

Receptorii trombocitari

Lucrare prezentată în cadrul celei de-a VI-a Conferințe naționale
a Societății Române de hemostază și tromboză 2019

Delia MUT-POPESCU

Președintele Comitetului Director SRHT

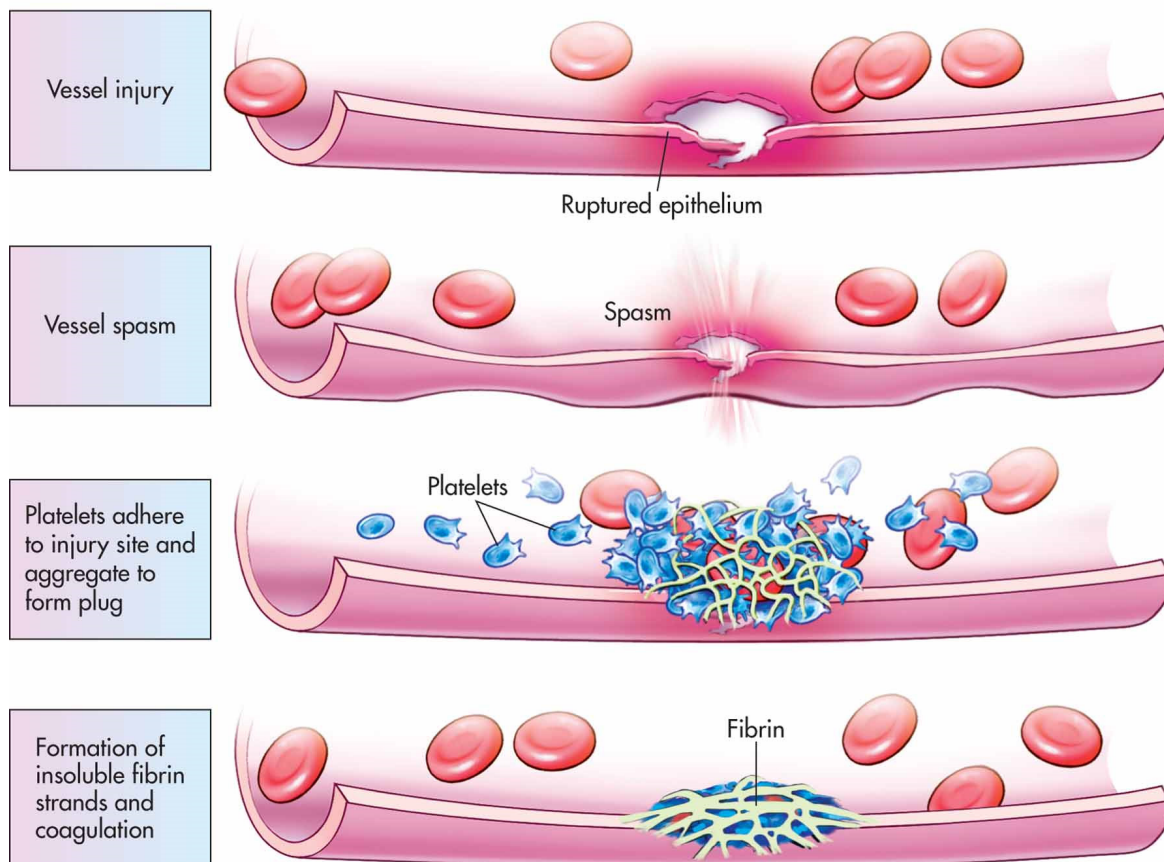
Trombocitele – hemostază sau tromboză?

Normal: trombocitele nu interacționează cu endoteliul vascular.

Leziune vasculară: contact direct → adera la breșa vasculară → agregă și formează dopul hemostatic → mărirea și consolidarea dopului prin intervenția factorilor coagularii → ajustarea dopului la dimensiunile breșei prin fibrinoliza și mecanismele inhibitorii trombocitare – HEMOSTAZA. Dopul

depășește mărimea breșei → tromb → obstrucție vasculară și ischemie tisulară – TROMBOZA

Trombocitele – matricea extracelulară din peretele vasului = *legătura mecano-senzitivă* ce ajustează activitatea și apoptoza trombocitelor



(Kee et al, 2015).

Receptorii trombocitari

- Preluare informații din micromediul circulant prin intermediul liganzilor.
- Transmiterea semnalului în citoplasmă → „decizii” privind intervenția în hemostază, tromboză, inflamație.

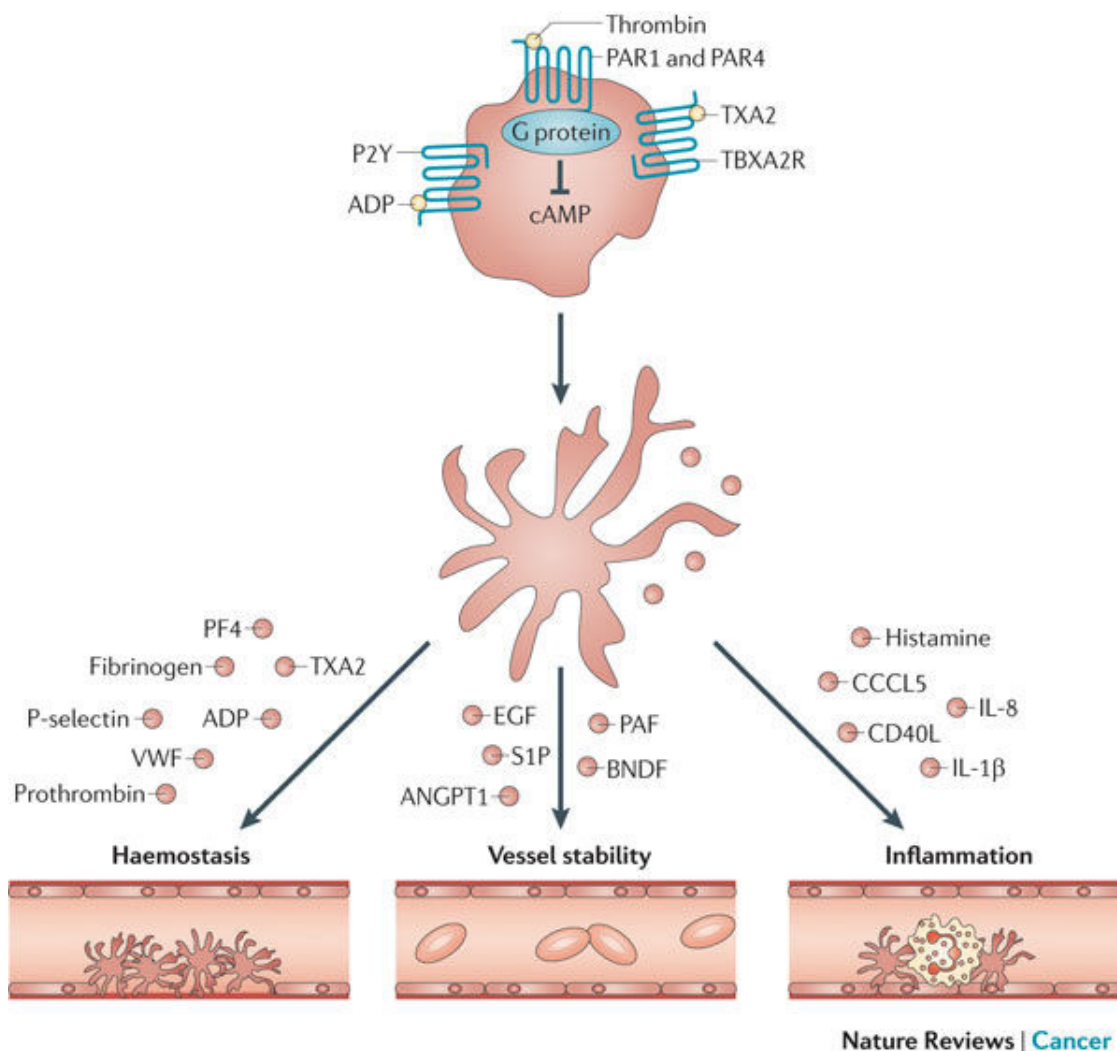
- *Procesul în care intervin:* hemostază, tromboză, proces imun.
- *Tipul de activitate:* stimulatorie/inhibitorie.

