

Received: 2012.07.18
Accepted: 2013.04.22
Published: 2013.07.23

Synteza białek w bezjądrzastych płytkach krwi*

The synthesis of proteins in unnucleated blood platelets

Michał Bijak, Joanna Saluk, Michał Błażej Ponczek, Paweł Nowak, Barbara Wachowicz

Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Płytki krwi są najmniejszymi, pozbawionymi jądra komórkami krwi, które odgrywają główną rolę w utrzymaniu prawidłowej hemostazy. W organizmie człowieka każdego dnia wytworzonych zostaje około 1×10^{11} płytek krwi, które powstają w wyniku złożonych procesów różnicowania, dojrzewania i fragmentacji megakariocytów. Badania przeprowadzone ponad 4 dekady temu wykazały, że krążące w krwiobiegu dojrzałe płytki krwi są zdolne do syntezy białek. Ostatnie badania potwierdzają syntezę białek przez bezjądrzaste płytki krwi w odpowiedzi na aktywację. Ponadto, synteza białek powoduje zmianę fenotypu i wpływa na funkcję płytek krwi. Płytki krwi syntetyzują wiele białek zaangażowanych w proces hemostazy (COX, α IIb β 3, TF PAI-1, factor XI, protein C inhibitor) i w stan zapalny (IL-1 β , CCL5/RANTES). Mimo braku jądra komórkowego płytki zawierają stabilne transkrypty mRNA o długiej żywotności skorelowanej z czasem życia płytki. Płytki krwi wykazują również ekspresję dwóch głównych regulatorów translacji eIF4E i eIF-2 α , a także mają różnorodne cząsteczki miRNA odpowiedzialne za regulację translacji. W pracy omówiono badania nad syntezą białek przez płytki krwi i molekularne mechanizmy syntezy białek w aktywowanych płytkach (a także syntezę najważniejszych białek płytek krwi).

Słowa kluczowe:

płytki krwi • synteza białek • translacja • regulacja translacji

Summary

Platelets are the smallest, unnucleated blood cells that play a key role in maintaining normal hemostasis. In the human body about 1×10^{11} platelets are formed every day, as a the result of complex processes of differentiation, maturation and fragmentation of megakaryocytes. Studies done over 4 decades ago demonstrated that circulating in blood mature platelets can synthesize proteins. Recent discoveries confirm protein synthesis by unnucleated platelets in response to activation. Moreover, protein synthesis alters the phenotype and function of platelets. Platelets synthesize several proteins involved in hemostasis (COX, α IIb β 3, TF PAI-1, Factor XI, protein C inhibitor) and in inflammatory process (IL-1 β , CCL5/RANTES). In spite of lack of transcription platelets have a stable mRNA transcripts with a long life correlated with platelet life span. Platelets also show expression of two important key regulators of translation eIF4E and EIF-2 α and have a variety of miRNA molecules responsible for translational regulation. This article describes the historical overview of research on protein synthesis by platelets and presents the molecular mechanisms of protein synthesis in activated platelets (and synthesis of the most important platelet proteins).

Keywords:

blood platelets • protein synthesis • translation • translation regulation

*Praca powstała w ramach grantu Uniwersytetu Łódzkiego nr 506/810.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1059587>

Word count: 3265

Tables: –

Figures: –

References: 77

Adres autora: mgr Michał Bijak, Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: mbijak@biol.uni.lodz.pl

