختلالات ایمونوژنیک 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 $\alpha IIb\beta 3$ is a sufficient but also an imperative prerequisite for activation of $\alpha 2\beta 1$ on platelets. *Blood* 2007; 109: 595-602.
- Mo X, Luo SZ, Lo'pez JA, Li R. Juxtamembrane basic residues in glycoprotein Ib β 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, Chicane 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 GPIbalpha 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 GPIbalpha chain of the platelet von Willebrand factor receptor, GPIb/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 GPIbalpha 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- $\beta 2$ -glycoprotein I antibodies in complex with $\beta 2$ -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 $\beta 2$ -glycoprotein-I-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, Kleinschmitz C, Nieswandt B. The role of glycoprotein Ibalpha 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, Huizinga 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. (α 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. GPIbalpha-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, Coller BS. Ligand density dramatically affects integrin $\alpha IIb\beta 3$ -mediated platelet signaling and spreading. *Blood* 2007; 109(12): 5260-69.
- 40- Hantgan RR, Stahle MC, Lord ST. Dynamic Regulation of Fibrinogen:Integrin $\alpha IIb\beta 3$ Binding. *Biochemistry* 2010; 49(43): 9217-25.
- 41- Hauschner H, Landau M, Seligsohn U, Rosenberg N. A unique interaction between alphaIIb and beta3 in the head region is essential for outside-in signaling-related functions of alphaIIbbeta 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, Stefanidis 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 Unclaspings of Cytoplasmic Tails of Integrin $\alpha IIb\beta 3$. *Biochemistry* 2009; 48(3): 617-29.
- 47- Zou Z, Chen H, Schmaier A, Hynes RO, Kahn ML. Structure-function analysis reveals discrete $\beta 3$ 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 α IIb β 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, Vilaira G, Litvinov R, Nagasami C, *et al.* Activation of integrin α IIb β 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 IIb 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