Criterii de clasificare a receptorilor trombocitari

- *Localizare:* de suprafață, intracitoplasmatici;
- *Teritoriu vascular:* predominant arterial sau venos;

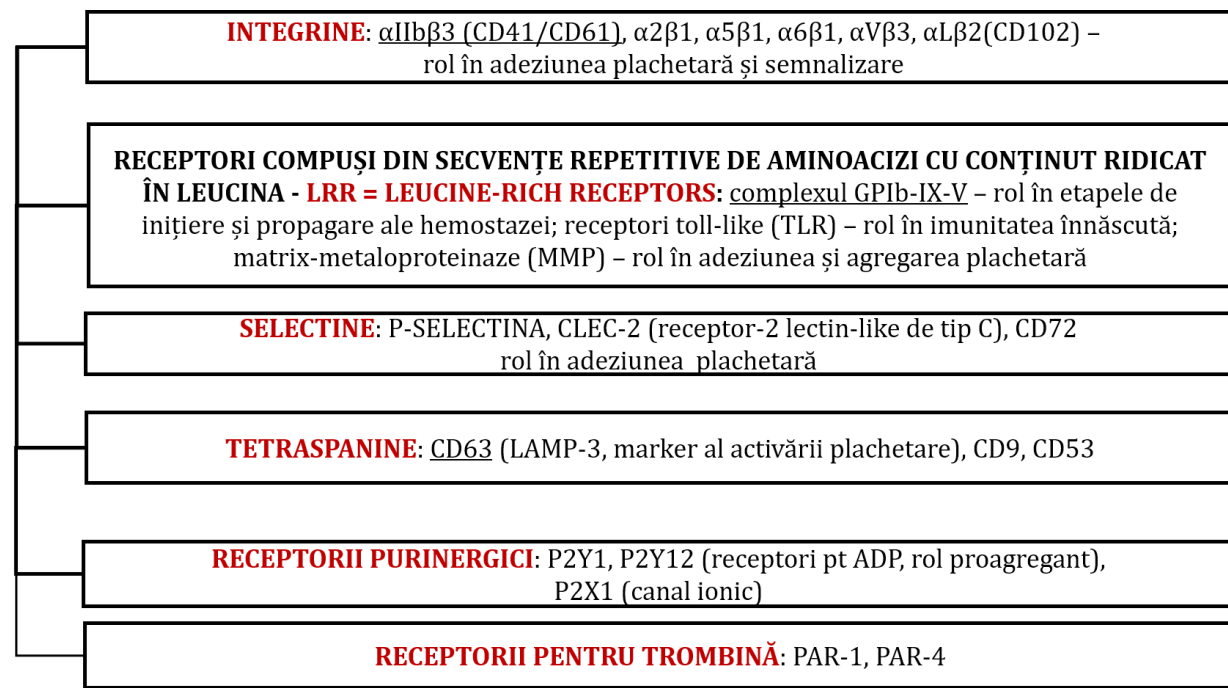
Beneficiile studierii receptorilor:

- Mecanismele medicamentelor antiagregante;
- Conservarea și utilizarea masei trombocitare.



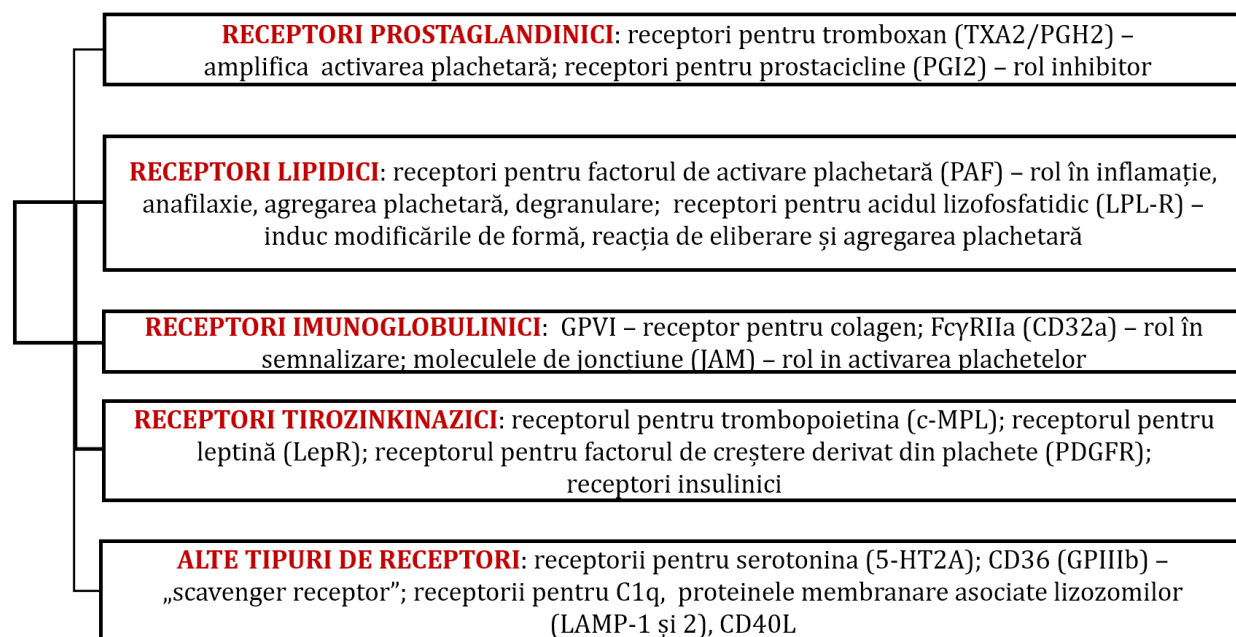
TIPURI DE RECEPTORI TROMBOCITARI – CLASIFICARE GENERALĂ