WSTĘP

Płytki krwi są najmniejszymi bezjądrzastymi elementami morfotycznymi krwi charakterystycznymi jedynie dla ssaków. Występują nie tylko u ssaków łozyskowych, ale także u torbaczy [3] i stekowców [21,35,68]. W pozostałych gromadach kręgowców występują jądrzaste trombocyty pełniące podobne funkcje hemostatyczne [66]. Podstawową funkcją płytek krwi jest ich udział w utrzymaniu prawidłowej hemostazy. Aktywacja płytek jest procesem bardzo złożonym, związanym z transdukcją sygnału poprzez wiele receptorów powierzchniowych znajdujących się w błonie komórkowej płytek, sprzężonych z elementami enzymatycznych łańcuchów przekazywania sygnałów. Duża liczba swoistych receptorów błonowych powoduje, że płytki charakteryzują się wysoką reaktywnością, łatwo ulegają aktywacji na skutek działania wielu fizjologicznych i niefizjologicznych agonistów [63]. Szlaki przekazywania sygnału „outside-in” poprzez swoiste receptory zależne są od rodzaju czynnika stymulującego, jednak wieloetapowy proces aktywacji płytek prowadzi zawsze do sygnału „inside-out” i fizjologicznej odpowiedzi tych komórek, która wyraża się reorganizacją cytoskieletu i zmianą kształtu komórki, adhezją do ściany naczynia krwionośnego, sekrecją związków zmagazynowanych w płytkowych ziarnistościach oraz aktywacją receptorów integrynowych $\alpha\text{IIb}\beta 3$ i tworzeniem agregatów płytkowych z udziałem fibrynogenu. Zmianom morfologicznym towarzyszą przemiany biochemiczne: kaskadowa przemiana kwasu arachidonowego, zmiana stężenia cAMP i cGMP, aktywacja kinaz i fosforylacja białek, powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) i przemiana fosfatydyloinozytoli [31,32]. W organizmie człowieka każdego dnia wytworzonych zostaje około 1×10^{11} płytek krwi, które powstają w wyniku złożonych procesów różnicowania, dojrzewania i fragmentacji megakariocytów. Tworzenie płytek jest poprzedzone procesem endomitozy megakariocyty, w wyniku której dochodzi do powstania poliploidalnego jądra komórkowego [6]. Wzrost ploidalności służy amplifikacji genów, a także wzmacnia procesy metaboliczne i powoduje znaczny wzrost objętości cytoplazmy [42]. Znaczny wzrost objętości megakariocyty jest wynikiem wielokrotnej endomitozy prowadzącej do zwiększenia ilości DNA nawet do 64 razy, a także stanowi rezultat gromadzenia wielu substancji oraz struktur niezbędnych do wytwarzania płytek krwi. W dojrzewających megakariocytach obecne są liczne rybosomy, które

są potrzebne do syntezy białek płytkowych. W procesie dojrzewania megakariocyty wytwarzają złożony układ błon komórkowych, w wyniku czego powstaje rozbudowana sieć tzw. błon demarkacyjnych (demarcation membrane system - DMS). Jest ona złożona z cystern i tubuli, które są połączone z błoną cytoplazmatyczną komórki, a jednocześnie mają system kanalików otwartych służący do uwalniania, w wyniku aktywacji płytek, zawartości ich ziarnistości do środowiska pozakomórkowego [40,45]. Dzięki wytworzonemu systemowi błon demarkacyjnych powstają ziarnistości płytkowe: lizosomy, osmofilne ziarnistości o dużej gęstości elektronowej oraz α -ziarnistości. W α -ziarnistościach gromadzone są intensywnie syntetyzowane w tym czasie swoiste białka płytkowe (czynnik von Willebranda - vWF, płytkowy czynnik 4 - PF4); niektóre z nich ekspozowane są na powierzchni megakariocytów, m.in. niektóre receptory płytkowe, np. dla fibrynogenu $\alpha\text{IIb}\beta 3$, czy GPIb dla vWF [6].

Dojrzałe i w pełni zróżnicowane megakariocyty są wyposażone we wszystkie elementy niezbędne do wytwarzania płytek krwi. Zarówno swoiste ziarnistości płytkowe, jak i inne organelle komórkowe, w tym liczne mitochondria, a także cząsteczki mRNA, umożliwiający syntezę białek w płytkach krwi, przemieszczają się wzdłuż mikrotubuli i za ich pośrednictwem przedostają do powstających płytek krwi [20].

