

Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην αναγέννηση του ενδοθηλίου του αρτηριακού τοιχώματος

Π. Τατσίδου, Α.Δ. Τσελέπης

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

The role of platelets in regeneration of endothelium in arterial wall

P. Tatsidou, A.D. Tselepis

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση και στην αθηροθρόμβωση, ενώ παράλληλα πολλές μελέτες αποδεικνύουν ότι συμμετέχουν επίσης στη φλεγμονή και στην αγγειογένεση, καθώς κατά την ενεργοποίησή τους εκκρίνουν πληθώρα φλεγμονωδών και αγγειογενετικών παραγόντων. Πρόσφατες μελέτες *in vitro* έδειξαν πως τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν και με τα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα στο αρτηριακό τοίχωμα. Άλλες μελέτες έδειξαν πως σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο (ΣΣΝ) ο αριθμός των CD34⁺ είναι μειωμένος, ενώ στα οξεία στεφανιαία σύνδρομα (ΟΣΣ) τα επίπεδα των CD34⁺ παρατηρούνται αυξημένα. Ωστόσο ο μηχανισμός με τον οποίο πραγματοποιείται είτε η αύξηση είτε η μείωση των CD34⁺ παραμένει υπό διερεύνηση. Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι να παρουσιάσει όλα τα μέχρι τώρα δεδομένα για τον νέο ρόλο των πρόδρομων CD34⁺ κυττάρων, καθώς και την αλληλεπίδρασή τους με τα αιμοπετάλια στην αναγέννηση του αρτηριακού τοιχώματος και τη συμβολή τους στην παθοφυσιολογία της καρδιαγγειακής νόσου.

Λέξεις ευρετηρίου: Αιμοπετάλια, CD34⁺ πρόδρομα κύτταρα, αγγειογένεση, μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων, KDR, ενδοθηλιακά κύτταρα.

ABSTRACT: Platelets play a crucial role in hemostasis and atherothrombosis, while many studies demonstrate that platelets are also involved in inflammation and angiogenesis, given that upon their activation they secrete many inflammatory and angiogenic factors. Furthermore, recent *in vitro* studies showed that platelets interact with progenitor CD34⁺ cells in the arterial wall. Other studies have shown that in patients with stable coronary artery disease the number of CD34⁺ is reduced, while these levels of CD34⁺ cells are higher in acute coronary syndromes (ACS). Nevertheless, the mechanism that causes this increase or decrease remains under investigation. The purpose of this review is to present all the evidence on the new role of CD34⁺ progenitor cells and their interaction with platelets in the regeneration of the arterial wall and their contribution to the pathophysiology of cardiovascular disease.

Key words: Platelets, CD34⁺ progenitor cells, angiogenesis, platelet microparticles, KDR, endothelial cells.

Αλέξανδρος Δ. Τσελέπης, MD, PhD
Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα
Τηλ.: (+30) 2651-098 365, Fax: (+30) 2651-098 785
e-mail: atselep@uoi.gr

Alexandros D. Tselepis, MD, PhD
Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry,
University of Ioannina, GR-451 10 Ioannina, Greece
Tel.: (+30) 2651-098 365, Fax: (+30) 2651-098 785
e-mail: atselep@uoi.gr

1. Εισαγωγή

Η αθηροθρόμβωση αποτελεί μια πολυπαραγοντική, παθοφυσιολογική οντότητα που εξαρτάται από γενετικούς, περιβαλλοντικούς και διατροφικούς παράγοντες, και είναι από τις κυριότερες αιτίες θανάτου στον δυτικό κόσμο.¹ Εμπλέκονται διάφοροι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί, μερικοί από τους οποίους είναι η φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες, διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών, διαταραχές των μηχανισμών θρόμβωσης και πήξης, και γονιδιακοί πολυμορφισμοί. Η αθηροθρόμβωση αρχίζει από πολύ νωρίς στην παιδική ηλικία και εξελίσσεται ασυμπτωματικά καθόλη την ενήλικη ζωή.¹ Χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη των αθηρωματικών πλακών (αθηροσκλήρωση) η οποία στη συνέχεια μπορεί να υποστεί ρήξη οδηγώντας στην ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, με τελικό αποτέλεσμα τη θρόμβωση.

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και η προσέλευση κυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος θεωρείται ο κυριότερος μηχανισμός έναρξης της αθηροσκλήρωσης.^{2,3} Η άμεση ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και ο επικείμενος σχηματισμός του θρόμβου έπεται από τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας οδηγούν στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα (ΟΣΣ), στην περιφερική αρτηριακή νόσο και στο ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.¹ Κατά την ενεργοποίησή τους, τα αιμοπετάλια εκκρίνουν πληθώρα παραγόντων και κυτοκινών, μερικοί από τους οποίους επάγουν ενώ κάποιοι από αυτούς αναστέλλουν την αγγειογένεση.^{4,5}

Τα αιμοπετάλια είναι τα πρώτα κύτταρα που προσκολλώνται στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο αλληλεπιδρώντας παράλληλα με διάφορους τύπους λευκοκυττάρων, όπως τα μονοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα. Πρόσφατες μελέτες *in vitro* απέδειξαν πως τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν και με τα κυκλοφορούντα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα στο αρτηριακό τοίχωμα, επάγοντας τη διαφοροποίησή τους προς ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία πιθανόν συμβάλλουν στην αναγέννηση του ενδοθηλίου του αρτηριακού τοιχώματος. Ωστόσο μελέτες σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο έδειξαν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τα επίπεδα των CD34⁺ κυττάρων στην κυκλοφορία.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να παρουσιάσει τον ρόλο των αιμοπεταλίων καθώς και την αλληλεπίδρασή τους με τα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα στην πιθανή αναγέννηση του ενδοθηλίου του αρτηριακού τοιχώματος. Επιπλέον, θα συζητηθούν τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών που έχουν γίνει σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, ως προς τα επίπεδα των κυκλοφορούντων CD34⁺, την αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-CD34⁺, καθώς και οι πιθανές κλινικές επιπτώσεις της αλληλεπίδρασης αυτής.

2. Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο αρτηριακό τοίχωμα

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια δεν αλληλεπιδρούν με το φυσιολογικό αγγειακό τοίχωμα λόγω της παραγωγής από το ενδοθήλιο παραγόντων που αποτρέπουν την προσκόλλησή τους.⁶ Στην περίπτωση όμως ενεργοποίησης του ενδοθηλίου ή βλάβης της ενδοθηλιακής στιβάδας, τα αιμοπετάλια κινούνται προς το σημείο της βλάβης και αρχίζουν να κυλούν, χωρίς όμως να προσκολλώνται σταθερά.^{6,7} Η κύλιση είτε επάνω στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα είτε στον υπενδοθηλιακό χώρο επιτυγχάνεται με την αλληλεπίδραση του παράγοντα von Willebrand (vWF) με την υπομονάδα GPIIb του συμπλέγματος του αιμοπεταλιακού υποδοχέα GPIIb/IIIa.⁶ Ο υποδοχέας αυτός αποτελείται από τις υπομονάδες α και β της γλυκοπρωτεΐνης GPI που ενώνονται με δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ τους και συνδέονται ετεροπολικά με τις GPV και GPIX.⁸⁻¹¹ Το επόμενο στάδιο της κύλισης των αιμοπεταλίων είναι η προσκόλλησή τους στο αρτηριακό τοίχωμα. Εκτός από τις αλληλεπιδράσεις GPIIb-vWF, σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο αρτηριακό τοίχωμα διαδραματίζει η σύνδεση των αιμοπεταλιακών υποδοχέων GPIa/IIa και GPVI με το κολλαγόνο.¹² Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προσδένονται σταθερά στην περιοχή της αγγειακής βλάβης διαμέσου της αλληλεπίδρασης της ιντεγκρίνης VLA-6 και του υποδοχέα GPIIb/IIIa των αιμοπεταλίων στη λαμινίνη και τη φιβρονεκτίνη, αντίστοιχα.¹²⁻¹⁵ Κατά την προσκόλλησή τους, τα αιμοπετάλια εκκρίνουν προφλεγμονώδη μόρια όπως είναι η P-σελεκτίνη, ο ιστικός παράγοντας (tissue factor, TF), ο CD40L, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες MMP-1 και MMP-2, η ιντερλευκίνη IL-1β και οι χημειοκίνες CXCL4 [παράγοντας αιμοπεταλίων 4 (PF4) και CCL5 (RANTES)],¹⁶⁻¹⁹ τα οποία ρυθμίζουν την αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, και την επικείμενη προσέλευση των λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής. Τα προσκολλημένα στο ενδοθήλιο αιμοπετάλια λειτουργούν ως ρυθμιστές μεταξύ των κυκλοφορούντων κυττάρων του αίματος και των ενδοθηλιακών κυττάρων.²⁰⁻²⁴ Για παράδειγμα, προσελκύουν ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα στο αγγειακό τοίχωμα. Επιπλέον, στρατολογούν τα λευκοκύτταρα διαμέσου των αλληλεπιδράσεων PSGL-1/P-σελεκτίνης,²⁵⁻²⁷ τα δενδριτικά κύτταρα διαμέσου των αλληλεπιδράσεων Mac-1 (CD11b/CD18, αMβ2)-GPIIb, Mac-1/JAM-C (Junctional adhesion molecule-C) και Mac-1/ICAM-2 (Intracellular adhesion molecule-2).²⁸

3. Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα λευκοκύτταρα στην αθηροθρόμβωση

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα αιμοπετάλια κατά την ενεργοποίησή τους έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδρούν με ενδοθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα και πρόδρομα κύτταρα, εξαιτίας της έκκρισης βιοδραστικών παραγόντων αλλά και της ενεργοποίησης διαφόρων υποδοχέων τους.^{7,29-35} Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα λευκοκύτταρα είναι ένα συχνό φαινόμενο τόσο στη θρόμβωση όσο και στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Τα αιμοπετάλια επικοινωνούν με διαφόρους τύπους λευκοκυττάρων, όπως είναι τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, διαμέσου υποδοχέων και παραγόντων που εκκρίνουν.³⁶ Αντίστοιχα, οι παράγοντες που εκκρίνονται από τα λευκοκύτταρα –όπως είναι οι πρωτεάσες και το μονοξειδίο του αζώτου– επηρεάζουν τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων.³⁷ Έχει αποδειχθεί πως η αλληλεπίδραση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων με το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης και χημειοκινών από αυτά, γεγονός που συμβάλλει στην προσέλωση των λευκοκυττάρων και στις περαιτέρω αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων.³⁶ Τα συμπλέγματα αιμοπετάλια-λευκοκύτταρα εμφανίζουν στην επιφάνειά τους αντιγόνα τόσο των αιμοπεταλίων όσο και των λευκοκυττάρων.^{36,37}

Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα λευκοκύτταρα και το ενδοθήλιο μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφόρους μηχανισμούς. Τα αιμοπετάλια μπορούν αρχικά να αλληλεπιδράσουν με τα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα δημιουργώντας συσσωματώματα, και στη συνέχεια να επάγουν τη στρατολόγηση περισσότερων λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Εναλλακτικά, τα ήδη προσκολλημένα αιμοπετάλια στο ενδοθήλιο μπορούν να στρατολογήσουν λευκοκύτταρα.³⁶ Σε εξέλιξη της στρατολόγησής τους από τα αιμοπετάλια, η πρόσδεση της P-σελεκτίνης των αιμοπεταλίων στον υποδοχέα PSGL-1 των λευκοκυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ενός καταρράκτη σηματοδότησης που οδηγεί στην ενεργοποίηση του υποδοχέα Mac-1 των λευκοκυττάρων, με τελικό αποτέλεσμα την ισχυρή προσκόλληση των αιμοπεταλίων στα λευκοκύτταρα. Το σύμπλοκο Mac-1 που βρίσκεται στα λευκοκύτταρα προσδένεται στη γλυκοπρωτεΐνη GPIb και στο JAM-C στα αιμοπετάλια.³² Επιπλέον, η αλληλεπίδραση P-σελεκτίνη/PSGL-1 επάγει την υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα στα λευκοκύτταρα και τη βιοσύνθεση κυτοκινών και άλλων μορίων που συμμετέχουν τόσο στη δημιουργία του θρόμβου όσο και σε

άλλες παθοφυσιολογικές καταστάσεις, όπως είναι η φλεγμονή και η αγγειογένεση.^{40,41}

4. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην αγγειογένεση

Μεταξύ της πληθώρας παραγόντων που εκκρίνουν τα αιμοπετάλια κατά την ενεργοποίησή τους, συγκαταλέγονται αγγειογενετικοί αυξητικοί παράγοντες, καθώς και παράγοντες που αναστέλλουν την αγγειογένεση.⁴²⁻⁴⁶

Ιδιαίτερα σημαντικοί παράγοντες των αιμοπεταλίων που διεγείρουν την αγγειογένεση είναι: ο VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), ο PDGF (Platelet Derived Growth Factor), ο FGF (Fibroblast Growth Factor), ο EGF (Epidermal Growth Factor), ο HGF (Hepatocyte Growth Factor), ο IGF (Insuline-like Growth Factor) και ο TGF- β (Transforming Growth Factor-beta).⁴²⁻⁴⁴ Αντίθετα, από τους πιο διαδεδομένους αναστολείς της αγγειογένεσης που εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια είναι: η θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1), ισχυρός αναστολέας του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και ταυτόχρονα επαγωγέας της απόπτωσης των κυττάρων αυτών, η αγγειοστατίνη, η ενδοστατίνη και οι TIMPs (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases) (-1 και -4)^{45,46} (πίνακας 1).