(I)



TIPURI DE RECEPTORI TROMBOCITARI – CLASIFICARE GENERALĂ

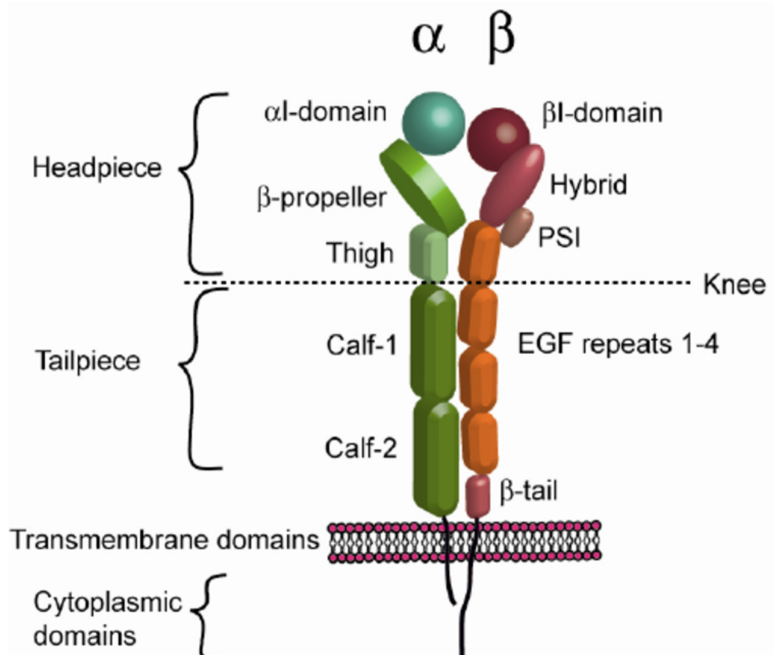
(II)



Integrinele

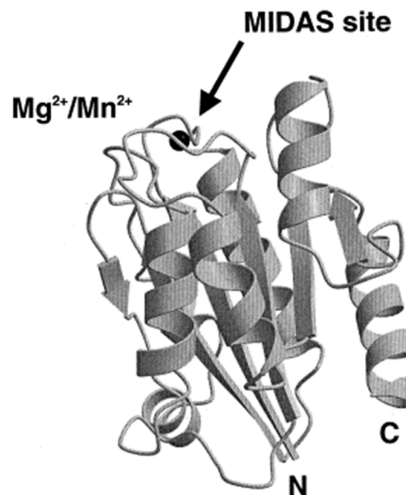
- Receptori transmembranari cu structura heterodimerică (α , β)
- Rol în adeziunea trombocitelor la peretele vascular lezat și agregare;
- Se activează prin atașarea liganzilor: fibrinogen, fibrină, fibronectină, collagen, FVW, laminine, trombospondina etc;

- 3 regiuni: ectodomeniu, domeniu transmembranar și domeniul citoplasmatic;
- Domeniile $\alpha I + \beta I \rightarrow$ atașarea ligandului;
- Domeniul citoplasmatic: scurt, se leagă de proteinele citoscheletului;
- PSI: potențial regulator al activării trombocitelor ce ar putea fi țintit terapeutic.



Activarea integrinelor

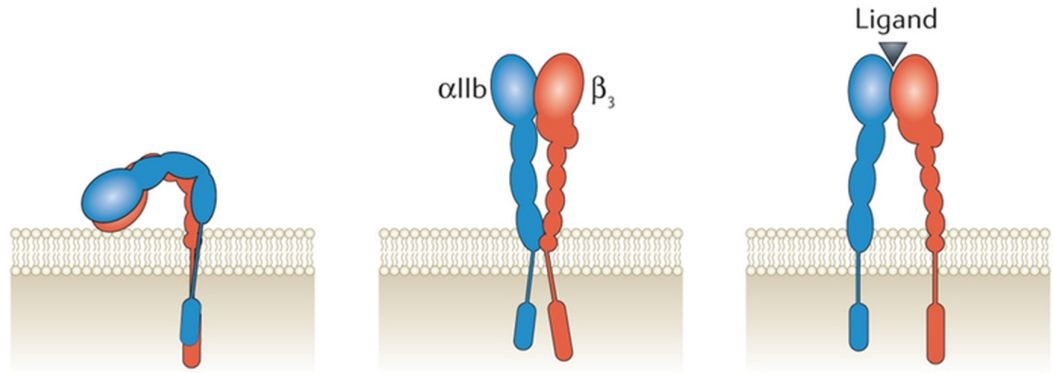
- Majoritatea integrinelor de pe suprafața trombocitului sunt normal inactive
- Funcția lor este reglată de diferiți cationi bivalenți: Mg^{2+} și Mn^{2+} favorizează activarea prin atașarea ligandului; Ca^{2+} acțiune bifazică - la concentrații mici stimulează legarea, la concentrații mari o inhibă.
- MIDAS = metal-ion dependent adhesion site - locul de atașare a ligandului la integrină



Consecințele activării integrinelor

- Integrinele transmit informația bidirecțional:
 - „outside -in”: de la matricea extracelulară în interiorul celulei în urma atașării ligandului;
 - „inside-out”: de la citoscheletul din citoplasma celulei la suprafață, modificând comportamentul celulei;

- *Stare inactivă*: ectodomeniu „îndoit”
- *Stare activă*: ectodomeniu „întins și deschis” → atașarea ligandului.



Affinity	Low	Intermediate	High
Conformation	Bent	Extended	Open
Outside-in signalling	No	No	Yes

Nature Reviews | Drug Discovery

Tipuri de integrine trombocitare

$\alpha_{IIb}\beta_3$ - cea mai abundentă integrină (80.000 – 100.000 copii/celulă) - leagă fibrinogenul, dar și FVW, fibronectina, trombospondina, vitronectina

- critică pentru *tromboza arterială*;
- deficit genetic $\alpha_{IIb}\beta_3$ → TROMBASTENIA GLANZMANN.