RYŚ HISTORYCZNY

Od dawna wiadomo, że białka płytek krwi mogą mieć różne pochodzenie: część z nich jest syntetyzowana w megakariocytach, a część pochodzi bezpośrednio z osocza. Czynnik von Willebranda i czynnik płytkowy 4 są przykładami białek syntetyzowanych przez megakariocyty, natomiast albumina oraz fibronektyna są pobierane w procesie endocytozy z osocza [23]. Syntezę białek w płytkach krwi opisano już ponad 40 lat temu, a badania prowadzone w ostatnich latach potwierdzają, że bezjądrzaste płytki krwi mogą same przeprowadzać syntezę białek.

Pierwsze badania sugerujące możliwość syntezy białek przez niezawierające jądra komórkowego płytki krwi zostały zaprezentowane już w 1966 r. przez Warshaw i wsp. [71]. Rok później ta sama grupa badaczy definitywnie potwierdziła, że płytki krwi ssaków są zdolne do syntezy białek [72]. W swoich eksperymentach wykazali oni,

że płytki krwi włączają znakowaną węglem C14 leucynę do produktów, które ulegają enzymatycznej proteolizie, natomiast dodanie inhibitora translacji – puromycyny hamowało wbudowywanie znakowanej leucyny [3]. W 1967 r. Booyse i Rafelson [8] zaobserwowali, że płytki włączają aminokwasy do białek kurczliwych, a także wykazały wykorzystywanie przez płytki stabilnego transkryptu mRNA do syntezy białek [9]. Przez kolejne lata wielu badaczy potwierdzało zdolność płytek krwi do syntezy różnego rodzaju białek [4,10,11,19,39,62,64,67]. Agam i wsp. [1] w 1976 r. zaobserwowali proces transkrypcji, a także syntezy DNA, która zachodzi w mitochondriach płytek krwi. W 1987 r. zespołowi Kieffera i wsp. [29] udało się za pomocą immunoelektroforezy scharakteryzować białka syntetyzowane przez płytki; były to głównie glikoproteiny błonowe (GPIb, GPIIa, GPIIb), różne białka kurczliwe (aktyna, miozyna), a także białka ziarnistości płytkowych (fibrynogen, trombospondyna, albumina, czynnik von Willebrandta, czynnik XIII krzepnięcia). Dzięki zastosowaniu metody PCR ostatecznie udowodniono, że płytki zawierają mRNA niezbędne do syntezy białek [46,76].

MECHANIZM SYNTEZY BIAŁKA W PŁYTKACH KRWI

Zaobserwowano, że płytki krwi zawierają bardzo niewielką ilość mRNA, która wynosi około 2×10^{15} g i jest około 12500 razy mniejsza niż w komórkach jądrzastych [65]. Charakterystyka transkryptomu płytek poprzez analizę macierzy cDNA wykazała, że płytki zawierają tysiące par zasad zakodowanej informacji pochodzącej z megakariocytów. Dotychczas opisano około 5000 transkryptów mRNA, które znajdują się w płytkach krwi i stanowią połowę ilości transkryptów wykrytych w megakariocytach [59]. Porównanie płytkowego proteomu z transkryptomem wykazało, że 69% wszystkich białek płytkowych (zarówno tych znajdujących się w komórce, jak i białek wydzielanych podczas sekrecji) znajduje swoje odzwierciedlenie w płytkowym mRNA [43].

Oprócz cząsteczek mRNA, płytki zawierają także cząsteczki rRNA, które mają zasadnicze znaczenie w utrzymywaniu struktury i funkcji rybosomów. Cząsteczki 18S i 28S rRNA są odpowiednio połączone z podjednostkami 40S i 60S rybosomów, które obecne są w płytkach krwi, tak jak rybosomalne białko S6 i rybosomalny antygen P. Białko rybosomalne S6 jest zasocjowane z podjednostką 40S rybosomu i jest substratem dla 3 kinaz tzw. S6K, których obecność i jest stwierdzono w płytkach (p70, p85 i p90). Podczas gdy kinaza p70 nie zmienia swojej aktywności w czasie aktywacji płytek, aktywność p90 wyraźnie wzrasta po stymulacji trombina. Większość rybosomów obecnych w płytkach związanych jest z białkami kurczliwymi, które są częścią cytoszkieletu [59].

