

Rola płytek krwi w procesach zapalnych

The role of the platelets in inflammation

Paula Śliwińska-Stańczyk

Klinika Chorób Reumatycznych Instytutu Reumatologii, kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Jacek Pazdur,
dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

Słowa kluczowe: płytki krwi, procesy zapalne, reumatoidalne zapalenie stawów.

Key words: platelets, inflammatory factors, rheumatoid arthritis.

Streszczenie

Płytki krwi są bogatym źródłem różnego rodzaju czynników prozapalnych. Stanowią one kluczowy element łączący procesy hemostazy i zapalenia. W przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów dochodzi do aktywacji płytek, które wpływają na rozwój objawów klinicznych.

Płytki krwi to komórki o średnicy ok. 2 μm , nieposiadające jądra komórkowego, będące fragmentami cytoplazmy megakariocytów. W organizmie człowieka żyją one średnio 9–11 dni. W warunkach fizjologicznych ok. 2/3 liczby płytek krąży we krwi, pozostała 1/3 zlokalizowana jest w śledzionie [29]. Od dawna wiadomo było, że płytki krwi uczestniczą w skomplikowanych, złożonych biochemicznych i molekularnych procesach mających na celu zahamowanie krwawienia. Jednak w wyniku licznych, przeprowadzonych w ostatnich latach badań dotyczących funkcji płytek krwi okazało się, że te małe i niepozorne komórki stanowią kluczowe ogniwo łączące procesy hemostazy, zapalenia i naprawy tkanek.

Morfologia płytek krwi

W warunkach spoczynkowych płytki krwi mają owalny kształt. Na ich gładkiej powierzchni znajdują się niewielkie wgłębienia. Stanowią one połączenie między środowiskiem zewnętrznym a systemem kanalików,

Summary

Platelets are the rich source of potent inflammatory factors and the key element linking the processes of hemostasis and inflammation. Platelets are activating in patients with rheumatoid arthritis. This activation contributes to development of the clinical symptoms.

znajdującym się we wnętrzu komórki. Glikoproteiny związane z najbardziej obwodowo zlokalizowaną warstwą komórki, tzw. glikokaliksem, służą jako receptory przenoszące sygnały aktywujące płytki [29]. Końcowym efektem aktywacji jest adhezja i agregacja płytek.

W cytoplazmie płytek krwi znajdują się liczne ziarnistości. Można je podzielić na następujące grupy:

1. Ziarnistości alfa – zawierają fibrynogen, czynnik von Willebranda, czynnik płytkowy 4 (PF-4), beta-tromboglobulinę, trombospondynę, czynniki krzepnięcia V, XI i XIII, białko S, czynniki wzrostu (TGF-beta, PDGF), selektynę P [8, 16, 25, 30, 34].
2. Ciałka gęste – są źródłem ADP, ATP, GDP, GTP, serotonininy (nie jest ona produkowana przez płytki ani megakariocyty, a jedynie inkorporowana przez płytki z osocza krwi) [29].

Czynnik płytkowy 4 oraz beta-tromboglobulina są białkami wyłącznie płytkowymi. PF-4 ma zdolność przyłą-

Adres do korespondencji:

dr med. Paula Śliwińska-Stańczyk, Klinika Chorób Reumatycznych, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher,
ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa

Praca wpłynęła: 10.02.2005 r.

czania się do heparyny i neutralizacji jej działania antykoagulacyjnego [22]. Podobne działanie wykazuje również β -tromboglobulina, ale jej powinowactwo do heparyny jest mniejsze niż powinowactwo PF-4 [29]. Trombospondyna, będąca jednym z głównych składników ziarnistości alfa, stabilizuje agregaty płytkowe [29], natomiast płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) pełni rolę w procesach gojenia, wtknienia, ale także w rozwoju miażdżycy [26]. Niezwykle ważne dla funkcjonowania płytek są receptory zlokalizowane na ich powierzchni i związane z cytoszkieletem. Wśród nich na szczególną uwagę zasługuje glikoproteina IIb/IIIa. Jest to najważniejszy receptor błony plazmatycznej płytek. Należy do rodziny integryn. Jego ligandami są: fibrynogen, fibronektyna, czynnik von Willebranda, witronektyna i transpodyna [24].