Η ρύθμιση και η έκκριση των παραπάνω παραγόντων κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων εξαρτώνται από εξειδικευμένους υποδοχείς. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι υποδοχείς PAR-s (Proteinase-Activated Receptor). Ο PAR-1 και ο PAR-4 είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πρωτεάσες, εκφράζονται στην επιφάνεια των ανθρώπινων αιμοπεταλίων, και ενεργοποιούνται από τη θρομβίνη.⁴⁷ Ο PAR-4, σε αντίθεση με τον PAR-1, επηρεάζει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης.⁴⁸ Έχει αποδειχθεί πως οι υποδοχείς αυτοί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και στην έκκριση βιολογικά δραστικών παραγόντων όπως είναι ο αναστολέας της αγγειογένεσης ενδοστατίνη αλλά και ο αγγειογενετικός παράγοντας VEGF.⁴⁷ Η διέγερση των ανθρώπινων αιμοπεταλίων με τον αγωνιστή του PAR-1 οδηγεί σε αύξηση της έκκρισης του VEGF και μείωση της ενδοστατίνης, σε αντίθεση με την ενεργοποίηση του PAR-4 η οποία έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση της ενδοστατίνης.⁴⁷ Συνεπώς, οι υποδοχείς PAR-1 και PAR-4 στα ανθρώπινα αιμοπετάλια λειτουργούν αντίστροφα στη ρύθμιση της έκκρισης βιολογικά δραστικών μορίων, όπως ο VEGF και η ενδοστατίνη, που επάγουν ή αναστέλλουν την αγγειογένεση, αντίστοιχα.⁴⁷

Πίνακας 1. Παράγοντες των αιμοπεταλίων και η δράση τους στην αγγειογένεση.

Αγγειογενετικοί παράγοντες	Λειτουργία	Αναστολείς αγγειογένεσης	Λειτουργία
VEGF	Επαγωγή της αγγειογένεσης, νεοαγγειογένεσης, αγγειακής διαπερατότητας	TSP-1	Αναστολή ανάπτυξης πολλαπλασιασμού και επιβίωσης ενδοθηλιακών κυττάρων
PDGF	Στρατολόγηση λείων μυϊκών κυττάρων	Αγγειοστατίνη	Καταστολή της αγγειογένεσης στους όγκους
FGF, bFGF	Επαγωγή της αγγειογένεσης	Ενδοστατίνη	Αναστολή ανάπτυξης και μετανάστευσης ενδοθηλιακών κυττάρων
EGF	Κυτταρική αύξηση, πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση των κυττάρων	TIMPs	Καταστολή ανεξέλεγκτης αγγειογένεσης
HGF	Επαγωγή της αγγειογένεσης		
IGF	Επαγωγή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού		
TGF-β	Επαγωγή της αγγειογένεσης		

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor), HGF (Hepatocyte Growth Factor), IGF (Insulin-like Growth Factor), TGF-β (Transforming Growth Factor), TSP-1 (Thrombospondin-1), TIMPs (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases)

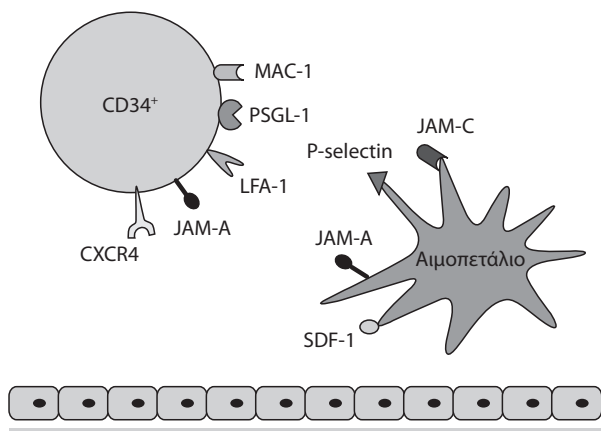
5. Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα

Τα CD34⁺ αποτελούν έναν πολύ καλά χαρακτηρισμένο πληθυσμό βλαστοκυττάρων τα οποία μπορούν να διαφοροποιηθούν σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους, όπως τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Οι κύριες πηγές παραγωγής των CD34⁺ είναι ο μυελός των οστών και ο ομφάλιος λώρος. Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις απεδείχθη πως επάγουν την αγγειογένεση σε ζωικά μοντέλα, χωρίς ωστόσο να είναι πλήρως κατανοητός ο μηχανισμός.⁴⁸ Όλο και περισσότερο αυξάνονται οι μελέτες που υποστηρίζουν τον ρόλο των CD34⁺ στην αγγειογένεση και στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδοθηλίου του αρτηριακού τοιχώματος, ωστόσο ο πλήρης μηχανισμός παραμένει υπό διερεύνηση. Η υπόθεση είναι πως τα CD34⁺ κινητοποιούνται από τον μυελό των οστών και προσκολλώνται στο τραυματισμένο αρτηριακό τοίχωμα, όπου στη συνέχεια διαφοροποιούνται είτε σε ενδοθηλιακά, είτε σε λεία μυϊκά κύτταρα αποκαθιστώντας πλήρως την ακεραιότητα του τραυματισμένου αρτηριακού τοιχώματος.^{49,50}

Τα CD34⁺ πρόδρομα κύτταρα χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη σε αυτά της πρωτεΐνης CD34 –η οποία αποτελεί έναν πολύ γνωστό δείκτη για τα πρόδρομα κύτταρα του αίματος και του μυελού των οστών–, καθώς και των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων και των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων.⁵¹ Πρόκειται για μια Ο-γλυκοζυλιωμένη διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 105–120 kDa. Αν και η βιολογική λειτουργία

της και η ρύθμισή της δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητές, υπάρχουν ενδείξεις πως η CD34 συμμετέχει σε διάφορες διεργασίες, όπως είναι η ρύθμιση της αλληλεπίδρασης διάφορων κυττάρων και η χημειοταξία τους.^{52,53}