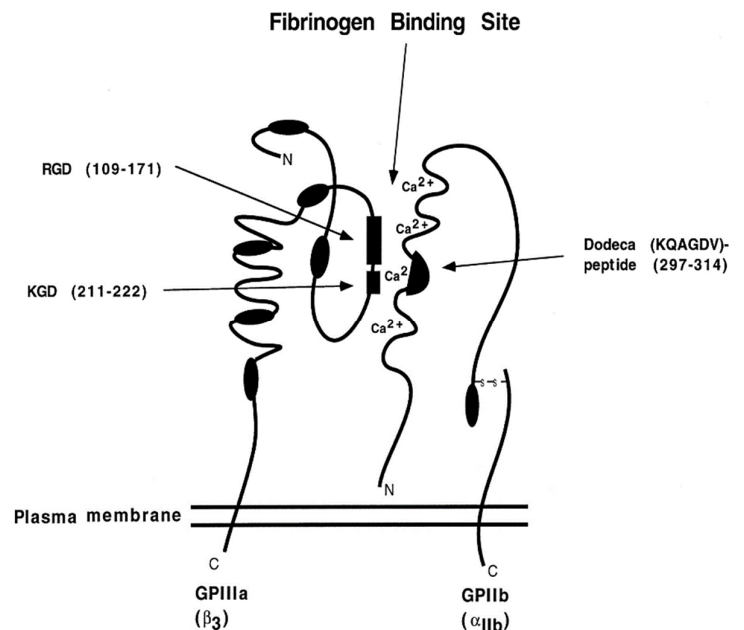
$\alpha_2\beta_1$ (GPIa/IIb) - receptor major pentru colagenul din structurile subendoteliale (2.000-4.000 copii/celulă)

- $\alpha_2\beta_1$ + GPVI + Fc γ R → complex ce mediază adeziunea și agregarea trombocitului ca răspuns la colagenul fibrilar tip I.

$\alpha_5\beta_1$ - leagă fibronectina

$\alpha_6\beta_1$ - leagă laminina

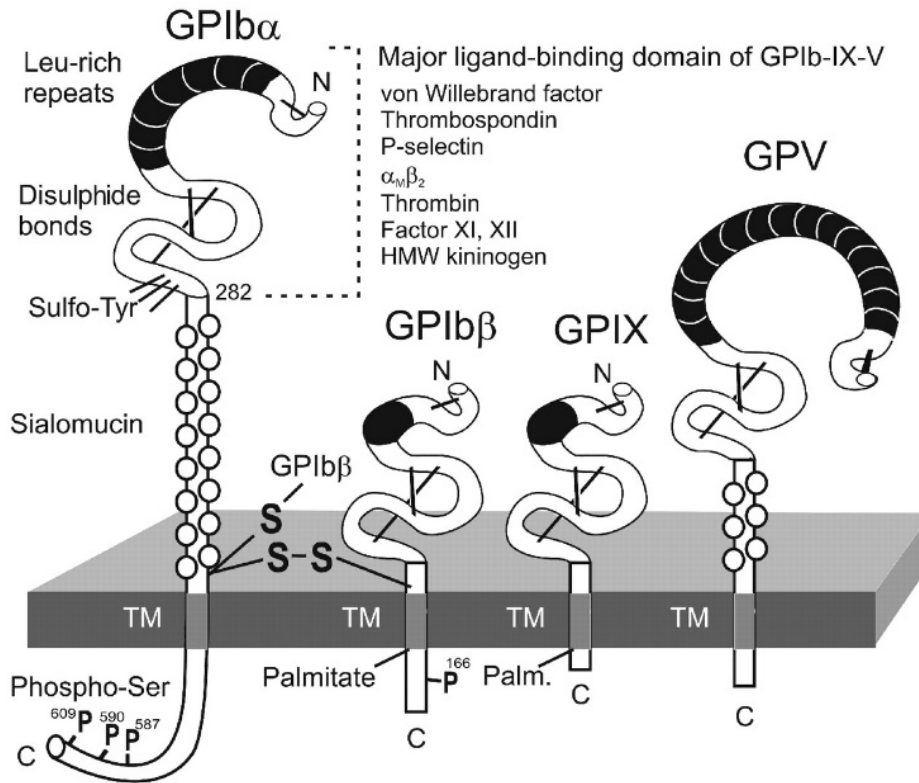
$\alpha_V\beta_3$ - leagă vitronectina, FVW, trombospondina.



Receptorul GPIb-IX-V

- face parte din familia receptorilor bogati în leucină;
- ~50.000 copii/celulă;
- leagă FVW și trombina → activarea trombocitelor + formare trombus în circulația arterială;

- leagă FVW și trombină → activarea trombocitelor + formare trombus în circulația arterială;
- alte roluri: inflamatie, metastazele tumorale mediate de trombocite;
- anomalii genetice GPIb-IX-V → **SINDROMUL BERNARD-SOULIER.**



(Berndt MC, Andrews RK. Haematologica 2011)

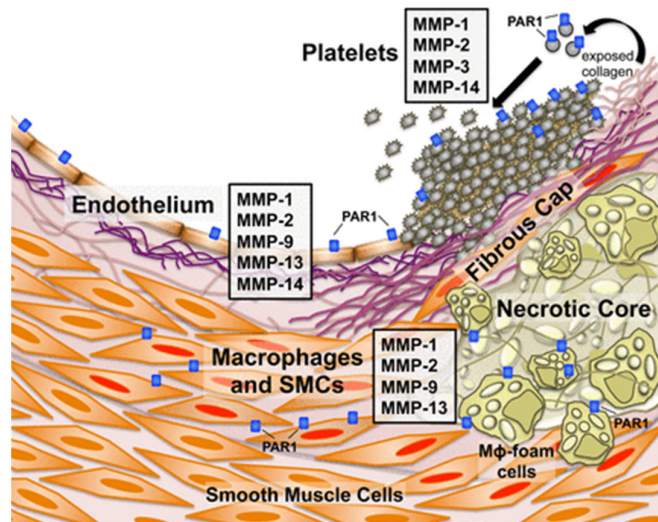
Receptorii TOLL-LIKE și metaloproteinazele

Receptorii TOLL-LIKE (TLR)

- receptori imuni ce activează căi de semnalizare intracelulare → răspuns inflamator;
- pe trombocit: TLR 1, 2, 4, 6, 9 – factori protrombotici.

Matrix-metaloproteinaze (MMP)

- MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 și MMP-14 → rol în adeziunea și agregarea trombocitară;
- MMP-1 activează receptorul trombinei PAR-1 → rol în aterotromboză;
- influențează durata de viață a trombocitelor stocate pentru a fi transfuzate

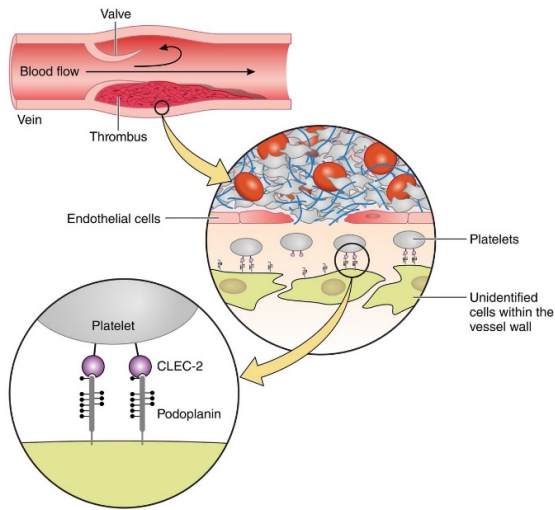


(Austin KM et al. Blood 2013)