Inne ważne receptory płytek krwi, to glikoproteina Ib-IX (jej ligand to VWF) [27], glikoproteina IV (wiąże trombospondynę i kolagen) oraz selektyna P, która uważana jest za wskaźnik aktywacji płytek *in vivo*, gdyż po aktywacji przemieszcza się ona z ziarnistości alfa na powierzchnię błony komórkowej [1, 19].

Aktywacja płytek prowadzi także do głębokich zmian w cytoszkielecie. Komórki tracą swoją formę owalną, stają się okrągłe i wysuwają filopodia. Uwolnienie substancji zawartych w ziarnistościach prowadzi do końcowego nieodwracalnego etapu aktywacji płytek, jakim jest ich agregacja [29].

Fizjologiczna i patologiczna produkcja megakariocytów i płytek krwi

Badania dotyczące megakariocytopoezy i produkcji płytek nabrały tempa po 1994 r., kiedy to odkryto, a następnie sklonowano trombopoetynę (TPO). Obecnie wiadomo, że megakariocyty wywodzą się z komórek pnia (*stem cells*). W swojej drodze do *dojrzałości* przechodzą następnie przez kilka etapów. Dzieje się to przy współudziale licznych cytokin. Przebieg megakariocytopoezy został przedstawiony na ryc. 1.

Głównym regulatorem produkcji płytek jest trombopoetyna (TPO). Po związaniu się z receptorem komórkowych wpływa ona na wszystkie etapy rozwoju megakariocytów [17]. TPO jest produkowana głównie w wątrobie [32]. Jej synteza nasila się pod wpływem IL-6 [35]. Wykazano, że w przebiegu trombocytopenii, kiedy rośnie zapotrzebowanie na produkcję płytek, dochodzi do większej ekspresji mRNA dla TPO w szpiku kostnym [31]. Stwierdzono również zwiększone stężenie TPO w surowicy krwi chorych z reaktywną trombocytozą w przebiegu nowotworów i niektórych chorób autoimmunologicznych [10].

We wczesnych etapach produkcji płytek uczestniczy syntetyzowany przez komórki stromalne szpiku kostnego czynnik komórek pnia (SCF). Wykazano, że do jego synte-

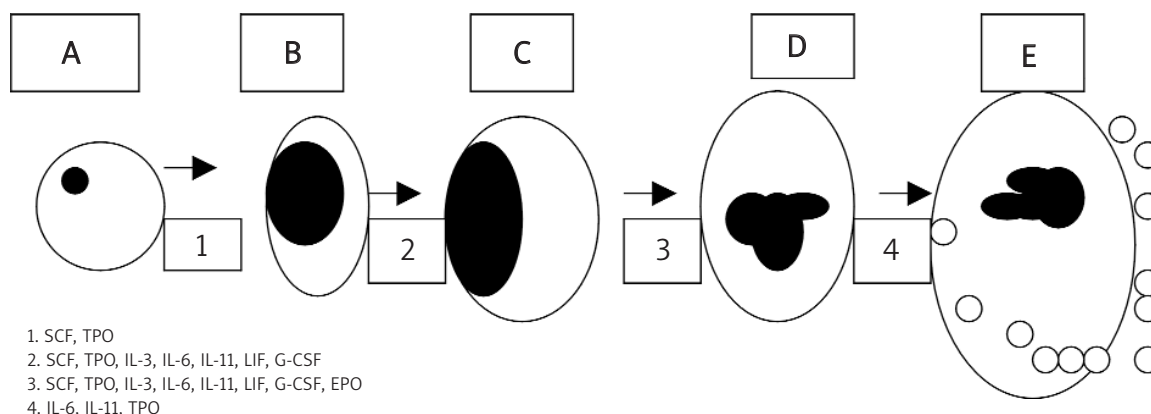
zy dochodzi także w fibroblastach błony maziowej u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów [18]. Inkubacja tych komórek z TNF- α prowadzi do zwiększenia produkcji SCF [18]. Wykazano korelację pomiędzy stężeniem SCF w płynie stawowym chorych na reumatoidalne zapalenie stawów a liczbą płytek krwi u tych pacjentów [6]. Mechanizm ten może być przynajmniej częściowo odpowiedzialny za reaktywną trombocytozę w przebiegu RZS. W błonie maziowej, płynie stawowym oraz surowicy krwi chorych na reumatoidalne zapalenie stawów zwiększa się także stężenie IL-6 [9] oraz IL-11 [11] – cytokin uczestniczących w kolejnych etapach produkcji płytek krwi. Ich nadprodukcja może być przyczyną reaktywnej trombocytozy w reumatoidalnym zapaleniu stawów [23]. Ostateczne określenie roli tych cytokin w zwiększonej produkcji płytek wymaga dalszych badań.

