

İNTEGRİN AIIBB3 (GPIIB-IIIA)'NIN AGREGASYONDAKİ ROLÜ

Ercan GENCER¹, Gülriz ERİŞGEN²

¹ *Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı,*

² *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı*

İletişim/Sorumlu yazar: Ercan Gencer

e-mail: ercangencer@gmail.com

Telefon: GSM: 0532 701 8212 – İş: 0372 261 3263

Fax: 0372 261 0264

Adres: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Dekanlık
Binası Kat:2 Esenköy/Kozlu/Zonguldak-Türkiye

İNTEGRİN AIIBB3 (GPIIB-III A)'NIN AGREGASYONDAKİ ROLÜ

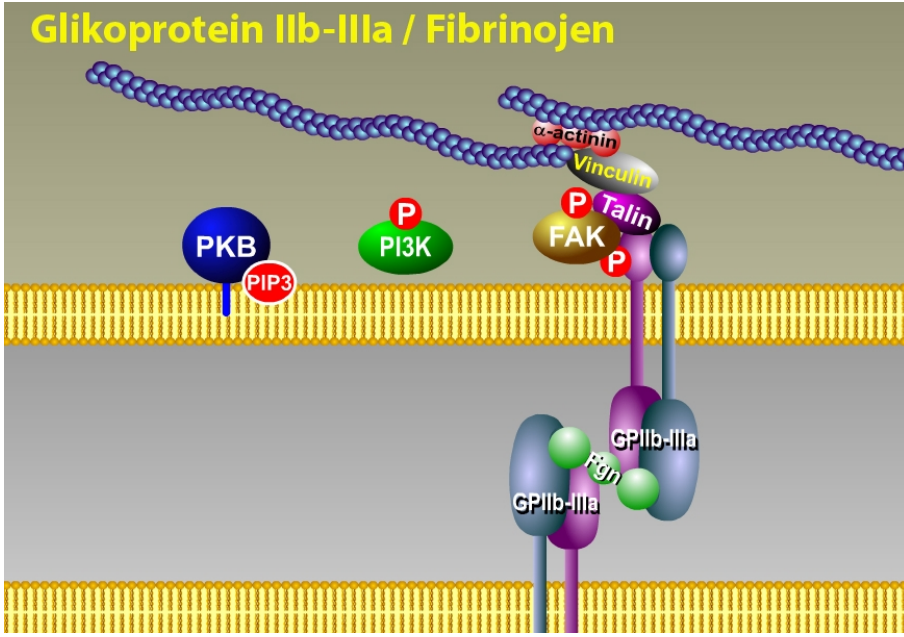
Özet

Trombositlerin aktivasyonu sonucunda trombositlerin birbirine eklenmesiyle trombosit agregasyonu gerçekleşir. ADP gibi agonistlerin trombosit ve hasarlı damar tarafından salınmasından sonra, trombositler şekil değişikliğine uğrar ve GPIIb-IIIa (α IIB β 3) reseptör bölgeleri açığa çıkar. Bu süreçteki ana trombosit reseptörü GPIIb/IIIa'dır. Fibrinojen köprüleri sayesinde aktif trombositler birbirlerine bağlanır. Trombositin uyarılması, granül egzozitozu ile GPIIb/IIIa moleküllerinin yüzeye yerleşmesinde artışa ve GPIIb/IIIa aktivasyonuna yol açar. α IIB β 3'ün trombosit agregasyonuna aracılık etmedeki anahtar rolü ve önceki yıllarda bu rolün blokajının agregasyon yanıtını inhibe ettiğinin gösterilmiş olması bu reseptörü antitrombotik tedavi için hedef haline getirmiştir. α IIB β 3'ün hücre dışı parçasında oluşan yapısal değişiklikler, ligandlara ilgisini artırır. İntegrin reseptörlerindeki affinite düzenlenmesini içeren değişiklikler kendiliğinden gelişir. Trombositin agonist ile uyarılmasından sonra başlayan olaylar "iç-dış" sinyalizasyon olarak değerlendirilir. α IIB β 3 ile tetiklenen sinyaller bir dizi moleküler ve hücrenel olayları başlatır. Ligand α IIB β 3'ten çıkan sinyaller "dış-iç" sinyalizasyon olarak tanımlanır. Primer gevşek agregasyon iç-dış sinyalizasyona bağımlı iken, sekonder sıkı agregasyon "dış-iç" sinyalizasyona bağımlıdır.

