

Νεότερα δεδομένα για τον ρόλο των μικροσωματιδίων των αιμοπεταλίων στην αθηροθρόμβωση

New insights on the role of platelet microparticles in atherothrombosis

A.A. Δημητρίου, Κ.Χ. Τέλλης, Α.Δ. Τσελέπης

*Κέντρο Αθηροθρόμβωσης, Εργαστήριο Βιοχημείας,
Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα*

A.A. Dimitriou, C.C. Tellis, A.D. Tselepis

*Atherothrombosis Research Centre, Laboratory of Biochemistry,
Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina,
Greece*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Μελέτες τα τελευταία χρόνια δείχνουν ότι τα αιμοπετάλια, εκτός από τη θρόμβωση, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στην αθηρογένεση. Τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν πολλούς βιοδραστικούς παράγοντες των οποίων ο ρόλος στην αθηρογένεση παραμένει υπό διερεύνηση. Αρκετοί από αυτούς τους παράγοντες εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια ενσωματωμένοι σε μεμβρανικά κυστίδια γνωστά ως μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων (PMPs). Τα PMPs παράγονται κατόπιν ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και παρά το μικρό τους μέγεθος έχουν πλούσια πρωτεϊνική και λιπιδιακή σύσταση, χαρακτηριστική των κυττάρων προέλευσής τους. Τα PMPs συμμετέχουν σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως η πήξη του αίματος, η λειτουργία του ενδοθηλίου και η φλεγμονή, προάγοντας την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Στην παρούσα ανασκόπηση γίνεται μια σύντομη περιγραφή του μηχανισμού παραγωγής των PMPs κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, καθώς και των δομικών χαρακτηριστικών τους. Επίσης αναφέρεται η αλληλεπίδρασή τους με άλλα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος, καθώς και ο ρόλος τους στη θρόμβωση, τη φλεγμονή και την αθηρογένεση. Η καλύτερη γνώση των βιοχημικών

ABSTRACT: Recent studies have shown that platelets, in addition to their central role in hemostasis and thrombosis, play an important role in atherogenesis. These cells secrete many bioactive agents whose role in atherogenesis remains under investigation. Several of these factors are secreted by platelets embedded in membrane vesicles known as platelet microparticles (PMPs). The PMPs are produced by activation of platelets and despite their small size have a high content of protein and lipids. The PMPs are involved in several pathophysiological conditions such as blood clotting, endothelial function, and inflammation, promoting the development of atherosclerosis. In this review, we introduce a brief description of PMPs mechanism of the production, and the structural characteristics. Furthermore, in this article we describe the interaction of PMPs with other cells of the arterial wall and their role in thrombosis, inflammation and atherogenesis. The knowledge of the biochemical characteristics of PMPs and the understanding of the mechanisms of their actions can lead to further consideration of the antiplatelet drugs' effect in atherothrombosis, and the development of new

Αλέξανδρος Δ. Τσελέπης, MD, PhD
Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45 110 Ιωάννινα
Τηλ: 2651-098 365, Fax: 2651-098 785, e-mail: atselep@uoi.gr

Alexandros D. Tselepis, MD, PhD
Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry,
University of Ioannina, GR-45 110 Ioannina, Greece
Tel: (+30) 2651-098 365, Fax: (+30) 2651-098 785,
e-mail: atselep@uoi.gr

μικρών χαρακτηριστικών των PMPs καθώς και των μηχανισμών δράσης τους θα οδηγήσει στην περαιτέρω κατανόηση της επίδρασης των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων στην αθηροθρόμβωση, καθώς και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών παρεμβάσεων με στόχο όχι μόνο την επιβράδυνση της ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας ή την υποστρόφι της αλλά και την παρεμπόδιση της δημιουργίας της.

Λέξεις ευρητηρίου: Αιμοπετάλια, αθηρογένεση, μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων, θρόμβωση, φλεγμονή, PMPs.

1. Εισαγωγή

Η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες στις αναπτυγμένες χώρες.^{1,2} Η πλειονότητα των νοσημάτων του καρδιαγγειακού συστήματος οφείλεται στην αθηροσκλήρωση. Παρά τις μακροχρόνιες μελέτες, πολλοί από τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγούν στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης παραμένουν αδιευκρίνιστοι.³ Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αρκετό ερευνητικό ενδιαφέρον για τους μηχανισμούς με τους οποίους τα κύτταρα που συμμετέχουν στην αθηροσκλήρωση αλληλεπιδρούν μεταξύ τους ανταλλάσσοντας μηνύματα, καθώς επίσης και για τους διαμεσολαβητές που παίζουν κύριους ρόλους σε αυτές τις αλληλεπιδράσεις.

Τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης, από τον σχηματισμό των λιπωδών γραμμώσεων και την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας μέχρι και το τελικό στάδιο της ρήξης της πλάκας και του σχηματισμού θρόμβου.⁴⁻⁶ Κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησής τους, τα αιμοπετάλια εκκρίνουν διάφορους βιοδραστικούς παράγοντες οι οποίοι συμμετέχουν στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς δημιουργίας και ρήξης της αθηρωματικής πλάκας. Πολλοί από τους βιοδραστικούς παράγοντες των αιμοπεταλίων βρίσκονται συγκεντρωμένοι στα μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων (PMPs, platelet-derived microparticles).