Rola płytek krwi w zapaleniu

Badania nad morfologią i fizjologią płytek krwi dostarczyły informacji, które wpłynęły na zmianę dotychczasowych opinii na ich temat. Okazało się bowiem, że płytki krwi nie są wyłącznie *niemyimi* fragmentami cytoplazmy megakariocytów. Wprost przeciwnie, komórki te stanowią ważne źródło biologicznie aktywnych substancji, które mogą czynnie wpływać na rozwój i przebieg różnych procesów chorobowych.

Do czynników o najsilniejszym działaniu prozapalnym, syntetyzowanych przez płytki krwi należą RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*), białko nabłonkowe aktywujące neutrofile (ENA-78), makrofagowe białko zapalne 1 α (MIF-1 α) oraz PF-4 [4]. Uwalniana przez płytki krwi cytokina RANTES może wiązać się z zapalnie zmienionym endotelium i tworzyć most pomiędzy ścianą naczynia a komórkami jednojądrowymi krwi obwodowej [28]. ENA-78 zwiększa adhezję neutrofilii do powierzchni endotelium przez wpływ na ekspresję β 2 integryn [12]. PF-4 hamuje apoptozę monocytów i inicjuje ich różnicowanie się w makrofagi [4]. Aktywowane płytki krwi produkują ponadto interleukinę 1 β , która łącznie z RANTES stymuluje syntezę selektywny E, interleukiny 8 (IL-8) i ENA-78 przez komórki endotelium, co umożliwia adhezję neutrofilii do tych komórek [21]. Pod wpływem selektywny P i RANTES dochodzi również do indukcji syntezy IL-8, MCP-1, MIP-1 α oraz TNF- α w monocytach [33].

Płytki krwi mogą także bezpośrednio wpływać na adhezję neutrofilii do śródbłonna. W takiej sytuacji same przylegają do macierzy pozakomórkowej, a duża liczba cząsteczek selektywny P, obecna na powierzchni płytek po ich aktywacji, reaguje z cząsteczkami PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein-1*), stale obecnymi na powierzchni leukocytów, powodując ich przyleganie i toczenie się po śródbłonku [20, 36].



Megakariocyty powstają z komórek pnia (A). W pierwszym etapie pod wpływem SCF i TPO dochodzi do powstania multipotencjalnej komórki macierzystej (B). SCF, IL3, IL-6, IL-11, LIF, G-CSF, TPO powodują jej przekształcenie się w komórkę macierzystą układu megakariocytów (C). Te same cytokiny (z wyjątkiem G-CSF), działając wspólnie z erytropoetyną, prowadzą do powstania nie-dojrzałego megakariocytu (D). Jego dojrzewanie zachodzi pod wpływem IL-6, IL-11 i TPO. E – megakariocyt odszczepiający płytki

Objaśnienia skrótów:

SCF – czynnik komórek pnia (stem cell factor)

TPO – trombopoetyna

LIF – białaczkowy czynnik inhibitorowy (leukemia inhibitory factor)

EPO – erytropoetyna

G-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocytów (granulocyte colony-stimulating factor)

Ryc. 1. Przebieg megakariocytopenyzy.

Kolejnym faktem potwierdzającym uczestnictwo płytek krwi w procesie zapalnym jest interakcja CD40L z CD40. Płytki krwi są bogatym źródłem sCD40L. Pod wpływem ich aktywacji dochodzi do przemieszczenia się cząsteczek CD40L na powierzchnię płytek, a następnie do złuszczenia się CD40L w postaci sCD40L. Przyjmuje się, że ponad 95% krążącego sCD40L pochodzi właśnie z płytek krwi [2]. Interakcja sCD40L z CD40 zlokalizowanymi na komórkach endotelium prowadzi do syntezy cząsteczek adhezyjnych, niektórych chemokiny, czynników tkankowych oraz aktywacji metaloproteaz.