Trombosit agregasyonu trombositlerin hemostatik plak içinde birikmesiyle karakterizedir. Bu süreçteki ana trombosit reseptörü olan GPIIb/IIIa, fibrinojen köprüleri sayesinde aktif trombositlere bağlanır. Dinlenimdeki trombosit yüzeyinde, $4-5 \cdot 10^4$ GPIIb/IIIa kompleksi bulunur. İnaktif durumda bu kompleks plazma fibrinojeni, vWF, TSP, fibronektin veya vitronektin gibi ligandlara bağlanamaz. Trombositin uyarılması, granül egzozitozu yolu ile GPIIb/IIIa

moleküllerinin yüzeye ekspozisyonunda artışa, GPIIb/IIIa aktivasyonuna yol açar ve ligandlara bağlanmasını kolaylaştırır. Diğer yandan uyarılmış trombositler üzerindeki immobil fibrinojen, GPIIb/IIIa'nın adeziv substratı olarak çalışır, primer agregasyonun artışına yol açar (1). GPIIb/IIIa ve ligandının etkileşimi sıkı bağlanma ile sonuçlanan yapısal değişiklikler ile birlikte. GPIIb/IIIa'ya bağlanan ligand, sitoplazmik GPIIIa zincirinin tirozinlerinin fosforilasyonuna yol açarak yapısal değişiklikleri indükler (2). Fibrinojen, trombosit-trombosit temasının hemen başında diskoid trombositte bağlanır. Yüksek makaslama durumunda, trombosit aktivasyon/agregasyonu makaslamanın kendisi ile de indüklenebilir. Burada, trombositler ilk olarak GPIIb/V/IX kompleksi yoluyla vWF'e bağlanır (3). Bu etkileşim GPIIb/IIIa'nın (iç-dış sinyalizasyon) aktivasyonuna yol açar ve stabil vWF-aracılı trombosit agregatlarına dönüşümüne yol açar (4).

Moleküler düzeyde, trombosit agregasyonu, trombosit yüzeyindeki spesifik bir reseptörle, integrin ailesinden olan α IIB β 3 (GP IIB-IIIa) ile düzenlenir (5). İntegrinler hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerine aracılık eden adezyon molekülleri ailesidir. İki adet β 3 integrin vardır: α IIB β 3 ve α V β 3. Aynı β alt birimini paylaşırlar ve α alt birim sırası %36 aynıdır. α IIB β 3 ve α V β 3'nin her ikisi de trombositlerde ekspresse edilirler (6). α IIB β 3, trombositler, megakaryositler ve bazı tümör hücrelerinde sınırlı olmasına karşın α V β 3; endotel hücreleri, lökositler, düz kas hücreleri ve birçok tümör hücresinde olmak üzere daha yaygın olarak ekspresse edilirler (7,8). Trombositlerde α IIB β 3 majör integral plazma proteindir (Şekil 1). Trombosit granül membranı α IIB β 3 içerir ve bu havuz trombosit stimülasyonu ile fonksiyonel ve ulaşılabilir hale gelir (9). Tüm integrinler gibi α IIB β 3, 2 subünitin non kovalan olarak 1:1 kompleks oluşturmak üzere birleşmesi ile oluşan α/β heterodimeridir. Her subünit geniş ekstrasellüler bölge, transmembran bölge ve kısa sitoplazmik kuyruktan oluşur (10). α IIB β 3, ekstrasellüler matriks proteinleri olan fibrinojen, vitronektin, TSP-1 ve vWF 'yi içeren birçok liganda bağlanabilir. α IIB β 3, birçok liganda bulunan ve diğer integrinler tarafından da tanınan Arg-Gly-Asp (RGD) peptid sekansını tanır (10).