Τα PMPs είναι ένας ετερογενής πληθυσμός κυστιδίων που παράγονται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και αποτελούν το 70–90% των μικροσωματιδίων που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος.^{7,8} Βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος υγιών ανθρώπων και τα επίπεδά τους αυξάνονται σε πολλές ασθένειες, ιδιαίτερα σε αυτές με υψηλό κίνδυνο θρόμ-

therapeutic interventions, aiming not only to reduce plaque but also to prevent atherosclerosis.

Key words: Platelets, atherogenesis, platelet microparticles, inflammation, thrombosis, PMPs.

βωσης. Στην επιφάνεια των PMPs βρίσκονται φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες που προέρχονται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και που τους προσδίδουν έναν πιθανό ρόλο σε πολλές παθοφυσιολογικές διαδικασίες όπως στη θρόμβωση, τη φλεγμονή, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την αγγειογένεση.¹ Ο μηχανισμός δράσης τους είναι πολύπλευρος, αφού είναι δυνατόν να μεταφέρουν τα βιοδραστικά συστατικά τους σε πολλά κύτταρα ή σε μικροσωματίδια άλλων κυττάρων, ρυθμίζοντας την ενδοθηλιακή λειτουργία και διεγείροντας τα κύτταρα προς παραγωγή κυτταροκινών, προσκολλητικών μορίων, αυξητικών παραγόντων και του ιστικού παράγοντα (TF).⁷ Συνεπώς, τα PMPs συμμετέχουν με πολλούς τρόπους σε όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης.

Στην παρούσα ανασκόπηση θα γίνει μια σύντομη περιγραφή του μηχανισμού παραγωγής των PMPs κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, καθώς και των δομικών χαρακτηριστικών τους. Επίσης θα συζητηθεί η αλληλεπίδρασή τους με άλλα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος καθώς και ο ρόλος τους στη θρόμβωση, τη φλεγμονή και την αθηρογένεση.

1.1. Ο μηχανισμός παραγωγής των PMPs και τα χαρακτηριστικά τους

Τα PMPs περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Wolf το 1967, ο οποίος τα χαρακτήρισε ως «κυτταρική σκόνη».^{9,10} Πρόκειται για έναν ετερογενή πληθυσμό κυστιδίων που ποικίλλουν ως προς το μέγεθος (0,1–1 μm) και την πρωτεϊνική και λιπιδιακή τους σύσταση και έχουν αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, κυρίως τη φωσφατιδυλοσερίνη (PS) στην επιφάνειά τους. Παράγονται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με διάφορους αγωνιστές όπως το κολλαγόνο, η θρομβίνη, το Ca²⁺-ιονοφόρο (A23187) κ.λπ.¹¹ Στην επιφάνεια των PMPs βρίσκονται μόρια που προέρχονται από τα

ενεργοποιημένα αιμοπετάλια όπως για παράδειγμα ο υποδοχέας-ιντεγκρίνη $\alpha_{IIb}\beta_3$,¹² η P-σελεκτίνη,¹³ το CD36,¹⁴ το CD40L^{15,16} το CD31,9¹⁷ κλπ. Επίσης τα PMPs περιέχουν βιοδραστικά λιπίδια όπως το αραχιδονικό οξύ (AA), η φωσφορική σφιγγοσίνη-1 (SPP-1) και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF).¹⁸⁻²⁰

Βασικό ρόλο στην απελευθέρωση των PMPs από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια διαδραματίζει η διεργασία μεμβρανικού ανασχηματισμού που οδηγεί στην αναδιοργάνωση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Σε αυτόν τον μηχανισμό συμμετέχουν πέντε ένζυμα: η γελσολίνη (που βρίσκεται μόνο στα αιμοπετάλια), η αμινοφωσφολιπιδική μετατοπάση, η φλοπάση, η αναδιοργάνωση και η καλπαΐνη. Αυτά τα ένζυμα βοηθούν στη διατήρηση μιας δυναμικής ασύμμετρης σταθερής κατάστασης και επιτρέπουν στα φωσφολιπίδια να μετακινηθούν στην έξω πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ την ίδια στιγμή τα αμινοφωσφολιπίδια κατευθύνονται στην έσω πλευρά της μεμβράνης. Όταν η συγκέντρωση του ασβεστίου στο κυτταρόσολιο αυξηθεί, όπως για παράδειγμα κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η σταθερή αυτή κατάσταση αλλάζει οδηγώντας στην αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά της PS στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης.^{9,21-23} Ο ακριβής μηχανισμός παραγωγής των PMPs είναι πολύπλοκος και δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως,⁷ φαίνεται όμως ότι (α) η υψηλή συγκέντρωση του ενδοκυττάρου Ca^{2+} που ενεργοποιεί την καλπαΐνη,^{7, 24} (β) η ενεργοποίηση των πρωτεασών, όπως της κασπάσης 3,²⁵ (γ) η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών²⁶ και (δ) ο υποδοχέας $\alpha_{IIb}\beta_3$ ^{27,28} διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των PMPs.