Rola płytek krwi w procesie chorobowym w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów i innych chorób tkanki łącznej

Już przed wieloma laty u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów wykazano nieprawidłowości w liczbie (patrz wyżej) i funkcji płytek krwi. Okazało się, że komórki te są obecne w płynie stawowym stawów objętych procesem zapalnym [6, 7]. W błonie maziowej i surowicy chorych na reumatoidalne zapalenie stawów stwierdza się podwyższoną aktywność wydzielniczej formy fosfolipazy A2. Pochodzi ona głównie z płytek i katalizuje syntezę kwasu arachidonowego z fosfolipidów. Także cyklooksygenaza 2 (COX-2), konwertująca kwas arachidonowy w pro-

staglandyny, jest produkowana przez aktywowane płytki krwi. U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy, a także u pacjentów z zespołem Raynauda stwierdzono podwyższony poziom tzw. płytkopochodnych mikrocząsteczek (*platelet-derived microparticles*) – niewielkich pęcherzyków uwalnianych z błony komórkowej płytek po ich aktywacji. Mikrocząsteczki te ułatwiają przyleganie płytek do macierzy podśródnabłonkowej naczyń krwionośnych i działają prokoagulacyjnie [14, 15]. W surowicy pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, toczeniem rumieniowatym układowym i pierwotnym zespołem antyfosfolipidowym stwierdzono także wyższy niż w grupie kontrolnej poziom innego wskaźnika aktywacji płytek krwi – rozpuszczalnej selektyny P [7, 13]. U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów korelował on z aktywnością choroby. Selektyna P ułatwia aktywację neutrofilii, wpływa na produkcję cytokin prozapalnych przez limfocyty, uczestniczy w migracji komórek do ogniska zapalnego. Co prawda, źródłem selektyny P mogą być także komórki endotelium, ale ponieważ jej stężenie w koreluje z poziomem innego wskaźnika aktywacji płytek – beta-tromboglobuliny – płytkowe źródło pochodzenia selektyny P jest bardziej prawdopodobne [3]. Inne składniki ziarnistości alfa, tj. PDGF, EGF, TGF- β , mogą także wpływać na aktywność procesu zapalnego w reumatoidalnym zapaleniu stawów, m.in. przez zwiększenie

prolifracji komórek synowialnych czy pobudzenie angiogenezy w ogniskach zapalnych. Wszystkie te dane wskazują na możliwość aktywnego udziału płytek krwi w zapaleniu w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów.