Η διαταραχή ή η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας διεγείρει τα αιμοπετάλια, τα οποία προσκολλώνται και συσσωρεύονται στην περιοχή της βλάβης. Μεταξύ των άλλων γεγονότων τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν με τα CD34⁺. Τα κυκλοφορούντα CD34⁺ κυλούν πάνω στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια διαμέσου ασθενών συνδέσεων της Ρ-σελεκτίνης των αιμοπεταλίων με τον αντίστοιχο υποδοχέα της PSGL-1 που εντοπίζεται στα CD34⁺ κύτταρα.⁵⁴ Αποδείχθηκε σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια, πως εκτός από την αλληλεπίδραση αυτή φαίνεται πως η Ρ-σελεκτίνη μπορεί να συνδεθεί και στον υποδοχέα GPIIb, ο οποίος υπάρχει και εκφράζεται στα CD34⁺.³⁵ Επιπλέον, τα αιμοπετάλια εκφράζουν το μόριο προσκόλλησης JAM-A που προσδέεται είτε στον υποδοχέα του LFA-1 (Lymphocyte Function-Associated Antigen-1) των CD34⁺ (ετεροφυλική σύνδεση), είτε αλληλεπιδρώντας με το JAM-A (Junctional Adhesion Molecule-A, που επίσης εκφράζουν τα CD34⁺ (ομοφυλική σύνδεση), συμβάλλοντας στην προσκόλληση των ανθρώπινων πρόδρομων κυττάρων στα αιμοπετάλια⁵⁸ (σχήμα 1). Επιπρόσθετα, το JAM-A συμβάλλει στη διαφοροποίηση των CD34⁺ σε πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (Endothelial Progenitor Cells, EPCs), διευκολύνοντας την επανενδοθηλιοποίηση *in vitro*.⁵⁷ Αντιθέτως, το μόριο προσκόλλησης JAM-C που εκκρίνεται από τα αιμοπετάλια αποδείχθηκε πως αν και προάγει τη στρατολόγηση



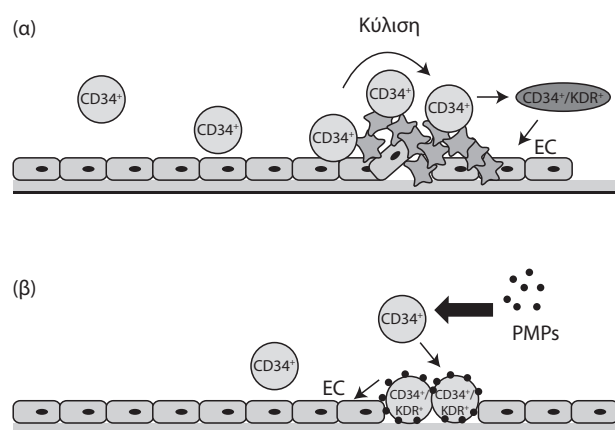
Σχήμα 1. Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων με τα CD34⁺.

και την προσκόλληση των CD34⁺ στα αιμοπετάλια, δεν επάγει τη διαφοροποίησή τους προς τον ενδοθηλιακό φαινότυπο *in vitro*⁵⁹ (πίνακας 2).

Ένας άλλος μηχανισμός της αλληλεπίδρασης των CD34⁺ πρόδρομων κυττάρων με τα αιμοπετάλια είναι διαμέσου του υποδοχέα CXCR4 των CD34⁺ και της χημειοκίνης SDF-1α (CXCL12), που εκκρίνεται από τα αιμοπετάλια.^{30-35,55,56} Κατά την ενεργοποίησή τους τα αιμοπετάλια εκκρίνουν τον SDF-1α, διαμέσου του οποίου επιτυγχάνεται η πρωτογενής προσκόλληση των πρόδρομων CD34⁺ κυττάρων στην επιφάνεια των συσσωρευμένων αιμοπεταλίων στο αρτηριακό τοίχωμα.³⁰ Ο ρόλος του SDF-1α στην αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα CD34⁺ ενισχύεται και από πειράματα που έδειξαν πως η προσκόλληση των CD34⁺ κυττάρων σε ακινητοποιημένα αιμοπετάλια αναστέλλεται σημαντικά παρουσία μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του SDF-1α ή έναντι του υποδοχέα του, CXCR4, στα CD34⁺, υποδεικνύοντας ότι ο SDF-1α που εντοπίζεται και εκκρίνεται από τα αιμοπετάλια επάγει την αλληλεπίδραση CD34⁺-αιμοπεταλίων.⁵⁷

Επισημαίνεται ιδιαίτερα πως χωρίς την ύπαρξη των αιμοπεταλίων τα CD34⁺ δεν μπορούν να προσκολληθούν στο αρτηριακό τοίχωμα, καθώς τα CD34⁺ δεν διαθέτουν κατάλληλους υποδοχείς για αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες του υπενδοθηλιακού χώρου, όπως το κολλαγόνο τύπου I.⁵⁷

Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα CD34⁺ έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση του ενδοθηλιακού φαινότυπου από τα CD34⁺. Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν πως τα κυκλοφορούντα CD34⁺ πρόδρομα κύτταρα εκφράζουν σε μικρό βαθμό τον υποδοχέα KDR (kinase-insert domain-containing receptor) του αυξητικού παράγοντα VEGF, χαρακτηριστικό υποδοχέα των ενδοθηλιακών κυττάρων.⁵⁶ Η προσκόλληση των CD34⁺ πάνω στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια στην περιοχή της αγγειακής βλάβης έχει ως αποτέλεσμα τη μετακίνηση μεγαλύτερης ποσότητας KDR –το οποίο βρίσκεται σε κυστίδια στο εσωτερικό των CD34⁺– προς την επιφάνειά τους, μετατρέποντάς τα έτσι σε πρόδρομα ενδοθηλιακού τύπου κύτταρα⁵⁶ (σχήμα 2α).



Σχήμα 2. (α) Διαφοροποίηση των πρόδρομων CD34⁺ κυττάρων σε CD34⁺/KDR⁺, (β) Τα PMPs διαφοροποιούν τα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα σε CD34⁺/KDR⁺.

Πίνακας 2. Τρόποι αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με τα πρόδρομα CD34⁺ κύτταρα.