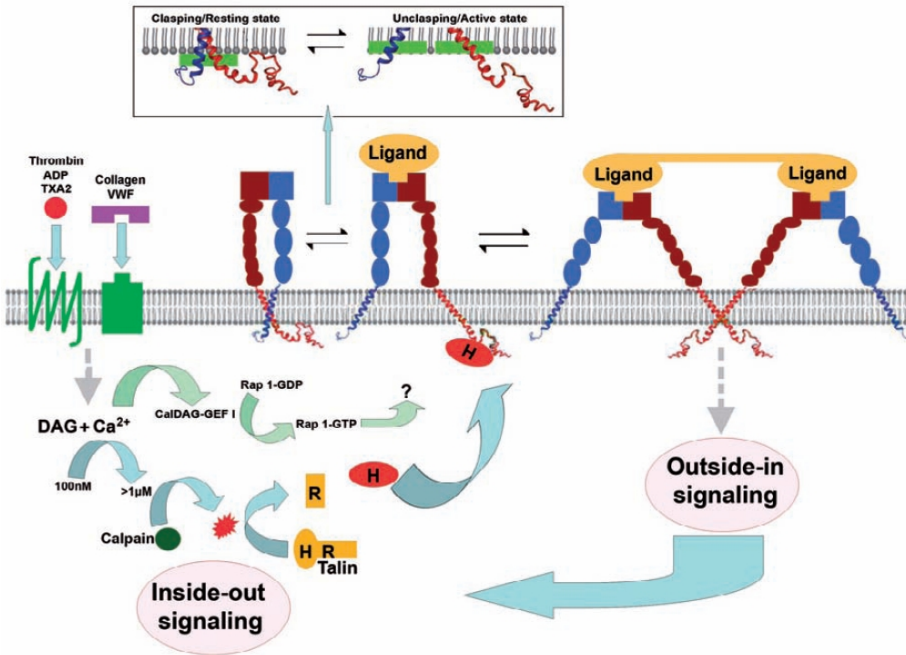


Şekil 1: Agregasyonda İntegrin α IIB β 3 (GPIIb-IIIa) - α IIB β 3 etkileşimi. (Kaynak 12'den değiştirilerek alınmıştır).

İntegrin α IIB β 3'nin fonksiyonuna esas oluşturan, aktivasyona geçebilmesidir. Ekstrasellüler ligandları için düşük affinite durumundan (dinlenme durumu) yüksek affinite durumuna (aktif durum) geçebilir. α IIB β 3'ün bu transformasyonu, trombositler arasında agregat oluşturmak için köprü molekülü olarak hareket eden fibrinojen veya vWF'ün bağlanmasına izin verir (13). Vitronektin, fibronektin ve trombospodin gibi diğer ligandların α IIB β 3 tarafından tanınması, trombositlerin subendotel matrikse adezyonuna aracılık etmelerini ve trombosit agregasyonunu regüle etmelerini sağlar (3,14). α IIB β 3'ün trombosit agregasyonuna aracılık etmedeki anahtar rolü ve önceki yıllarda bu rolün blokajının agregasyon yanıtını inhibe ettiğinin gösterilmiş olması bu reseptörü antitrombotik tedavi için hedef haline getirmiştir (15). Klinikte, intravenöz antikor, peptid ve nonpeptid türevleri α IIB β 3 antagonisti olarak, trombosit agregasyonunun inhibisyonu için kullanılmaktadır. Bu tedavi, perkütan koroner girişimlerde ve akut koroner sendromda tromboz gelişimini engellemede yaygın şekilde uygulanmaktadır (16).

“İç-Dış” Sinyalizasyon ve α IIB β 3 aktivasyonu

α IIB β 3'ün ekstrasellüler parçasında oluşan konformasyonel değişiklikler, ligandlara affinitesini artırır. İntegrin reseptörlerindeki affinite düzenlenmesini içeren değişiklikler kendiliğindedir ve hücrenin agonist ile uyarılmasından sonra başlayan olaylar “iç-dış” sinyalizasyon olarak değerlendirilir (17,18) (Şekil 2).