Selectine trombotice

P-Selectina

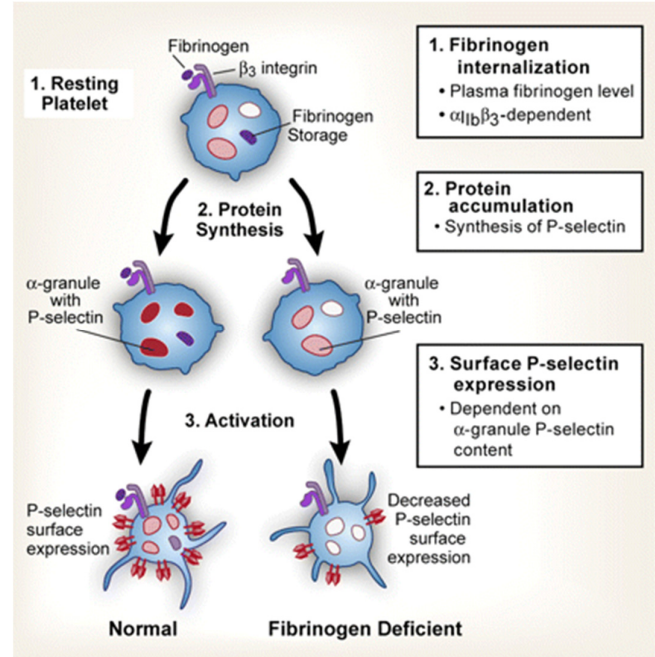
- stocată în granulele ale trombocitelor aflate în stare de repaus → după activare este mobilizată la suprafața celulei (~ 13.000 molecule/celulă);
- expresia sa este reglată de fibrinogen;
- rol în adeziune.



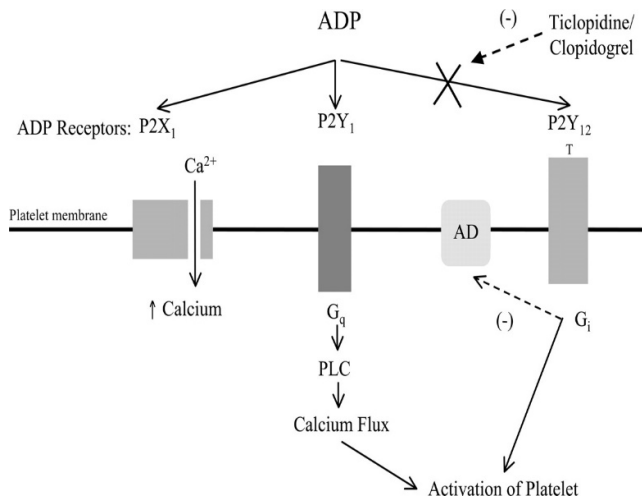
(Suzuki-Inoue K. Blood 2017)

CLEC-2 (receptor-2 lectin-like de tip C)

- are ca ligand podoplaninul care se atașează doar în condiții patologice;
- în tromboza venoasă profundă expresia crescută a podoplaninului în peretele vascular activează trombocitele prin CLEC-2



(Schwartz H et al. Blood 2009)



(Freedman JE. Circulation 2005)

Tetraspaninele și receptorii purinergici

Tetraspaninele

- au 4 domenii transmembranare;
- trombocit: CD63, CD9, CD53;
- CD63: glicoproteina lizozomală asociată cu membrana (LAMP-3) care este translocată la suprafață după activarea trombocitelor → marker al activării plachetare.

Receptorii purinergici

3 receptori pentru ADP pe trombocit:

- PDY1 și PDY12 → menținerea formei, agregarea trombocitară, generarea TXA2;
- P2X1 → canal ionic ce induce influxul de Ca²⁺ și modificări de formă.

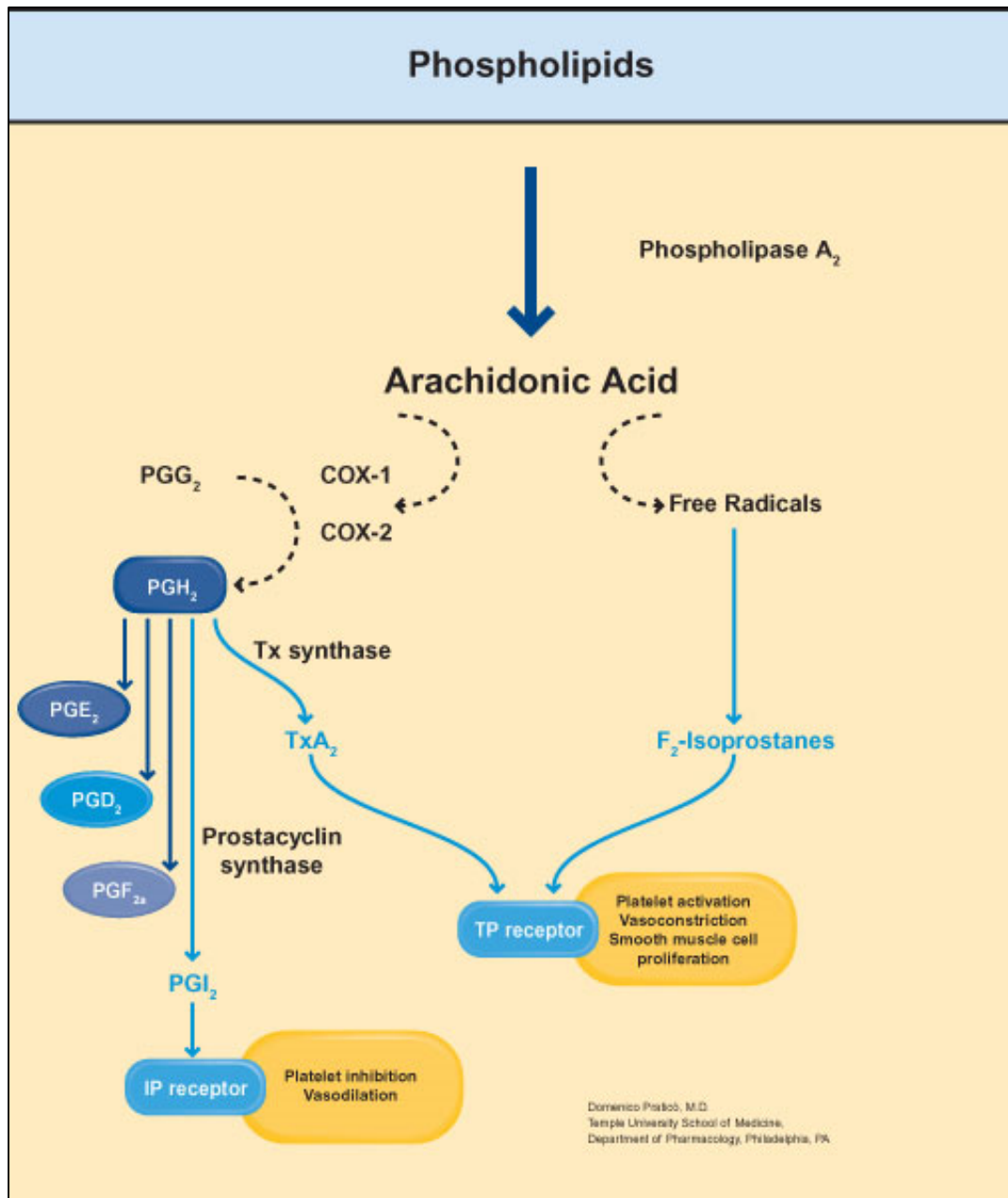
Receptorii prostaglandinici

Receptorul pentru TXA₂ (TP)

- leagă TXA₂ produs în principal de trombocitele activate;
- acțiune proagregantă și vasoconstrictoare.