Αιμοπετάλια	CD34 ⁺	Λειτουργία
P-σελεκτίνη	PSGL-1	Προσκόλληση, κύλιση
SDF-1	CXCR4	Στρατολόγηση CD34 ⁺ , διαφοροποίηση προς ενδοθηλιακό φαινότυπο
JAM-A	JAM-A	Προσκόλληση, διαφοροποίηση CD34 ⁺ προς ενδοθηλιακό φαινότυπο
JAM-A	LFA-1	Προσκόλληση, διαφοροποίηση προς ενδοθηλιακό φαινότυπο
JAM-C	Mac-1	Στρατολόγηση, προσκόλληση
VEGF	KDR	διαφοροποίηση προς ενδοθηλιακό φαινότυπο

PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand), SDF-1 (Stromal derived factor-1), CXCR4 (CXC Receptor type 4), JAM-A (Junctional adhesion molecule A), LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen-1), JAM-C (Junctional adhesion molecule C), Mac-1 (Macrophage-1 antigen), VEGF (Vascular endothelial growth factor), KDR (Kinase insert domain)

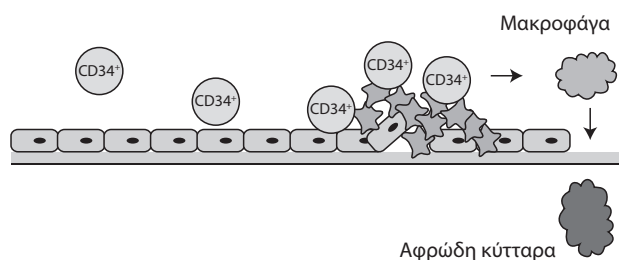
Ωστόσο, η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα $CD34^+$ μπορεί να έχει τον αντίθετο ρόλο σε σχέση με τα όσα μέχρι τώρα αναφέραμε, εάν συνυπάρχουν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, όπως είναι τα αυξημένα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης και της οξειδωμένης LDL (ox-LDL). Συνεπώς, η αλληλεπίδραση μεταξύ αιμοπεταλίων και $CD34^+$ κυττάρων μπορεί αρχικά να συμβάλει στη διαφοροποίηση των $CD34^+$ πρώτα σε μονοκύτταρα και στη συνέχεια σε μακροφάγα και σε αφρώδη κύτταρα, τα οποία αποτελούν ένα χαρακτηριστικό παθολογικό εύρημα των πρώτων σταδίων ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας^{33,34} (σχήμα 3).

Εκτός όμως από την επίδραση των αιμοπεταλίων στα $CD34^+$, έχειδειχθεί πως και τα πρόδρομα κύτταρα ενδοθηλιακού τύπου EPCs επηρεάζουν αντίστοιχα τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων με τους αγγειογενετικούς και αγγειοδραστικούς παράγοντες που εκκρίνουν.⁵⁶ Ο ρόλος των πρόδρομων κυττάρων στην επαγόμενη από θρομβίνη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μελετήθηκε πρόσφατα με πειράματα κυτταρομετρίας ροής.⁵⁶ Παρατηρήθηκε πως τα EPCs προσδένονται στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια διαμέσου της P-σελεκτίνης/PSGL-1, με αποτέλεσμα την αναστολή της περαιτέρω ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων καθώς και της συσσώρευσης και προσκόλλησής τους στο κολλαγόνο.⁵⁶

6. Η αλληλεπίδραση των PMPs με τα $CD34^+$ πρόδρομα κύτταρα

Τα αιμοπετάλια εκκρίνουν πολλούς βιοδραστικούς παράγοντες ενσωματωμένους σε μεμβρανικά κυστίδια γνωστά και ως μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων (PMPs).⁶¹ Τα PMPs συμμετέχουν σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως είναι η φλεγμονή, η πήξη του αίματος και η αθηρογένεση.

Μεταξύ άλλων, τα PMPs εκφράζουν υποδοχείς προσκόλλησης αλλά και χημειοκινών που προέρχονται από τα αιμοπετάλια, όπως είναι η GPIIb/IIIa, η GPIb και ο CXCR4.⁶¹ Συνεπώς, τα PMPs αποτελούν έναν μηχανισμό στοχευμένης μεταφοράς βιοδραστικών ουσιών από τα



Σχήμα 3. Διαφοροποίηση των πρόδρομων $CD34^+$ κυττάρων σε αφρώδη κύτταρα.

αιμοπετάλια σε άλλα κύτταρα, οδηγώντας στην ενεργοποίησή τους.⁶¹ Για παράδειγμα, πρωτεΐνες των PMPs που βρέθηκαν στην επιφάνεια των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας, και αποδείχθηκε πως πρόκειται για πρωτεΐνες των αιμοπεταλίων.⁶²

Τα PMPs μεταφέρουν υποδοχείς προσκόλλησης (π.χ. GPIb) στα αιμοποιητικά πρόδρομα κύτταρα, ενισχύοντας τη στρατολόγηση αυτών των κυττάρων στον ιστό-στόχο. Πειράματα έδειξαν πως τα PMPs προσδένονται και δημιουργούν ένα περίβλημα γύρω από $CD34^+$ προκαλώντας την προσκόλληση των $CD34^+$ στα ενδοθηλιακά κύτταρα.⁶² Τα PMPs επιπλέον, ενισχύουν την προσκόλληση των πρόδρομων κυττάρων στις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας –ινωδογόνο, φιβρονεκτίνη και βιτρονεκτίνη– κάτω από συνθήκες ροής, και ακόμα συμβάλλουν στη διαφοροποίηση των $CD34^+$ σε κύτταρα ενδοθηλιακού τύπου^{61,62} (σχήμα 2β). Αυτό επιβεβαιώνεται και από πειράματα που έγιναν σε ποντίκια, τα οποία απέδειξαν πως μετά από τραυματισμό της καρωτίδας, πρόδρομα κύτταρα που περιβάλλονταν από PMPs συνέβαλαν στην απόλυτη επανενδοθηλιοποίησή της 5 ημέρες μετά τον τραυματισμό, υποδηλώνοντας πως τα PMPs προκαλούν τη διαφοροποίηση των $CD34^+$ πρόδρομων κυττάρων σε ενδοθηλιακά κύτταρα.⁶³ Τα κύτταρα αυτά στην πραγματικότητα απέκτησαν ενδοθηλιακό χαρακτήρα και αγγειογενετικές ιδιότητες, έπειτα από αλληλεπίδραση με τα PMPs.⁶² Γενικά, τα PMPs επάγουν αλλαγές στον φαινότυπο των πρόδρομων κυττάρων, καθώς ελέγχουν-καθορίζουν την έκφραση στην επιφάνειά τους ποικίλων ενδοθηλιακών, λευκοκυτταρικών και αιμοποιητικών δεικτών.⁶¹

7. Τα $CD34^+$ πρόδρομα κύτταρα σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο

Οι μελέτες για τον πληθυσμό των $CD34^+$ και την αλληλεπίδραση των κυττάρων αυτών με τα αιμοπετάλια έχουν ως στόχο τη διερεύνηση της πιθανής κλινικής σημασίας της αλληλεπίδρασης αυτής. Μελέτες που έχουν γίνει σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ) απέδειξαν πως τα επίπεδα των $CD34^+$ στο περιφερικό αίμα είναι ισοδυναμικά αυξημένα.⁶⁴⁻⁶⁸ Ειδικότερα, σύμφωνα με αυτές τις μελέτες, τα $CD34^+$ που εκφράζουν τον ενδοθηλιακό φαινότυπο KDR^+ και εκφράζονται ως $CD34^+/KDR^+$ είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ).⁶⁴ Ταυτόχρονα, σε αυτούς τους ασθενείς είναι αυξημένα τα επίπεδα του VEGF. Η συσχέτιση των επιπέδων των $CD34^+/KDR^+$ με τον VEGF ενίσχυσε την υπόθεση πως τα αυξημένα επίπεδα του VEGF κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι υπεύθυνα για την κινετική των $CD34^+/KDR^+$ από τον μυελό των οστών.⁶⁴

Επίσης, έχει δείχθει πως τα επίπεδα της Ρ-σελεκτίνης και του SDF-1α που εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια είναι ιδιαίτερα αυξημένα σε ασθενείς με OEM, γεγονός που σχετίζεται θετικά με τα αυξημένα επίπεδα των CD34⁺ και με τον βαθμό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με ΟΣΣ.⁶⁴ Πιθανόν η Ρ-σελεκτίνη και ο SDF-1 να αλληλεπιδρούν με τους αντίστοιχους εξειδικευμένους υποδοχείς τους PSGL-1 και CXCR-4 στα CD34⁺ και να επάγουν την κινητοποίησή τους στην κυκλοφορία από τον μυελό των οστών.⁶⁶ Σε περιπτώσεις οξείας φλεγμονής που σχετίζεται με OEM, τα αυξημένα επίπεδα των CRP και της ιντερλευκίνης 8 (IL-8), συσχετίζονται θετικά με τον αριθμό των CD34⁺/KDR⁺. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό πως η IL-8, εκτός από την προφλεγμονώδη δράση της έχει αποδειχθεί ότι επάγει τη στρατολόγηση των CD34⁺ στην κυκλοφορία.⁶⁷

Ωστόσο, τα επίπεδα των κυκλοφορούντων CD34⁺ και CD34⁺/KDR⁺ εμφανίζονται μειωμένα σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο (ΣΣΝ), και αυτό εξηγείται γιατί παράγοντες κινδύνου της αθηροσκλήρωσης, όπως το κάπνισμα, η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση και ο διαβήτης, σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με τον αριθμό των κυκλοφορούντων CD34⁺/KDR⁺.^{69,70} Ο μηχανισμός με τον οποίο μειώνεται ο αριθμός των CD34⁺/KDR⁺ εξαιτίας των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου παραμένει αδιευκρίνιστος. Λόγω του ότι ο συνολικός πληθυσμός των κυκλοφορούντων CD34⁺ δεν μεταβάλλεται στους ασθενείς αυτούς, είναι πιθανόν να υπάρχει μια διαδικασία η οποία στοχεύει αποκλειστικά στον υποπληθυσμό των CD34⁺/KDR⁺, προκαλώντας τη μείωσή τους. Στα πλαίσια αυτά έχει προταθεί ένας πιθανός μηχανισμός, ότι τα κυκλοφορούντα CD34⁺/KDR⁺ είναι πιο επιρρεπή στην κυτταρική απόπτωση, καθώς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου –όπως το κάπνισμα– αυξάνουν το οξειδωτικό στρες το οποίο προκαλεί κυτταρικό θάνατο. Εναλλακτικά, μπορεί κάποιοι παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο να παρεμβαίνουν στα σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση και την κινητοποίηση των CD34⁺/KDR⁺ (πίνακας 3).

Πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με ΟΣΣ απέδειξε πως τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια των ασθενών αλληλεπιδρούν με τα κυκλοφορούντα CD34⁺, με αποτέλεσμα

να δημιουργούνται συσσωματώματα.⁶⁶ Συγκεκριμένα, τα επίπεδα των αιμοπεταλίων-CD34⁺ είναι αυξημένα σε ασθενείς με OEM συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα, και επιπλέον τα επίπεδα αυτά εξαρτώνται και από την αντιαιμοπεταλιακή αγωγή που λαμβάνουν οι ασθενείς. Ασθενείς υπό ασπιρίνη ή υπό διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή (ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη) παρουσιάζουν σημαντικά μειωμένα επίπεδα αιμοπεταλίων-CD34⁺.⁶⁶

Σε αντίθεση με όσα προαναφέραμε, υπάρχουν μελέτες που παρουσιάζουν αντίθετα αποτελέσματα με τα παραπάνω, δηλαδή ότι τα επίπεδα των CD34⁺/KDR⁺ είναι αυξημένα στους ασθενείς με ΟΣΣ. Παρατηρείται λοιπόν πως οι μέχρι τώρα κλινικές μελέτες παρουσιάζουν αντιφατικά αποτελέσματα για τα επίπεδα των κυκλοφορούντων CD34⁺ σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο, και για τον λόγο αυτόν το φαινόμενο χρήζει περαιτέρω μελέτης. Επίσης θα πρέπει να διερευνηθεί περισσότερο η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα CD34⁺ κύτταρα στους ασθενείς αυτούς.

8. Συμπεράσματα

Το πρώτο βήμα στην αιμόσταση και τη θρόμβωση είναι η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο διερρηγμένο αγγείο. Κατά την προσκόλλησή τους τα αιμοπετάλια εκκρίνουν ή εκφράζουν στη μεμβράνη τους ποικίλα προ-φλεγμονώδη μόρια και χημειοκίνες, οι οποίες ρυθμίζουν την αλληλεπίδρασή τους με τους διάφορους τύπους λευκοκυττάρων καθώς και με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν πως τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν και με τα πρόδρομα CD34⁺, διαφοροποιώντας τα σε ενδοθηλιακά κύτταρα, και με τον τρόπο αυτόν συμμετέχουν στην αναγέννηση του ενδοθηλίου. Σημαντικό ρόλο στην προσέλευση των CD34⁺ στην περιοχή της αγγειακής βλάβης διαδραματίζει η έκκριση της χημειοκίνης SDF-1α από τα αιμοπετάλια. Επιπλέον, τα μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων φαίνεται πως ενισχύουν τη στρατολόγηση των CD34⁺ στην περιοχή της αγγειακής βλάβης, καθώς και τη διαφοροποίησή τους σε ενδοθηλιακά κύτταρα.