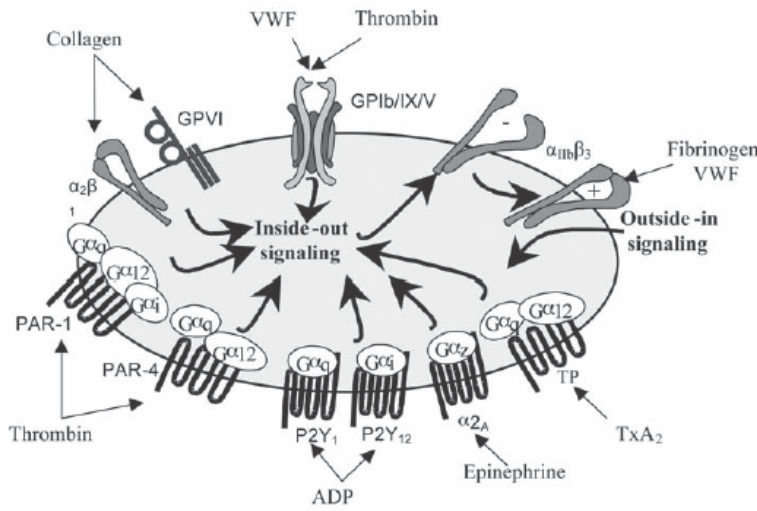
Şekil 2: İç-dış sinyalizasyon ve “clinging/unclinging” modeli (Kaynak 19’den değiştirilerek alınmıştır).

Trombosit adezyonu, G-aracılı reseptörlerin bağlanması veya forbol miristat, kalsiyum iyonofor gibi model agonistlerle “inside-out” sinyalizasyon başlatılabilir. α IIB β 3 aktivasyonunun önemli başlatıcıları kollajen ve vWF vasküler hasardan sonra subendotel matrikste ortaya çıkarlar. Polimerik kollajen, trombositlerdeki GPVI’ya bağlanır ve GPVI’nın kümelenmesine neden olur. Fc reseptör γ zinciri, fosfolipaz C’yi (PLC) Syk ile aktive eder (20,21). Aktif PLC γ , fosfatidil inositol -4,5 bifosfatı (PIP₂) IP₃ ve diaçilgliserol (DAG) oluşturmak üzere hidrolize eder. IP₃ Ca’u mobilize eder. DAG protein fosforilasyon olaylarını başlatan protein kinaz C’yi (PKC) aktive eder. Bu süreç

α 2 β 1'e eş zamanlı olarak bağlanan kollajen ile desteklenir (22). α IIb β 3 aktivasyonu makaslama stresi ile indüklenen GPIb-IX-V kompleksine vWF bağlanması ile de başlatılabilir (23).

Diğer önemli agonistler; trombin, ADP ve TXA₂, vasküler hasarın mikro çevresinde ve trombüs gelişiminde hızlıca üretilir. Trombin esas olarak trombositleri PAR ailesi üyeleri aracılığı ile aktive eder. PAR-1 ve PAR-4 insan trombositlerinde ekspresse edilirler. Aktivasyon trombin PAR'lara bağlandığında ve onları ayırdığında oluşur (24). Üç ADP reseptörü P2Y1, P2Y12 ve P2X1, trombositlerde tanımlanmıştır ve ADP ile optimal trombosit aktivasyonu için gereklidir (25). P2Y1, α IIb β 3 aktivasyonu, adenil siklaz inhibisyonu ve trombosit agregasyonunun stabilizasyonu ile ilgilidir. TXA₂'nin reseptörleri TP α ve TP β tanımlanmıştır (26). Bu agonistleri tanıyan tüm membran proteinleri, G protein bağlı reseptörlerdir. Bunların bağlanması, trombositlerde bir diğer PLC izoformu olan PLC β 'nin aktivasyonuna yol açar. Bir kez aktive olduğunda PLC β , PIP2'yi, sırasıyla Ca²⁺u artıran ve PKC'yi aktive eden IP3 ve DAG'a hidrolize eder. Burada tanımlanan her uyarıcı, α IIb β 3 aktivasyonuna yol açan "inside-out" sinyalizasyonu başlatabilmesinin yanı sıra fizyolojik düzenlemelerde işbirliği yapar. Birçok uyarıcı α IIb β 3'ü aktive etmek için sinerjistik olarak çalışır. Birçok olası senaryolardan birine göre; endotelyumun hasarlanması kollajeni açığa çıkarır, kollajen reseptörlerinin bağlanmasını sağlayan türbülant makaslama sonuçlanır ve trombositler üzerindeki GPIb-IX-V'ye vWF bağlanmasını destekler. Bu reseptörlerle indüklenen sinyalizasyon, α IIb β 3 aktivasyonu ve trombüs formasyonunun başlatılmasına yol açar. Trombositler agregate olunca TXA₂ ve ADP içeren içeriklerini salgırlar. Bu agonistler dolaşan trombositler üzerinde α IIb β 3'ü aktive ederler, trombositlerin gelişen trombüste toplanmalarına yol açar. Bu olaylar, doku faktörünün (tF) ekspresse olmaya başladığı intrinsek koagülasyon yolunun başladığı vasküler hasarın mikro çevresinde olur. Oluşan trombin, α IIb β 3 aktivasyonu ile daha büyük trombüs oluşumuna yol açar (27).