1.2. Οι μηχανισμοί δράσης των PMPs

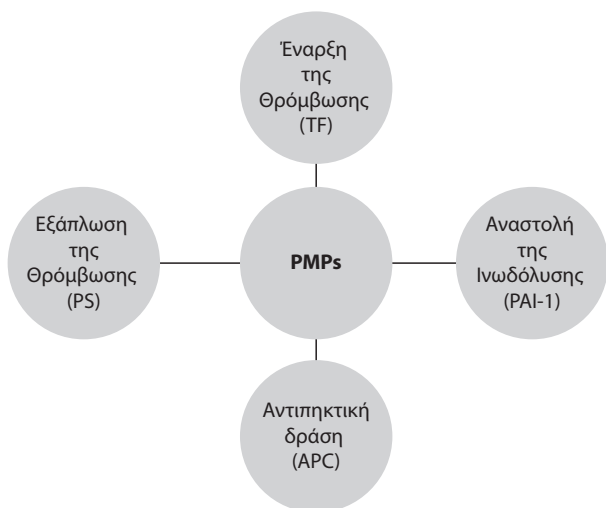
Τα PMPs ασκούν τις βιολογικές δράσεις τους με πολύπλοκους μηχανισμούς, πολλοί από τους οποίους δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Μέχρι σήμερα δεν είναι γνωστό εάν δρουν κατά έναν παρακρινικό τρόπο ή αν είναι απαραίτητη η επαφή τους με τα κύτταρα. Πολλές μελέτες έχουν προτείνει μηχανισμούς σύμφωνα με τους οποίους τα PMPs μεταφέρουν πρωτεΐνες, όπως για παράδειγμα τη χημειοκίνη RANTES²⁹ και άλλους βιοδραστικούς παράγοντες των αιμοπεταλίων στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων.³⁰ Άλλες μελέτες προτείνουν μηχανισμούς παρόμοιους με αυτούς της ενδοκύτωσης στους οποίους συμμετέχουν υποδοχείς εκκαθαριστές ή υποδοχείς της PS.³¹ Ένας άλλος μηχανισμός δράσης των PMPs είναι η σύντηξη της φωσφολιπιδικής τους επιφάνειας με τη μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Τέλος, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι τα

PMPs περιέχουν RNA τα οποία μπορούν να μεταφέρουν σε κύτταρα όπως π.χ. στα ενδοθηλιακά κύτταρα.³²

1.3. Ο ρόλος των PMPs στην πήξη

Οι προθρομβωτικές ιδιότητες των PMPs οφείλονται κυρίως στην παρουσία της PS στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης τους καθώς και στην παρουσία του ιστικού παράγοντα (TF) (εικόνα 1).³³ Στα ήρεμα αιμοπετάλια ο TF βρίσκεται στα α -κοκκία και στο ανοιχτό διαυλικό σύστημα, ενώ κατά την ενεργοποίησή τους εκφράζεται στην κυτταρική τους μεμβράνη και συνεπώς ενσωματώνεται και μεταφέρεται με τα PMPs. Περισσότερο από τα 2/3 της δραστηριότητας του TF του πλάσματος ανιχνεύεται στα PMPs.³⁴ Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο TF που εκφράζεται στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων και στα PMPs είναι ανενεργός, και συνεπώς δεν διεγείρει τον μηχανισμό πήξης του αίματος, παρόλο που συνυπάρχει με τον παράγοντα πήξης VIIa.³⁵ Η ενεργοποίηση του TF προκαλείται διαμέσου αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αιμοπεταλίων, των μονοκυττάρων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των PMPs. Σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις αυτές διαδραματίζουν η P-σελεκτίνη και ο γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας της (PSGL-1) καθώς και δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).^{34,35} Συγκεκριμένα τα PMPs στρατολογούν κύτταρα στην περιοχή που αναπτύσσεται ο θρόμβος, δημιουργώντας συσσωρεύματα κυρίως διαμέσου της αλληλεπίδρασης της P-σελεκτίνης των PMPs και του PSGL-1 των λευκοκυττάρων, αυξάνοντας σε τέτοιο επίπεδο την ενεργότητα του TF ώστε να μπορεί να ενεργοποιήσει τη διαδικασία της πήξης. Τα PMPs συσσωρεύονται με τα αιμοπετάλια διαμέσου κυρίως της αλληλεπίδρασης του ινωδογόνου με τον υποδοχέα-ιντεγκρίνη $\alpha_{IIb}\beta_3$ και παράλληλα αλληλεπιδρούν με τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα μεταφέροντας τον TF,^{36,37} ενώ τα ROS που εκκρίνονται από τα ουδετερόφιλα ενισχύουν την ενεργότητα του TF.^{34,38} Σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό αυτόν φαίνεται ότι διαδραματίζουν και διάφορες κυτταροκίνες και χημειοκίνες των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων που βρίσκονται και στα PMPs, όπως είναι η διαλυτή P-σελεκτίνη (sP-σελεκτίνη),³⁹⁻⁴¹ το διαλυτό CD40L (sCD40L)⁴²⁻⁴⁴ και ο RANTES²⁹ που δρουν ως συμπάροντες στη διαδικασία της πήξης αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα της φωσφατιδυλοσερίνης και προάγοντας τη δραστηριότητα του TF.