Από κλινικής άποψης, αν και τα επίπεδα των CD34⁺ φαίνονται αυξημένα στα ΟΣΣ ενώ είναι μειωμένα στους ασθενείς με ΣΣΝ, η συμβολή τους στην παθοφυσιολογία της νόσου αλλά και η κλινική σημασία της ανίχνευσης των επιπέδων τους καθώς και του προσδιορισμού των αλληλεπιδράσεων με τα αιμοπετάλια στο περιφερικό αίμα, χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση.

Η πλήρης κατανόηση του μηχανισμού της αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με τα πρόδρομα CD34⁺ θα συμβάλει στην περαιτέρω κατανόηση του μηχανισμού

Πίνακας 3. Τα επίπεδα των πρόδρομων CD34⁺ κυττάρων στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

Μελέτη	Ασθενείς	CD34 ⁺
Wojakowski W et al 2004	OEM	↑
Shintani S et al 2001	OEM	↑
Stellos K et al 2013	OEM	↑
Massa M et al 2005	OEM	↑
Eizawa T et al 2004	ΣΣΝ	↓

της αναγέννησης του αγγειακού τοιχώματος, και στην πρόληψη του σχηματισμού του θρόμβου, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις ασθενών με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο.

Βιβλιογραφία

- Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Badimon JJ. Atherothrombosis: A widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J* 2004, 25:1197–1207
- Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol* 2002, 90:40L–48L
- Weiss N, Keller C, Hoffman U et al. Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia. *Vasc Med* 2002, 7:227–239
- Willoughby S, Holmes A, Loscalzo J. Platelets and cardiovascular disease. *Eur J Cardiovasc Nurs* 2002 1:273–288
- Schrader BJ, Berk SI. Antiplatelet agents in coronary artery disease. *Clin Pharm* 1990, 9:118–124
- Kahn ML. Platelet-collagen responses: molecular basis and therapeutic promise. *Semin Thromb Hemost* 2004, 30:419–425
- Massberg S, Schurzinger K, Lorenz M et al. Platelet adhesion via glycoprotein IIb integrin is critical for atheroprotection and focal cerebral ischemia: an *in vivo* study in mice lacking glycoprotein IIb. *Circulation* 2005, 112:1180–1188
- Massberg S, Gawaz M, Gruner S et al. A crucial role of glycoprotein VI for platelet recruitment to the injured arterial wall *in vivo*. *J Exp Med* 2003, 197:41–49
- Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002, 8:1227–1234
- Schulz C, Penz S, Hoffmann C et al. Platelet GPVI binds to collagenous structures in the core region of human atherosclerotic plaque and is critical for atheroprotection *in vivo*. *Basic Res Cardiol* 2008, 103:356–67
- Celik S, Langer H, Stellos K et al. Platelet-associated LIGHT (TNFSF14) mediates adhesion of platelets to human vascular endothelium. *Thromb Haemost* 2007, 98:798–805
- Nieswandt B, Brakebusch C, Bergmeier W et al. Glycoprotein VI but not alpha2beta1 integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J* 2001, 20:2120–2130
- Nieswandt B, Watson SP. Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood* 2003, 102:449–461
- Arya M, Lopez JA, Romo GM et al. Glycoprotein Ib-IX-mediated activation of integrin alpha (IIb)beta (3): effects of receptor clustering and von Willebrand factor adhesion. *J Thromb Haemost* 2003, 1:1150–1157
- Kasirer-Friede A, Ware J, Leng L et al. Lateral clustering of platelet GP Ib-IX complexes leads to up-regulation of the adhesive function of integrin alpha IIb beta 3. *J Biol Chem* 2002, 277:11949–11956
- von Hundelshausen P, Weber KS, Huo Y et al. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation* 2001, 103:1772–1777
- Pitsilos S, Hunt J, Mohler ER et al. Platelet factor 4 localization in carotid atherosclerotic plaques: correlation with clinical parameters. *Thromb Haemost* 2003, 90:1112–1120
- Henn V, Slupsky JR, Grafe M et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998, 391:591–594
- Jurasz P, Chung AW, Radomski A et al. Nonremodeling properties of matrix metalloproteinases: the platelet connection. *Circ Res* 2002, 90:1041–1043
- Lam FW, Burns AR, Smith CW et al. Platelets enhance neutrophil transendothelial migration via P-selectin glycoprotein ligand-1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011, 300:468–475
- Gawaz M, Brand K, Dickfeld T et al. Platelets induce alterations of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1-dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis* 2000, 148:75–85
- Boring L, Gosling J, Cleary M et al. Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 1998, 394:894–897
- Solpov A, Shenkman B, Vitkovsky Y et al. Platelets enhance CD4⁺ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: role of platelet aggregation, integrins and non-integrin receptors. *Thromb Haemost* 2006, 95:815–21
- Morrell CN, Sun H, Swaim AM et al. Platelets an inflammatory force in transplantation. *Am J Transplant* 2007, 7:2447–2454
- McEver RP. Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb Haemost* 2001, 86:746–756
- Evangelista V, Manarini S, Sideri R et al. Platelet/polymorphonuclear leukocyte interaction: P-selectin triggers protein-tyrosine phosphorylation-dependent CD11b/CD18 adhesion: role of PSGL-1 as a signaling molecule. *Blood* 1999, 93:876–885
- Htun P, Fateh-Moghadam S, Tomandl B et al. Course of platelet activation and platelet-leukocyte interaction in cerebrovascular ischemia. *Stroke* 2006, 37:2283–2287
- Langer HF, Daub K, Braun G et al. Platelets recruit human dendritic cells via Mac-1/JAM-C interaction and modulate dendritic cell function *in vitro*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007, 27:1463–1470
- Frenette PS, Denis CV, Weiss L et al. P-Selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions *in vivo*. *J Exp Med* 2000, 191:1413–1422
- Yang J, Furie BC, Furie B. The biology of P-selectin glycoprotein ligand-1: its role as a selectin counterreceptor in leukocyte-endothelial and leukocyte-platelet interaction. *Thromb Haemost* 1999, 81:1–7
- Simon DI, Chen Z, Xu H et al. Platelet glycoprotein Iba1 is a counter-receptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18). *J Exp Med* 2000, 192:193–204
- Santoso S, Sachs UJ, Kroll H et al. The junctional adhesion molecule 3 (JAM-3) on human platelets is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1. *J Exp Med* 2002, 196:679–691
- Daub K, Langer H, Seizer P et al. Platelets induce differentiation of human CD34⁺ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. *FASEB J* 2006, 20:2559–2561
- Chatterjee M, Gawaz M. Platelet-derived CXCL12 (SDF-1a): basic mechanisms and clinical implications. *JTH* 2013, 11:1954–1967
- Massberg S, Konrad I, Schurzinger K et al. Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi *in vivo*. *J Exp Med* 2006, 203:1221–1233
- Cerletti C, Tamburrelli C, Izzi B et al. Platelet-leukocyte interactions in thrombosis. *Thromb Res* 2012, 129:263–266
- Chung AWY, Radomski A, Alonso-Escolano D. Platelet-leukocyte aggregation induced by PAR agonists: regulation by nitric