W 1989 r. Roth i wsp. [55] wykazali po raz pierwszy obecność poliadenylowanego mRNA w płytkach krwi krążących w krwiobiegu. Analiza SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) wskazuje obecność w płytkowym mRNA cytoplazmatycznych elementów poliadenylacji (CPE), które znajdują się w tzw. 3' obszarach nieulegają-

jących translacji (3'-UTRs). Ponadto 3'-UTRs są dłuższe i bardziej skomplikowane w porównaniu z mRNA komórek zawierających jądro komórkowe [16]. Obszary 3'-UTRs położone są w kierunku 3' od sekwencji kodującej między sekwencją kodującą, a ogonem poli-A i są często sygnałem do poliadenylacji poprzez przyłączanie się swoistych białek do CPE. Tak zmodyfikowana cząsteczka mRNA jest stabilną i bardziej wydajną matrycą dla procesu translacji. Płytkowe regiony 3'-UTR mRNA zawierają także dużą liczbę sekwencji bogatych w adeninę i uracyl ARE (AU-rich elements) [16,76], które regulują degradację mRNA przez wpływ na skracanie ogona poli-A [33]. Dzięki temu płytkowe mRNA jest stabilniejsze i bardziej odporne na degradację w porównaniu z mRNA znajdującym się w innych komórkach. Tłumaczy to wcześniejsze obserwacje Booyasa i Rafaelsona [9], którzy wykazali, że płytki zawierają stabilne transkrypty mRNA, mające bardzo długą żywotność skorelowaną z czasem życia płytki [77]. Ma to szczególnie istotne znaczenie w przypadku płytek krwi, gdyż ze względu na brak transkrypcji nie są one w stanie odnawiać swojej puli mRNA. Ostatnio odkryto, że translacja mRNA może być także regulowana przez cząsteczki mikroRNA (miRNA), które hybrydują do sekwencji mRNA umiejscowionych często na 3' UTR [70]. miRNA są to krótkie od 21 do 24-nukleotydów niekodujące cząsteczki RNA, które uznawane są za główne regulatory translacji u eukariontów. Jeszcze w megakariocytach geny miRNA są transkrybowane na pierwotny transkrypt miRNA – pri-miRNA (primary micro RNA), który liczy kilkaset nukleotydów i ulega enzymatycznemu przycięciu do prekursorów miRNA (pre-miRNA) przez kompleks, którego rdzeniem jest enzym Drosha o aktywności RNazy III oraz białko DGCR8. Pre-miRNA o strukturze spinki do włosów jest transportowany z jądra komórkowego do cytoplazmy, gdzie ulega dalszemu przetworzeniu z udziałem RNazy III Dicer. Następnie dojrzałe cząsteczki miRNA są włączane do kompleksu rybonukleoproteinowego, który zawiera białko Ago-2 należące do rodziny Argonaut [28]. Płytki człowieka charakteryzują się dużą różnorodnością cząsteczek miRNA. Landry i wsp. [34] w 2009 r. opisali 219 odmiennych typów miRNA znajdujących się w płytkach krwi, a także zaobserwowali obecność pre-miRNA i RNazę Dicer, co świadczy o możliwości dojrzewania prekursorów miRNA w płytkach. Te same badania wykazały, że w płytkach krwi znajdują się funkcjonalne kompleksy miRNA i białka Ago-2. Kompleksy Ago2 z miRNA223 mogą regulować ekspresję receptora purynoergicznego P2Y12, którego agonistą jest ADP i który odgrywa ważną rolę w aktywacji płytek krwi. W 2011 r. Osman i Falker [47] zidentyfikowali natomiast 281 transkryptów miRNA, z czego 228 stanowiły dojrzałe miRNA, a 53 tzw. drobne miRNA (minor miRNA). Nagalla i wsp. [44] w swoich badaniach wykryli natomiast 284 transkrypty miRNA, z czego 74 wykazywały zróżnicowaną ekspresję zależną od stopnia reaktywności płytek. Jednak zaledwie ekspresja 7 transkryptów miRNA (miR-19b, miR-34b, miR-190, miR-320a, miR-320b, miR-320c, miR-320d) wykazywała silną korelację ze stopniem odpowiedzi płytek na adrenalinę.