Τα PMPs διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην αύξηση και επέκταση του θρόμβου. Η ύπαρξη των αρνητικών φωσφολιπιδίων PS και PE στην επιφάνεια των PMPs διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της θρομβογόνου δράσης τους (εικόνα 1). Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η δυσλειτουργία μιας μετατοπάσης, η οποία είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά των



Εικόνα 1. Ο ρόλος των PMPs στους μηχανισμούς της πήξης. Συνομογραφίες: PMPs: μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων, TF: ιστικός παράγοντας, PS: φωσφατιδυλοσερίνη, PAI-1: αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, APC: ενεργοποιητική πρωτεΐνη C.

αρνητικών φωσφολιπιδίων PS και PE στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων κατά την ενεργοποίησή τους και συνεπώς στα PMPs κατά την παραγωγή τους, οδηγεί σε αιμορραγική διαταραχή, η οποία είναι γνωστή ως σύνδρομο του Scott.⁴⁵ Η νόσος αυτή χαρακτηρίζεται από την έλλειψη PMPs στο αίμα. Η ύπαρξη της PS στην επιφάνεια των PMPs δημιουργεί το κατάλληλο περιβάλλον για την πρόσδεση διάφορων παραγόντων πήξης η οποία γίνεται παρουσία Ca^{2+} οδηγώντας στον σχηματισμό συμπλόκων θρομβοπλαστίνης και τενάσης. Τα PMPs εκφράζουν περισσότερες περιοχές δέσμησης με τους παράγοντες Va, VIIIa και IXa σε σχέση με την ενεργοποιημένη επιφάνεια των αιμοπεταλίων.^{7,46} Κατά συνέπεια, η θρομβωτική δράση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων ή/και των PMPs οδηγεί στην παραγωγή της θρομβίνης και στον σχηματισμό ινώδους, σταθεροποιώντας με αυτό τον τρόπο τον αιμοπεταλιακό θρόμβο.

Η υπόθεση ότι τα PMPs παίζουν σημαντικό θρομβογόνο ρόλο ενισχύεται και από παρουσιάσεις περιστατικών,⁴⁷ στα οποία οι ασθενείς εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα PMPs καθώς και μειωμένη θρομβογόνο δράση χωρίς όμως να παρατηρείται μεταβολή στην ενεργότητα της θρομβοπλαστίνης.

Ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα PMPs μπορεί να εμφανίζουν και αντιπηκτική δράση, αφού τα αμινοφωσφολιπίδια της επιφάνειάς τους μπορεί να συνδέουν την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC) και συνεπώς να αναστέλλουν τον παράγοντα Va *in vitro*. Είναι πιθανό αυτή η αντιπηκτική δραστηριότητα των PMPs να λειτουργεί ως ένας αρνητικός αναδραστικός μηχανισμός

ο οποίος αποτρέπει τη μη ελεγχόμενη θρομβογένεση. Φαίνεται ότι αυτή η αντιπηκτική δράση των PMPs συμβάλλει κατά 25% στην αντιπηκτική δραστηριότητα που εμφανίζεται ως αντίδραση στην ανάπτυξη και επέκταση του θρόμβου στο αγγειακό τοίχωμα⁴⁸ (εικόνα 1).

1.4. Ο ρόλος των PMPs στην ινωδόλυση

Εκτός από τον ρόλο τους στην ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, τα PMPs πιθανώς να παρεμποδίζουν την ινωδόλυση,⁴⁹ διότι είναι μεταφορείς του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1).⁵⁰ Είναι γνωστό ότι ο PAI-1 βρίσκεται στα α-κοκκία των μη ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων.⁵¹ Ένα ποσοστό του PAI-1 βρίσκεται συνδεδεμένο με τη βιτρονεκτίνη, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του PAI-1 σε ενεργοποιημένη κατάσταση.⁵² Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων οδηγεί στην αποκοκκίωση των α-κοκκίων και την έκκριση του περιεχομένου τους, ενώ επιπρόσθετα εκφράζεται η βιμεντίνη η οποία αποτελεί συστατικό του κυτταροσκελετού. Κατά την εξέλιξη αυτής της διεργασίας γίνεται δέσμευση του PAI-1 με τη βιμεντίνη διαμέσου της βιτρονεκτίνης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, την παρουσία του PAI-1 στα PMPs, συνεπώς τα PMPs παρεμποδίζουν την ινωδόλυση ενισχύοντας έτσι την προθρομβωτική δράση τους.