- oxide and matrix metallo-proteinases. *Br J Pharmacol* 2004, 143: 845–855
38. Ehlers R, Ustinov V, Chen Z et al. Targeting platelet-leukocyte interactions: identification of the integrin Mac-1 binding site for the platelet counter receptor glycoprotein Ibalpha. *J Exp Med* 2003, 198:1077–1088
 39. Diacovo TG, Roth SJ, Buccola JM et al. Neutrophil rolling, arrest, and transmigration across activated, surface-adherent platelets via sequential action of P-selectin and the beta 2-integrin CD11b/CD18. *Blood* 1996, 88:146–157
 40. Weyrich AS, Elstad MR, McEver RP et al. Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes. *J Clin Invest* 1996, 97:1525–1534
 41. Bournazos S, Rennie J, Hart SP et al. Monocyte functional responsiveness after PSGL-1-mediated platelet adhesion is dependent on platelet activation status. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008, 28:1491–1498
 42. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M et al. Platelets and wound healing. *Front Biosci* 2008, 13:3532–3548
 43. Pintucci G, Froum S, Pinnell J et al. Trophic effects of platelets on cultured endothelial cells are mediated by platelet-associated fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Thromb Haemost* 2002, 88:834–842
 44. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets* 2001, 12:261–273
 45. Jiménez B, Volpert OV, Crawford SE et al. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nat Med* 2000, 6:41–48
 46. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009, 23:177–189
 47. Ma L, Perini R, McKnight W et al. Proteinase-activated receptors 1 and 4 counter-regulate endostatin and VEGF release from human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102:216–220
 48. Mackie AR, Losordo DW. CD34-positive stem cells: in the treatment of heart and vascular disease in human beings. *Tex Heart Inst J* 2011, 38:474–485
 49. Stellos K, Gnerlich S, Kraemer B et al. Platelet interaction with progenitor cells: vascular regeneration or inquiry. *Pharmacol Rep* 2008, 60:101–108
 50. Stellos K, Gawaz M. Platelet interaction with progenitor cells: potential implications for regenerative implications. *Thromb Haemost* 2007, 98:922–929
 51. Pascucci L, Mercati F, Gargiulo AM, CD34 glycoprotein identifies putative stem cells located in the isthmus region of canine hair follicles. *Vet Dermatol* 2006, 17(4):244–251
 52. Nielsen JS, McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J Cell Sci* 2008, 5:3683–3692
 53. Furness SG, McNagny K. Beyond mere markers: functions for CD34 family of sialomucins in hematopoiesis. *Immunol Res* 2006, 34:13–32
 54. Stellos K, Bigalke B, Stakos D et al. Platelet-bound P-selectin expression in patients with coronary artery disease: impact on clinical presentation and myocardial necrosis, and effect of diabetes mellitus and anti-platelet medication. *J Thromb Haemost* 2010, 8:205–207
 55. Jin DK, Shido K, Kopp HG et al. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4⁺ hemangiocytes. *Nat Med* 2006, 12:557–567
 56. de Boer HC, Hovens MM, van Oeveren-Rietdijk AM et al. Human CD34⁺/KDR⁺ cells are generated from circulating CD34⁺ cells after immobilization on activated platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011, 31:408–415
 57. Stellos K, Langer H, Daub K et al. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34⁺ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation* 2008, 117:206–215
 58. Stellos K, Langer H, Gnerlich S et al. Junctional adhesion molecule A expressed on human CD34⁺ cells promotes adhesion on vascular wall and differentiation into endothelial progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010, 30:1127–1136
 59. Stellos K, Panagiota V, Gnerlich S et al. Expression of junctional adhesion molecule-C on the surface of platelets supports adhesion, but not differentiation, of human CD34 cells *in vitro*. *Cell Physiol Biochem* 2012, 29:153–162
 60. Abou-Saleh H, Yacoub D, Théorêt JF et al. Endothelial progenitor cells bind and inhibit platelet function and thrombus formation. *Circulation* 2009, 120:2230–2239
 61. Janowska-Wieczorek A, Majka M, Kijowski J et al. Platelet-derived microparticles bind to hematopoietic stem/progenitor cells and enhance their engraftment. *Blood* 2001, 98:3143–3149
 62. Mause SF, Ritzel E, Liehn EA et al. Platelet microparticles enhance the vasoregenerative potential of angiogenic early outgrowth cells after vascular injury. *Circulation* 2010, 122:495–506
 63. Prokopi M, Pula G, Mayr U et al. Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell cultures. *Blood* 2009, 114:723–32
 64. Massa M, Rosti V, Ferrario M et al. Increased circulating hematopoietic and endothelial progenitor cells in the early phase of acute myocardial infarction. *Blood* 2005, 105:199–206
 65. Stellos K, Bigalke B, Langer H et al. Expression of stromal-cell-derived factor-1 on circulating platelets is increased in patients with acute coronary syndrome and correlates with the number of CD34⁺ progenitor cells. *Eur Heart J* 2009, 30:584–593
 66. Stellos K, Bigalke B, Borst O et al. Circulating platelet-progenitor cell coaggregate formation is increased in patients with acute coronary syndromes and augments recruitment of CD34⁺ cells in the ischaemic microcirculation. *Eur Heart J* 2013, 34:2548–2256
 67. Wojakowski W, Tendera M, Michalowska A et al. Mobilization of CD34/CXCR4⁺, CD34/CD117⁺, c-met⁺ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004, 110:3213–3220
 68. Shintani S, Murohara T, Ikeda H et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001, 103:2776–2779
 69. Eizawa T, Ikeda U, Murakami Y et al. Decrease in circulating endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. *Heart* 2004, 90:685–686
 70. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001, 89:E1–7
 71. Fadini GP, Coracina A, Baesso I et al. Peripheral blood CD34⁺KDR⁺ endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population. *Stroke* 2006, 37:2277–2282

Ημερομηνία Υποβολής 19/11/2013

Ημερομηνία Έγκρισης 13/12/2013