Receptorul PGI₂ (IP)

- leagă PGI₂ derivată din celulele endoteliale;
- inhibă trombocitele; induce vasodilatație.

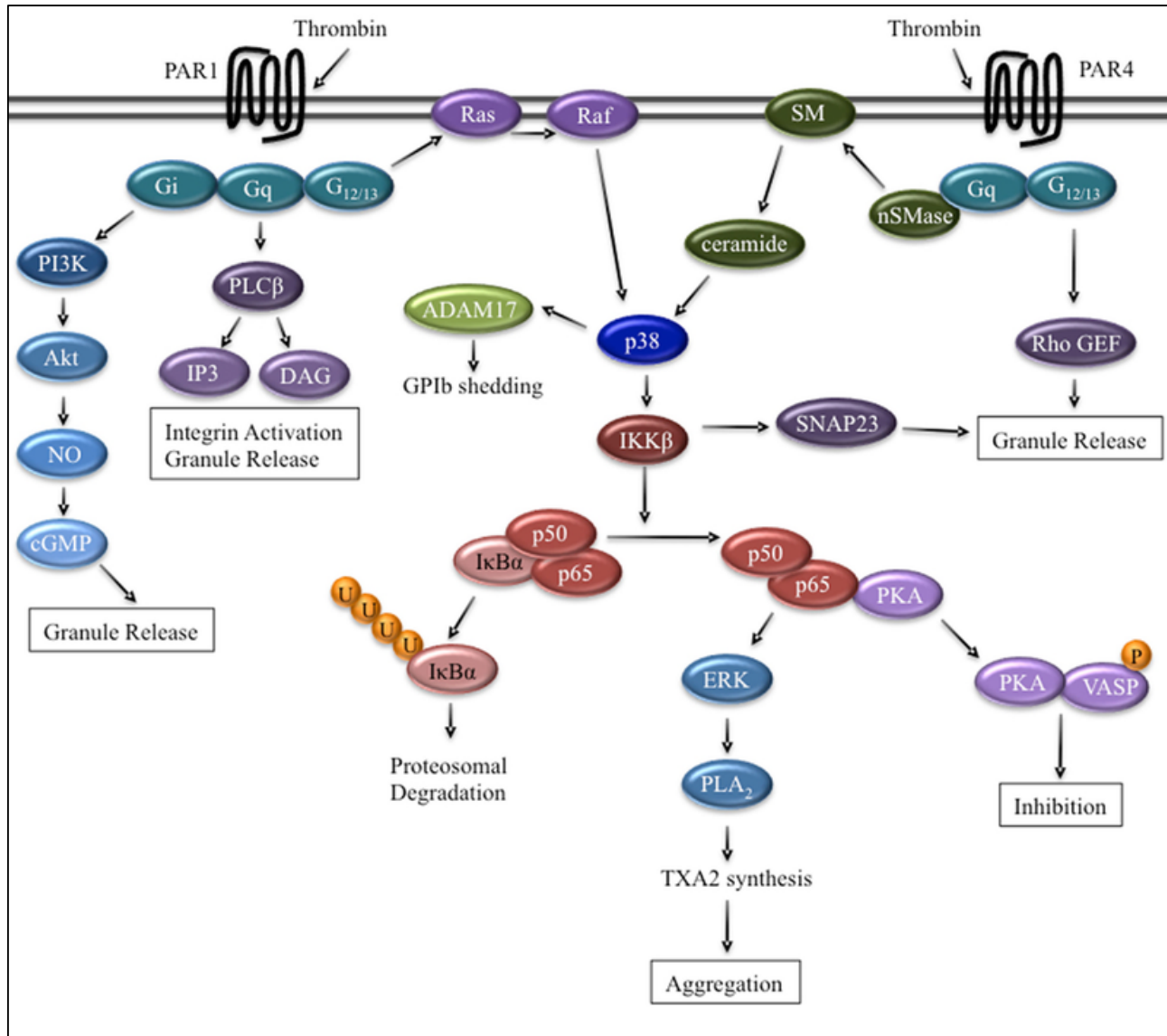


Receptorii trombinei

PAR1, PAR4

- familie de receptori activați de proteaze;
- se cuplează cu o proteină G;
- semnalizează prin căile PI3K, p38 MAPK, Rho → modificări de formă ale trombocitului → agregare →

secreție serotonină, ADP și activarea integrinei $\alpha IIb\beta 3$.



(Lannan KL et al. Front Immunol 2015)