1.5. Ο ρόλος των PMPs στη φλεγμονή και την αθηρογένεση

Εκτός από τον ρόλο τους στη θρόμβωση και την αιμόσταση, τα PMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στη φλεγμονή. Η προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο και η επακόλουθη μετανάστευσή τους στον υπενδοθηλιακό χώρο είναι ένα από τα πρώτα στάδια ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης.⁵³

Τα PMPs προσκολλώνται στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και στον υπενδοθηλιακό χώρο, διαμέσου του γλυκοπρωτεϊνικού τους υποδοχέα-ιντεγκρίνη αIIbβ3 (εικόνα 2).^{54,55} Αυτή η προσκόλληση των PMPs στο αρτηριακό τοίχωμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση αφού έχει ως αποτέλεσμα την προσέλκυση και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στην περιοχή της ενδοθηλιακής βλάβης, διαμέσου ενός μηχανισμού ο οποίος επάγεται από την πρόσδεση του ινωδογόνου στον υποδοχέα αIIbβ3.⁵² Επιπρόσθετα, τα PMPs συμβάλλουν σημαντικά στην προσέλκυση και προσκόλληση των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα⁵⁶ μεταφέροντας και εναποθέτοντας στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων τη χημειοκίνη RANTES.²⁹ Επιπρόσθετα, τα PMPs αυξάνουν την έκφραση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλη-

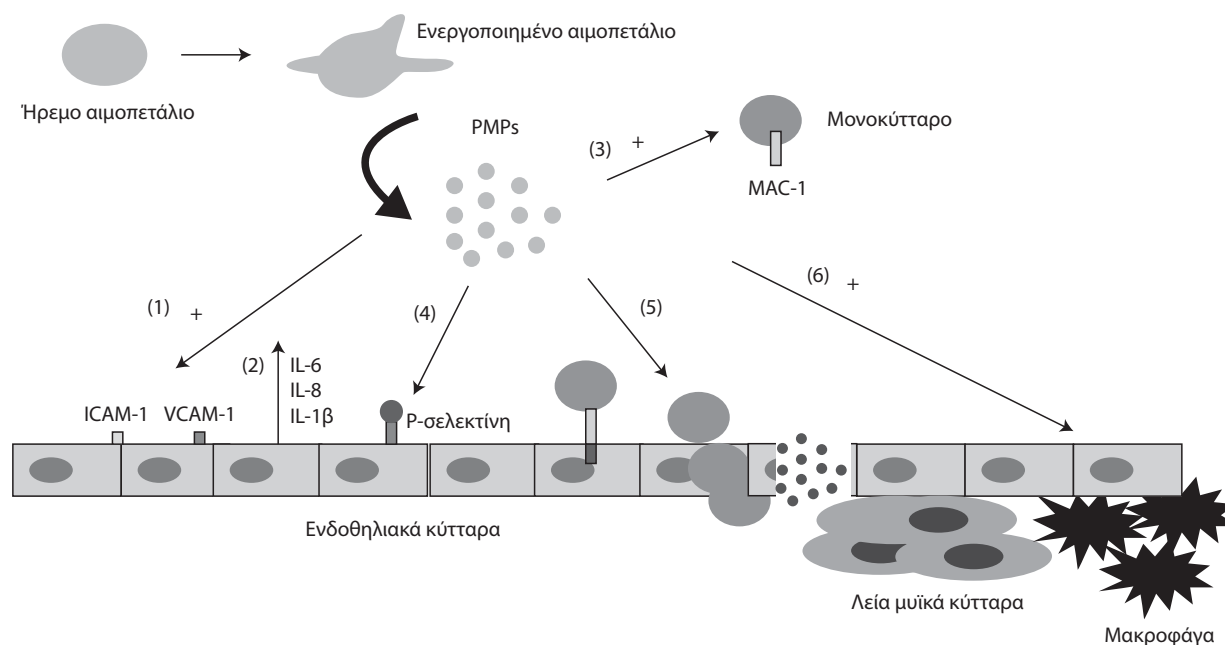
σης-1 (ICAM-1) και του προσκολλητικού μορίου του αγγειακού τοιχώματος-1 (VCAM-1), με αποτέλεσμα την αυξημένη προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο. Παράλληλα, τα PMPs επάγουν την παραγωγή και έκκριση από τα κύτταρα αυτά διαφόρων φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η ιντερλευκίνη-1 (IL-1), IL-6 και IL-8⁵⁶⁻⁵⁸ (εικόνα 2). Ορισμένες από τις δράσεις αυτές των PMPs οφείλονται στο αραχιδονικό οξύ (AA) και πραγματοποιούνται διαμέσου μιας πρωτεϊνοκινάσης C (PKC).⁵⁶ Σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση και προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα διαδραματίζει επίσης η Ρ-σελεκτίνη.^{6,60} Τα PMPs που έχουν προσκολληθεί στο ενδοθήλιο εκφράζουν την Ρ-σελεκτίνη οδηγώντας στη δημιουργία γεφυρών μεταξύ των PMPs και των λευκοκυττάρων διαμέσου του υποδοχέα της Ρ-σελεκτίνης, PSGL-1.⁶¹ Επίσης, διαμέσου της Ρ-σελεκτίνης τα PMPs αλληλεπιδρούν με τα ουδετερόφιλα, οδηγώντας στην ενεργοποίησή τους και στην αύξηση της έκφρασης του CD11b⁶¹ (εικόνα 2).