Piśmiennictwo

- Abrams C, Shatter SJ. Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. *Thromb. Haemost* 1991; 65: 467-73.
- Andre P, Prasad KS, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a $\beta 3$ integrin-dependent mechanism. *Nat Med* 2002; 8: 247-52.
- Blann AD, Lip GY, Beevers DG, et al. Soluble P-selectin in atherosclerosis: a comparison with endothelial cell and platelets markers. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1077-80.
- Boehlen F, Clementson KJ. Platelet chemokines and their receptors: what is their relevance to platelet storage and transfusion practice. *Transfus Med* 2001; 11: 403-17.
- Carsons SE, Santiago-Scharz F, Diola C. Detection and quantitation of stem cell factor in the synovial fluid of patients with rheumatoid disease. *J Rheumatol* 2000; 27: 2798-800.
- Endersen GK. Evidence for activation of platelets in the synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1989; 9: 19-24.
- Ertenli I, Kiraz S, Arici M, et al. P-selectin as a circulating molecular marker in rheumatoid arthritis with thrombocytosis. *J Rheum* 1998; 25: 1054-8.
- Harrison P, Savidge FG. The origin and physiological relevance of α granule adhesive proteins. *Br J Haematol* 1990; 74: 125-30.
- Haznedaroglu IC, Ertenli I, Ozcebe OI, et al. Megacaryocyte – related interleukins in reactive thrombocytosis versus autonomus thrombocythemia. *Acta Haematol* 1996; 95: 107-11.
- Heits F, Stahl M, Ludwig D. Elevated serum thrombopoietin and interleukin 6 concentration in thrombosis associated with inflammatory bowel disease. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 757-60.
- Hermann JA, Hall MA, Maini RN, et al. Important immunoregulatory role of interleukin 11 in the inflammatory process in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1388-97.
- Imazumi T, Albertine KH, Jicha DL, et al. Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL-8 and to signaling of PMN adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 181-92.
- Joseph JE, Harrison P, Mackie IJ, et al. Increased circulating platelet – leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Br J Haematol* 2001; 115: 451-9.
- Kagawa H, Nomura S, Nagahama M, et al. Effect of bezafibrate on soluble adhesion molecules and platelet activation markers in patients with connective tissue diseases and secondary hyperlipidemia. *Clin Appl Thromb Hemost* 2001; 7: 153-7.
- Kagawa H, Nomura S, Nagahama M, et al. Effect of ticlopidine on platelet derived microparticles in patients with connective tissue diseases. *Haemostasis* 1999; 29: 255-61.
- Kaplan DR, Chao FC, Stiles CD, et al. Platelet α granules contain a growth factor for fibroblasts. *Blood* 1979; 53: 1043-52.
- Kaushansky K. Thrombopoietin. *N Engl J Med* 1998; 339: 746-54.
- Kiener HP, Hofbauer R, Tohidast-Akrad MI, et al. Tumor necrosis factor α promotes the expression of stem cell factor in synovial fibroblasts and their capacity to induce mast cell chemotaxis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 164-74.
- Leung LLK. Role of thrombospondin in platelet aggregation. *J Clin Invest* 1984; 74: 1764-72.
- McEver RP. Adhesive interactions of leucocytes, platelets and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86: 746-56.
- McIntyre TM, Prescott SM, Weyrich AS. Cell-cell interactions: leucocyte – endothelial interactions. *Curr Opin Haematol* 2003; 10: 150-8.
- Niewiarowski S, Thomas DP. Platelet factor 4 and adenosine diphosphate release during human platelets aggregation. *Nature* 1969; 222: 1269-70.
- Okamoto H, Yamamura M, Morita Y, et al. The synovial expression and serum levels of interleukin-6, interleukin-11, leukemia inhibitory factor and oncostatin M in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1096-105.
- Pazdur J, Kopeć M. Platelets in rheumatoid arthritis. *Thrombosis et Diath Haemorrhag* 1970; 23: 176-84.
- Rose JP, Gearing JN, Bainton DF, et al. A gray platelet syndrome. Demonstration of α granule membranes that can fuse with the cell surface. *J Clin Invest* 1987; 80: 1138-46.
- Ross R. Peptide regulatory factor PDGF. *Lancet* 1989; 1: 1179-82.
- Ruggeri ZM. The platelet glycoprotein Ib-IX complex. *Prog Haem Thromb* 1991; 10: 35-68.
- Schober A, Mana D, et al. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002; 106: 1523-9.
- Sternberg PE, Hill RJ. Platelets and megacariocytes. In: Windrobe's Clinical Hematology. Lee R, Foerster J, Lukens J (eds). Williams and Wilkins a Waverly comp. Baltimore, 1998.
- Sternberg PE, Shuman MA, Levine SP, et al. Redistribution of α granules and their contents in thrombin stimulated platelets. *J Cell Biol* 1984; 98: 748-60.
- Stoffel R, Wiestner A, Skoda RC. Thrombopoietin in thrombocytopenic mice: evidence against regulation at the mRNA level and for a direct regulatory role of platelets. *Blood* 1996; 87: 567-73.
- Sungaran R, Marcovic B, Chong BH. Localisation and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow and spleen using in situ hybridization. *Blood* 2000; 95: 3094-101.
- Weirich AS, Elstad MR, McEver RP, et al. Activated platelet signal chemokine synthesis in human monocytes. *J Clin Invest* 1996; 97: 1524-35.
- Wencel-Drake JD, Painter RG, Zimmerman TS. Ultrastructural localization of human platelet thrombospondin, fibrinogen, fibronectin, and von Willebrand factor in frozen thin section. *Blood* 1985; 4: 929-38.
- Van Gameren MM, Willemsse PH, Mulder NH, et al. Effects of recombinant human interleukin-6 in cancer patients: a phase I-II study. *Blood* 2001; 84: 1434-41.
- Zimmerman GA. Two by two. The pairings of P-selectin and P-selectin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 1023-4.