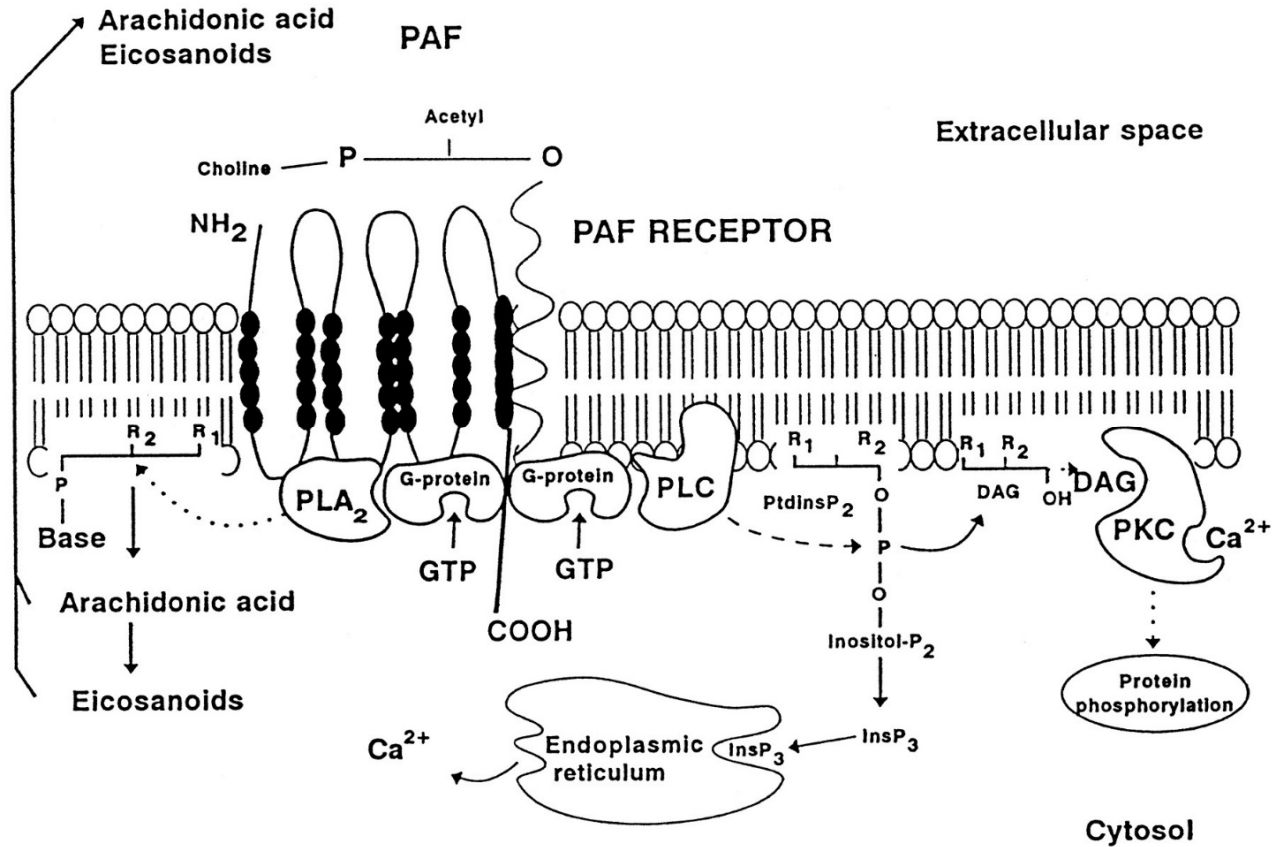
Receptorii lipidici

Receptorul pentru PAF (Factorul de activare plachetară)

- receptor cuplat cu proteine G;
- induce activarea fosfolipazelor C, D și A2 → activarea PKC → mobilizarea Ca^{2+} .

Receptorul pentru acidul lizofosfatidic (LPL-R)

- stimulează modificarea formei trombocitelor și asamblarea matricei fibronectinului;
- induce agregare parțială;
- amplifică agregarea trombocitară indusă de epinefrină și de ADP.



(Montrucchio G et al. Phys Rec 2000)

Receptorii imunoglobulinici

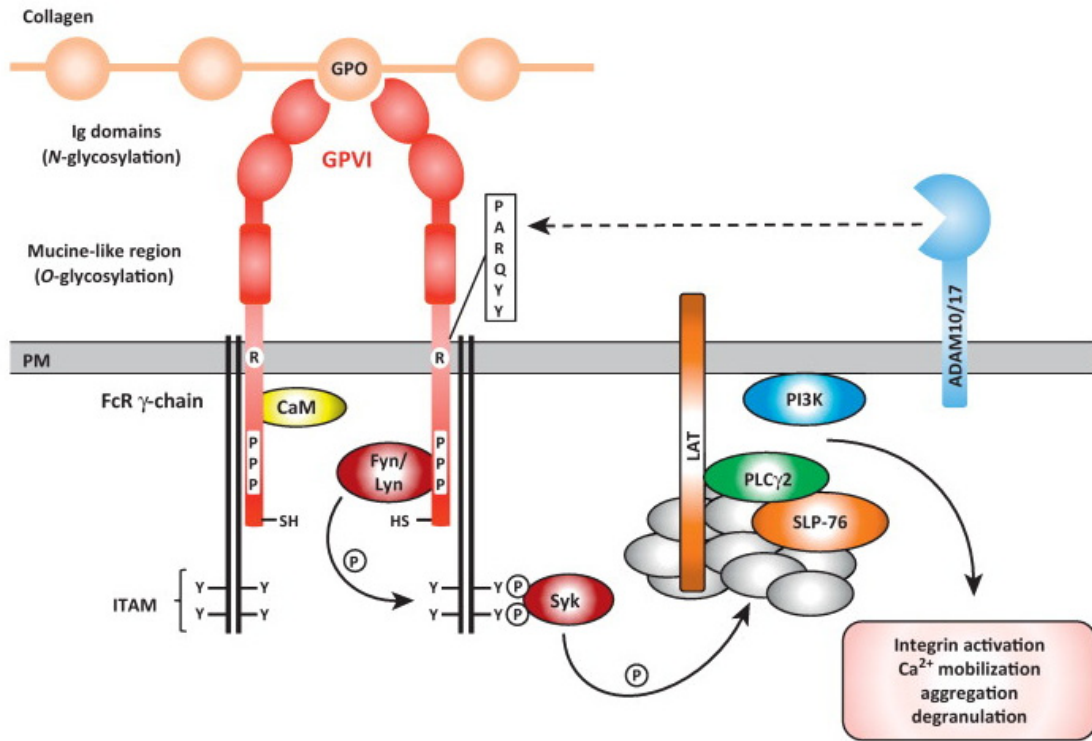
GPVI

- receptor major pentru collagen;
- formează un complex cu FcRγ;
- semnalizează pe calea Src-kinazei (membrii Lyn și Fyn) → activează fosfolipaza C gamma 2 (PLCγ2).

Receptorii Fc

FcγRIIa (CD32a)

- activat de complexe imune;
- conține unitatea de semnalizare ITAM;
- rol în activarea și agregarea trombocitului.



TRENDS in Pharmacological Sciences

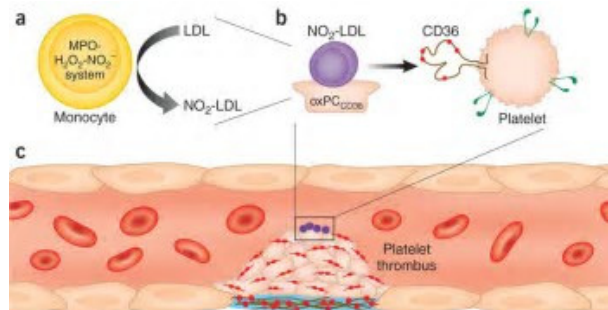
Alți receptori trombocitari

Receptorul serotoninei (5-HT)

- în urma atașării ligandului → semnalizarea prin Ca²⁺;
- serotonina este eliberată de trombocitele activate din granulele dense;
- amplifică agregarea indusă de ADP, trombina.

CD36 (GPIIb)

- glicoproteina de adeziune;
- ~20 000 copii/celulă;
- mediază interacțiunea trombocitelor cu microparticulele derivate din endoteliu → participă la inițierea trombozei;
- receptor „scavenger” pentru LDL oxidat;
- deficitul de CD36 → hiperlipidemie, HTA, rezistență la insulină.