Agonistlerle indüklenen ortak olay bir veya daha fazla PLC izoformunun aktivasyonu suretiyle sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunun artması ve PKC'nin aktive olmasıdır. Dinlenimdeki trombositlerde, Ca^{+2} yaklaşık olarak 100nM düzeylerinde korunur, trombosit aktivasyonu üzerine 1 μ M'ü aşabilir. Trombositlerdeki mikromolar Ca^{+2} düzeyleri, kalpain aktivasyonunu da içeren birçok olayı büyük ölçüde düzenler. PKC, α IIB β 3 aktivasyonu için gerekli olan serin/treonin fosforilasyon olaylarını düzenler (28). Trombosit aktivasyonunda yer alan reseptör ve ligandlar Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3: Önemli reseptör ligand etkileşimleri. (Kaynak 29'dan değiştirilerek alınmıştır).

İntegrin α IIB β 3 ile Dış-İç Sinyalizasyon

Trombositin kollajen, vWF gibi ekstrasellüler matris komponentleri ile temasıyla ve ADP ve trombin gibi uyarıcı agonistlerin ortaya çıkmasıyla trombosit aktivasyonu tetiklenir. GPIIb-IIIa (İntegrin α IIB β 3), iç-dış sinyalizasyon olarak bilinen süreç yoluyla başlangıç aktivasyon olaylarında temel yoldur. α IIB β 3'nin aktivasyonu ile birlikte yapısal değişiklikler, ligandların özellikle fibrinojen ve vWF ile yüksek affinite ile etkileşimine olanak sağlar, trombositlerin yayılmasına ve agregasyonuna yol açar. α IIB β 3 ile tetiklenen sinyaller bir dizi moleküler ve hücrel olayları başlatır; hücre iskeleti reorganizasyonu, geniş trombosit agregatlarının formasyonu ve stabilizasyonu, sekresyon, prokoagülan yüzeyin gelişimi ve pıhtı retraksiyonu gibi ligand bağlanma sonrası temel olayları tetikleyebilir. Ligand α IIB β 3'ten çıkan sinyaller "dış-iç" sinyalizasyon olarak

tanımlanır. Primer reverzible agregasyon "inside-out" sinyalizasyona bağımlıdır, sekonder irreversible agregasyon "outside-in" sinyalizasyona bağımlıdır (30).

Kaynaklar

1. Lüscher EF, Weber A. The formation of the haemostatic plug—a special case of platelet aggregation. An experiment and a survey of the literature. *Thromb Haemost* 1993;70:234– 237.
2. Payrastra B, Missy K, Trumel C, Bodin S, Plantavid M, Chap H. The integrin alpha IIb/beta 3 in human platelet signal transduction. *Biochem Pharmacol* 2000;60:1069–1074.
3. Morgenstern E, Kehrel BE, Matzdorff A, et al. How do platelets aggregate? [abstract]*Ann Hematol* 2001;80:48.
4. Ruggeri ZM. Mechanisms of shear-induced platelet adhesion and aggregation. *Thromb Haemost* 1993;70:119–123.
5. Plow EF, Byzova T. The biology of glycoprotein IIb-IIIa. *Coron Artery Dis.* 1999 Dec;10(8):547-51.
6. Smith JW, Piotrowicz RS, Mathis D. A mechanism for divalent cation regulation of beta 3-integrins. *J Biol Chem.* 1994 Jan 14;269(2):960-7.
7. Uzan G, Prenant M, Prandini MH, Martin F, Marguerie G. Tissue-specific expression of the platelet GPIIb gene. *J Biol Chem.* 1991 May 15;266(14):8932-9.
8. Cheresh DA. Structural and biologic properties of integrin-mediated cell adhesion. *Clin Lab Med.* 1992 Jun;12(2):217-36.
9. Wencel-Drake JD, Plow EF, Kunicki TJ, Woods VL, Keller DM, Ginsberg MH. Localization of internal pools of membrane glycoproteins involved in platelet adhesive responses. *Am J Pathol.* 1986 Aug;124(2):324–334.
10. Xiao T, Takagi J, Collier BS, Wang JH, Springer TA. Structural basis for allostery in integrins and binding to fibrinogen-mimetic therapeutics. *Nature.* 2004 Nov 4;432(7013):59-67.
11. Ruoslahti E. RGD and other recognition sequences for integrins. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1996;12:697-715.
12. Platelet Research Laboratory. Last update: February 22, 2009. (<http://www.platelet-research.org>)
13. Savage B, Cattaneo M, Ruggeri ZM. Mechanisms of platelet aggregation. *Curr Opin Hematol.* 2001 Sep;8(5):270-6.

14. Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftus J, Smith JW. Ligand binding to integrins. *J Biol Chem.* 2000 Jul 21;275(29):21785-8.
15. Plow EF, Marguerie G. Inhibition of fibrinogen binding to human platelets by the tetrapeptide glycyl-L-prolyl-L-arginyl-L-proline. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982 Jun;79(12):3711-5.
16. Bhatt DL, Topol EJ. Current role of platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in acute coronary syndromes. *JAMA.* 2000 Sep 27;284(12):1549-58.
17. Shattil SJ, Ginsberg MH, Brugge JS. Adhesive signaling in platelets. *Curr Opin Cell Biol.* 1994 Oct;6(5):695-704.
18. Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science.* 1995 Apr 14;268(5208):233-9.
19. White JG. Platelets Structure. *Platelets*, Editor Alan D. Michelson, London, UK, Second Edition, 2007: 45-73
20. Nieswandt B, Watson SP. Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood.* 2003 Jul 15;102(2):449-61.
21. Falet H, Barkalow KL, Pivniouk VI, Barnes MJ, Geha RS, Hartwig JH. Roles of SLP-76, phosphoinositide 3-kinase, and gelsolin in the platelet shape changes initiated by the collagen receptor GPVI/FcR gamma-chain complex. *Blood.* 2000 Dec 1;96(12):3786-92.
22. Holtkotter O, Nieswandt B, Smyth N, Müller W, Hafner M, Schulte V, Krieg T, Eckes B. Integrin alpha 2-deficient mice develop normally, are fertile, but display partially defective platelet interaction with collagen. *J Biol Chem.* 2002 Mar 29;277(13):10789-94.
23. Chen J, López JA. Interactions of platelets with subendothelium and endothelium. *Microcirculation.* 2005 Apr-May;12(3):235-46.
24. Kahn ML, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, Farese RV Jr, Tam C, Coughlin SR. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature.* 1998 Aug 13;394(6694):690-4.
25. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, Yang RB, Nurden P, Nurden A, Julius D, Conley PB. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature.* 2001 Jan 11;409(6817):202-7.
26. Hirata T, Ushikubi F, Kakizuka A, Okuma M, Narumiya S. Two thromboxane A2 receptor isoforms in human platelets. Opposite coupling to adenylyl cyclase with different sensitivity to Arg60 to Leu mutation. *J Clin Invest.* 1996 Feb 15;97(4):949-56.

27. Abrams CS. Intracellular signaling in platelets. *Curr Opin Hematol.* 2005 Sep;12(5):401-5.
28. Saido TC, Shibata M, Takenawa T, Murofushi H, Suzuki K. Positive regulation of mu-calpain action by polyphosphoinositides. *J Biol Chem.* 1992 Dec 5;267(34):24585-90.
29. Rivera J, Lozano ML, Navarro-Núñez L, Vicente V. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica* 2009; 94:700-711.
30. Leng L, Kashiwagi H, Ren XD, Shattil SJ. RhoA and the function of platelet integrin α IIb β 3. *Blood.* 1998 Jun 1;91(11):4206-15.