Τα PMPs επάγουν επίσης τη μετανάστευση και διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα (εικόνα 2).⁵⁹ Τέλος τα PMPs μεταφέρουν τη λι-

ποπρωτεϊνική φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) στο πλάσμα παράλληλα με τις λιποπρωτεΐνες,⁶² εκφράζουν στην επιφάνειά τους το CD40L¹⁶ και παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) μέσω της NADPH οξειδάσης.⁶³ Η συμβολή αυτών των βιοδραστικών παραγόντων στις αθηρογόνες δράσεις των PMPs βρίσκεται υπό διερεύνηση.

1.6. Ο ρόλος των PMPs στην αγγειογένεση

Τα PMPs πιθανώς προάγουν την αγγειογένεση.^{18,64} Είναι γνωστό ότι στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων βρίσκονται διάφορα βιοδραστικά λιπίδια όπως η φωσφορική σφινγωσίνη-1 (sphingosine-1-phosphate, SPP).¹⁸ Η SPP είναι προσδέτης για το συζευγμένο με Gi-πρωτεΐνη γονίδιο διαφοροποίησης-1 των ενδοθηλιακών κυττάρων (Endothelial Differentiation Gene-1, EDG-1), γνωστό επίσης και ως SPP1. Η επαφή του SPP με τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαμέσου του SPP1, οδηγεί στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευσή τους και τελικά στον σχηματισμό ενός αυλού από ενδοθηλιακά κύτταρα. Επιπρόσθετα, το EDG-1 οδηγεί στην ωρίμανση του νέου αυτού αγγειακού τοιχώματος, η οποία επιτυγχάνεται διαμέσου της αλληλεπίδρασης των



Εικόνα 2. Η αλληλεπίδραση των PMPs με άλλα κύτταρα και ο ρόλος της στη φλεγμονή του αρτηριακού τοιχώματος. Τα PMPs παράγονται κατόπιν ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και συμμετέχουν στις παρακάτω φλεγμονώδεις αντιδράσεις στο αρτηριακό τοίχωμα: (1) αυξάνουν την έκφραση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 (ICAM-1) και του προσκολλητικού μορίου του αγγειακού τοιχώματος-1 (VCAM-1) των ενδοθηλιακών κυττάρων, (2) επάγουν την απελευθέρωση των κυτταροκινών ιντερλευκίνη-8 (IL-8), ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ιντερλευκίνη-1β (IL-1β), (3) αυξάνουν την έκφραση του MAC-1 των μονοκυττάρων, που είναι ο προσδέτης του ICAM-1 των ενδοθηλιακών κυττάρων, (4) κάτω από υψηλές διατμητικές δυνάμεις, τα PMPs αρχικά κυλούν και μετά προσκολλώνται σταθερά πάνω στο φλεγμονώδες ενδοθήλιο όπου μεταφέρουν και εναποθέτουν τη χημειοκίνη RANTES, (5) η εναπόθεση του RANTES διεγείρει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο φλεγμονώδες ενδοθήλιο και τη μετανάστευσή τους στον υπενδοθηλιακό χώρο, (6) επάγουν τη διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας.

λείων μυϊκών κυττάρων και των ενδοθηλιακών κύτταρων. Οι Kim et al⁶⁴ έδειξαν ότι η απομάκρυνση της SPP από την επιφάνεια των PMPs μειώνει σημαντικά τη δυνατότητα των PMPs να προκαλέσουν αγγειογένεση, ενώ αυτή δεν επηρεάζεται από τη μετουσίωση του πρωτεϊνικού περιεχομένου των PMPs, γεγονός που αποδεικνύει ότι η αγγειογένεση που προκαλούν τα PMPs οφείλεται στην SPP και όχι στην πιθανή παρουσία αγγειογενετικών πρωτεϊνών, όπως είναι ο αγγειακός αυξητικός παράγοντας των ενδοθηλιακών κυττάρων (VEGF).

2. Συμπεράσματα

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι τα PMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη θρόμβωση, τη φλεγμονή, την αθηροσκλήρωση καθώς και την αγγειογένεση. Τα PMPs περιέχουν διάφορα βιοδραστικά συστατικά των αιμοπεταλίων καθώς και υποδοχείς τους. Διαμέσου αυτών τα PMPs αλληλεπιδρούν με άλλα κύτταρα συμπεριλαμβανομένου των ενδοθηλιακών κυττάρων, των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων, και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που συμμετέχουν στις παραπάνω διαδικασίες μπορεί να οδηγήσει στην περαιτέρω κατανόηση της επίδρασης των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων στην αθηροθρόμβωση καθώς και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της αθηροθρόμβωσης.