(Ozer NK et al. Atherosclerosis. 2006)

Participarea receptorilor trombocitari la hemostază/tromboză

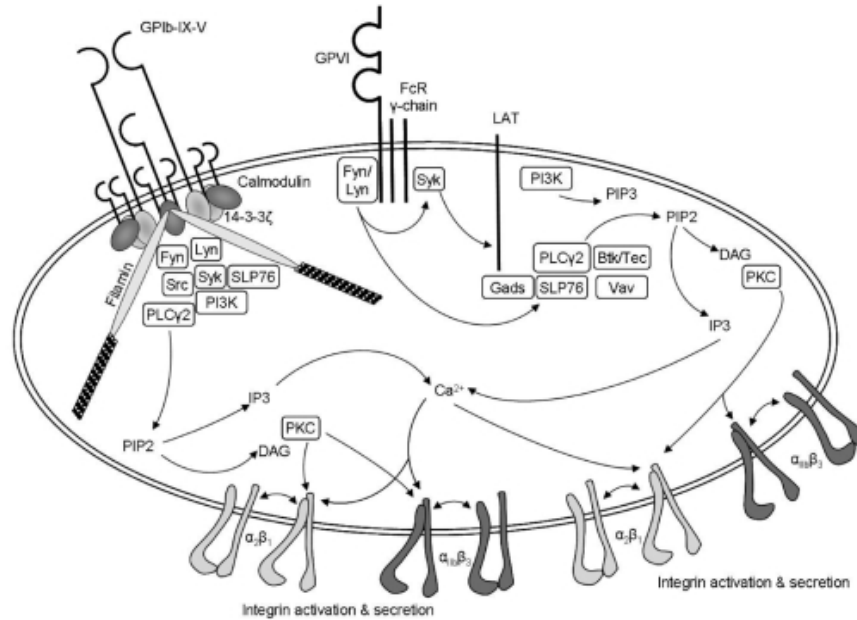
Faza de inițiere

Participanți:

- complexul GPIb-IX-V;
- receptorii pentru colagen: GPVI, integrina $\alpha_2\beta_1$;
- F β VV și colagenul fibrilar din peretele vascular lezat.

Teritoriul vascular afectat influențează adeziunea

- Vene, artere mari: plachetele adera predominant la colagenul fibrilar, fibronectină, laminină;
- Microcirculație, artere stenozate: plachetele adera predominant la F β VV.



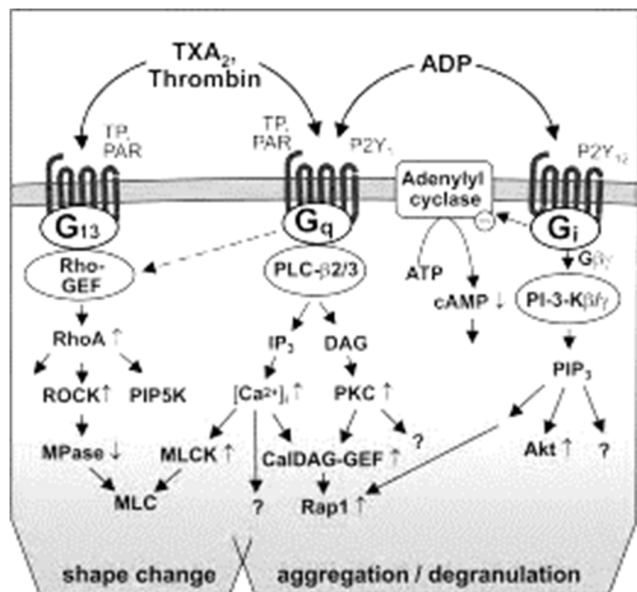
(Rivera J et al. Haematologica 2009)

Participarea receptorilor trombocitari a hemostaza/tromboza

Faza de amplificare

Participanți:

- agoniștii solubili: ADP, trombina, epinefrina TXA $_2$ și receptorii plachetari corespunzatori → amplifică recrutarea și activarea plachetelor prin mecanisme auto- și paracrine → semnalizare „inside-out” → activarea integrinei α IIb β 3 → legarea fibrinogenului → agregarea trombocitelor.



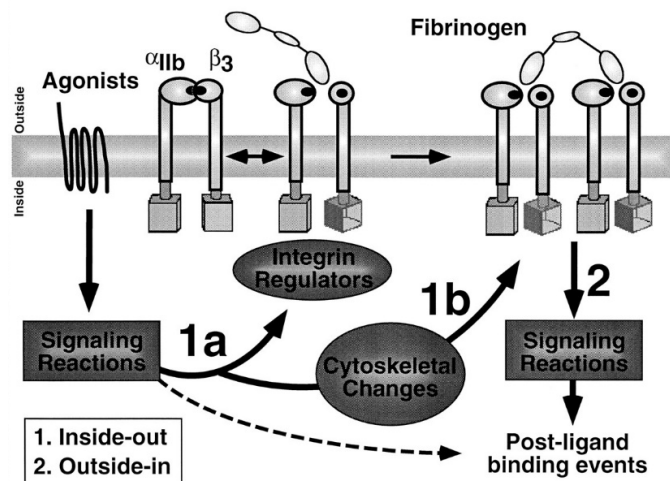
(Offermanns S. Circ res. 2006)

Participarea receptorilor trombocitari la hemostază/tromboză

Faza de stabilizare sau perpetuare

- Contactul strans dintre trombocitele agregate → semnalizare „outside-in” prin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ → reorganizarea

citoscheletului, stabilizarea agregatelor plachetare mari → dezvoltarea unei suprafețe procoagulante și rețracția cheagului.

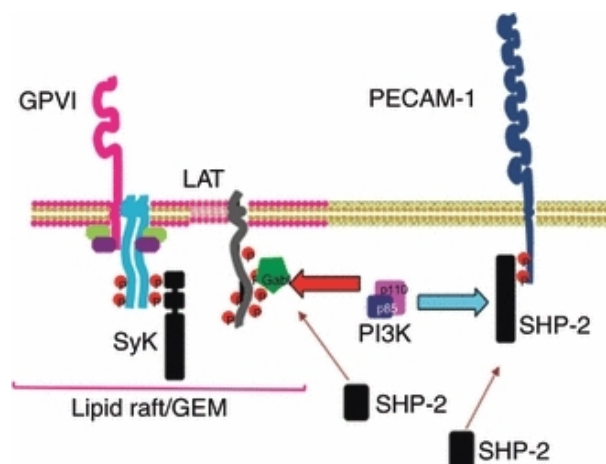


(Rivera J et al. Haematologica 2009)

Inhibarea activării plachetare și a creșterii trombusului

Factori reglatori negativi

- Oxidul nitric (NO)
- Prostaciclina (PGI₂)
- PECAM-1 (CD-31) = Platelet endothelial adhesion molecule-1 inhibă semnalizarea PI3K → atenuază formarea trombusului Receptorii CD39 și CD73 = ecto-nucleozidaze ce modulează tromboza arterială pe calea purinergică → CD39 scindează legăturile fosforice din ATP, ADP, AMP → CD73 scindează AMPc adenzina.



(Moraes LA et al. Thromb. Haemost. 2010)

În loc de concluzii...

- Receptorii plachetari și căile lor de semnalizare dețin un rol crucial în toate etapele de formare a cheagului.
- Frontiera dintre hemostaza fiziologică și tromboza patologică este îngustă.
- Mesaj pentru viitor: translatarea acestor cunoștințe în medicamente antiagregante noi cu risc minim de hemoragie!