Βιβλιογραφία

- Leroyer AS, Tedgui A, Boulanger CM. Role of microparticles in atherothrombosis. *J Intern Med* 2008, 263:528–537
- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997, 349:1498–1504
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993, 362:801–809
- Tan KT, Lip GYH. The potential role of platelet microparticles in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2005, 94:488–492
- Massberg S, Brand K, Gruner S et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of the atherosclerotic lesions formation. *J Exp Med* 2002, 196:887–896
- Huo Y, Schober A, Forlow SB et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med* 2003, 9:61–67
- Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A et al. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur J Clin Invest* 2004, 34:392–401
- George JN, Thoi LL, McManus LM et al. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood* 1982, 60:834–840
- Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev* 2007, 21:157–171
- Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol* 1967, 13:269–288
- Barry OP, Praticò D, Lawson JA et al. Transcellular Activation of Platelets and Endothelial Cells by Bioactive Lipids in Platelet Microparticles. *J Clin Invest* 1997, 99:2118–2127
- Schwarz M, Katagiri Y, Kotani M et al. Reversibility versus persistence of GpIIb/IIIa blocker-induced conformational change of GpIIb/IIIa (alphaIbbeta3, CD41/CD61). *J Pharmacol Exp Ther* 2004, 308:1002–1011
- George GN, Pickett EB, Saucerman S et al. Platelet surface glycoproteins. Studies on resting and activated platelets and platelet membrane microparticles in normal subjects, and observations in patients during adult respiratory distress syndrome and cardiac surgery. *J Clin Invest* 1986, 78:340–348
- Silverstein RL. Inflammation, atherosclerosis, and arterial thrombosis: Role of the scavenger receptor CD36. *Clev Clin J Med* 2009, 76: S27–S30
- Horstman LL, Jy W, Jimenez J et al. New horizons in the analysis of circulating cell-derived microparticles. *Keio J Med* 2004, 53:210–230
- Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol* 2002, 30:450–459
- Losy J, Niezgodza A, Wender M. Increased serum levels of soluble PECAM-1 in multiple sclerosis patients with brain gadolinium-enhancing lesions. *J Neuroimmunol* 1999, 99:169–172
- English D, Garcia JG, Brindley, DN. Platelet-released phospholipids link haemostasis and angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2001, 49:588–599
- Barry OP, Kazanietz MG, Pratico D et al. Arachidonic acid in platelet microparticles up-regulates cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin formation via a protein kinase C/mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *J Biol Chem* 1999, 274:7545–7556
- Terashita Z, Imura Y, Nishikawa K. Inhibition by CV-3988 of the binding of [³H]-platelet activating factor (PAF) to the platelet. *Biochem Pharmacol* 1985, 34:1491–1495
- Fox JE, Austin CD, Boyles JK et al. Role of the membrane skeleton in preventing the shedding of procoagulant-rich microvesicles from the platelet plasma membrane. *J Cell Biol* 1990, 111:483–493
- Diaz C, Schroit AJ. Role of translocases in the generation of phosphatidylserine asymmetry. *J Membr Biol* 1996, 151:1–9
- Connor J, Pak CH, Zwaal RF et al. Bidirectional transbilayer movement of phospholipid analogs in human red blood cells. Evidence for an ATP-dependent and protein-mediated process. *J Biol Chem* 1992, 267:19412–19417
- Horstman LL, Ahn YS. Platelet microparticles: a wide-angle perspective. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999, 30:111–142
- Wolf BB, Goldstein JC, Stennicke HR et al. Calpain functions in a caspase-independent manner to promote apoptosis-like events during platelet activation. *Blood* 1999, 94:1683–1692
- Dachary-Prigent J, Pasquet JM, Fressinaud E et al. Amino-phospholipid exposure, microvesiculation and abnormal protein tyrosine phosphorylation in the platelets of a patient with Scott syndrome: a study using physiologic agonists and local anaesthetics. *Br J Haematol* 1999, 99:959–967
- VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A et al. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 2003, 59:277–287
- Gemmell CH, Sefton MV, Yeo EL. Platelet-derived microparticle formation involves glycoprotein IIb-IIIa. Inhibition by RGDS and a Glanzmann's thrombasthenia defect. *J Biol Chem* 1993, 268:14586–14589
- Mause SF, von Hundelshausen P, Zernecke A et al. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting

- monocyte recruitment on endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25:1512–1518
30. Majika M, Kijowski J, Lesko E et al. Evidence that platelet-derived microvesicles may transfer platelet-specific immunoreactive antigens to the surface of endothelial cells and CD34+ hematopoietic stem/progenitor cells – implication for the pathogenesis of immune thrombocytopenias. *Folia Histochem Cytobiol* 2007, 45:27–32
 31. Kirsch T, Woywodt A, Beese M et al. Engulfment of apoptotic cells by microvascular endothelial cells induces proinflammatory responses. *Blood* 2007, 109:2854–2862
 32. Deregibus MC, Cantaluppi V, Calogero R et al. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood* 2007, 110:2420–2448
 33. Morel O, Morel N, Freyssinet JN et al. Platelet microparticles and vascular cells interactions: A checkpoint between the haemostatic and thrombotic responses. *Platelets* 2008, 19:9–23
 34. Muller I, Klocke A, Alex M et al. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. *FASEB J* 2003, 17:476–478
 35. Osterud B, Bjorklid E. Sources of tissue factor. *Semin Thromb Haemost* 2006, 32:11–23
 36. Holme PA, Orvim U, Hamers MJ et al. Shear-induced platelet activation and platelet microparticle formation at blood flow conditions as in arteries with a severe stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997, 17:646–653
 37. Holme PA, Solum NO, Brosstad F et al. Microvesicles bind soluble fibrinogen, adhere to immobilized fibrinogen, adhere to immobilized fibrinogen and coaggregate with platelets. *Thromb Haemost* 1998, 79:389–394
 38. Penn MS, Patel CV, Cui MZ et al. LDL increases inactive tissue factor on vascular smooth muscle cell surfaces: hydrogen peroxide activates latent cell surface tissue factor. *Circulation* 1999, 99:1753–1759
 39. Hrachovinova I, Cambien B, Hafezi-Moghadam A et al. Interaction of P-selectin and PSGL-1 generates microparticles that correct hemostasis in a mouse model of hemophilia A. *Nat Med* 2003, 9:1020–1025
 40. Andre P, Hartwell D, Hrachovinova I et al. Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97:13835–13840
 41. Del Conde I, Nabi F, Tonda R et al. Effect of P-selectin on phosphatidylserine exposure and surface-dependent thrombin generation on monocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25:1065–1070
 42. Aukrust P, Muller F, Ueland T et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1999, 100:614–620
 43. Freedman JE. CD40-CD40L and platelet function: beyond hemostasis. *Circ Res* 2003, 92:944–946
 44. Lindmark E, Tenno T, Siegbah A. Role of platelet P-selectin and CD40 ligand in the induction of monocytic tissue factor expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, 20:2322–2328
 45. Munnich IC, Harsma M, Giddings JC et al. Store-mediated calcium entry in the regulation of phosphatidylserine exposure in blood cells from Sott patients. *Thromb Haemost* 2003, 89:687–695
 46. Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 2004, 1636:119–128
 47. Castaman G, Yu-Feng L, Battistin E et al. Characterization of a novel bleeding disorder with isolated prolonged bleeding time and deficiency of platelet microvesicle generation. *Br J Haematol* 1997, 96:458–463
 48. Tans G, Rosing J, Thomassen MC et al. Comparison of anticoagulant and procoagulant activities of stimulated platelets and platelet-derived microparticles. *Blood* 1991, 77:2641–264
 49. Podor TJ, Singh D, Chindemi P et al. Vimentin exposed on activated platelets and platelet microparticles localises vitronectin and plasminogen activator inhibitor complexes on their surface. *J Biol Chem* 2002, 277:7529–7539
 50. Horrevoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1: *in vitro* activities and clinical relevance. *Br J Haematol* 2004, 125:12–23
 51. Booth NA, Simpson AJ, Croll A et al. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br J Haematol* 1988, 70:327–333
 52. Salonen EM, Vaheri A, Pollanen J et al. Interaction of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) with vitronectin. *J Biol Chem* 1989, 264:6339–6343
 53. Issekutz TB, Issekutz AC, Movat HZ. The *in vivo* quantitation and kinetics of monocyte migration into acute coronary inflammatory tissue. *Am J Pathol* 1981, 103:47–55
 54. Merten M, Pakala R, Thiagarajan P et al. Platelet microparticles promote platelet interaction with subendothelial matrix in a glycoprotein IIb/IIIa-dependent mechanism. *Circulation* 1999, 99:2577–2582
 55. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T et al. Vitronectin receptor mediates platelet adhesion to the luminal aspect of endothelial cells: implications for reperfusion in acute myocardial infarction. *Circulation* 1997, 96:1809–1818
 56. Barry OP, Pratico D, Savani RC et al. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest* 1998, 102:136–144
 57. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999, 340:115–126
 58. Nomura S, Tandon NN, Nakamura T et al. High-shear-stress-induced activation of platelets and microparticles enhances expression of cell adhesion molecules in THP-1 and endothelial cells. *Atherosclerosis* 2001, 158:277–287
 59. Weber A, Koppen HO, Schror K. Platelet-derived microparticles stimulate coronary artery smooth muscle cell mitogenesis by a PDGF-independent mechanism. *Thromb Res* 2000, 98:461–466
 60. Burger PC, Wagner DD. Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood* 2003, 101:2661–2666
 61. Forlow SB, McEver RP, Nollert MU. Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles
 62. Mitsios JV, Vini MP, Stengel D et al. Human platelets secrete the plasma type of platelet-activating factor acetylhydrolase primarily associated with microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26:1907–1913
 63. Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA et al. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAN(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway. *Crit Care Med* 2004, 32:818–825
 64. Kim HK, Song KS, Chung JH et al. Platelet microparticles induce angiogenesis *in vitro*. *Br J Haematol* 2004, 124:376–384

Ημερομηνία Υποβολής 05/06/2013
 Ημερομηνία Έγκρισης 05/06/2013