Płytki krwi wykazują również ekspresję dwóch bardzo ważnych regulatorów translacji eIF4E i eIF-2 α [54]. EIF4E (eukaryotic translation initiation factor 4E) jest odpowiedzialny za rozpoznawanie i wiązanie czapeczki - cap (7-metyloguanozyna) na 5'-końcu mRNA, dzięki czemu następuje transfer mRNA do rybosomów. Natomiast eIF-2 α (eukaryotic initiation factor 2 α) odpowiada za transfer inicjatorowego metionilo-tRNA do podjednostki 40S rybosomu. Dzięki współdziałaniu tych dwóch czynników płytki mogą przeprowadzać ciągłą syntezę białek podczas swojego życia. Jednak tempo syntezy białek w płytkach jest 16 razy wolniejsze niż w leukocytach [54]. Aktywacja płytek krwi powoduje redystrybucję eIF4E ze szkieletu błonowego i cytosolu do rdzenia cytoszkieletu, dzięki czemu eIF4E przyłącza się do cap cząsteczek mRNA, które są zasocjowane z cytoszkieletem. Natomiast zablokowanie integryny α IIb β 3 w aktywowanych płytkach zapobiega wiązaniu eIF4E do mRNA. Sugeruje to, że sygnał przekazywany przez α IIb β 3 może być związany z kontrolą translacji w płytkach [38]. Płytki wykazują dużą ekspresję kinazy mTOR (mammalian target of rapamycin kinase), a także dwóch jej substratów S6K1 i 4E-BP1 (eIF4E binding protein 1). Maksymalna fosforylacja S6K1 następuje po 30 min od aktywacji płytek i jest utrzymywana przez kolejne 60 min [37,74]. Aktywowana kinaza S6K1 (p70S6) może wówczas stymulować inicjację syntezy białek poprzez fosforylację rybosomalnego białka S6 i innych białek, które biorą udział w translacji mRNA. 4E-BP1 wiąże się silnie z czynnikiem inicjacji translacji eIF4E, zapobiegając jego przyłączeniu do cap przy 5'-końcu mRNA. Fosforylacja 4E-BP1 powoduje oddysocjowanie tego białka od eIF4E, dzięki czemu może się tworzyć kompleks eIF4E/eIF4G, który razem z eIF4A tworzy kompleks eIF4F inicjujący translację zależną od cap [24]. Przykładem białek, które są syntetyzowane w płytkach poprzez szlak mTOR są m.in. białko Bcl-3 [74] i cyklooksygenaza 1 [17]. Szlakami, które także mogą wpływać na fosforylację 4E-BP1 jest szlak p38 MAPK oraz szlaki aktywowane przez receptory PAR [59], czyli receptory aktywowane przez proteazy, których głównym aktywatorem jest trombina [36]. Fosforylacja białka 4E-BP1 w płytkach następuje już po 5 min od ich stymulacji trombiną [75].

GLÓWNE BIAŁKA SYNTETYZOWANE PRZEZ PŁYTKI KRWI

Płytki krwi mają zdolność ciągłej syntezy białek podczas swojego krótkiego życia (8-12 dni). Białka te biorą główny udział w spełnianiu przez te komórki ich fizjologicznej roli, czyli utrzymywaniu stanu prawidłowej hemostazy.

Czynnik XI krzepnięcia jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za tzw. fazę propagacji w procesie krzepnięcia. Trombina na zasadzie sprzężenia zwrotnego na powierzchni błon komórkowych zaktywowanych płytek krwi aktywuje czynnik XI, który następnie aktywuje czynnik IX prowadząc do utworzenia kompleksu tenazy [5,25]. Oprócz krążącego w osoczu i wytwarzanego w wątrobie czynnika XI występuje także płytkowy czynnik XI, którego synteza jest niezależna od syntezy osoczowej postaci. Dzieje się tak dlatego, że płytki krwi zawierają

mRNA dla czynnika XI i uwalniają ten czynnik podczas aktywacji [26,41,51].

Kolejnym białkiem uczestniczącym w kaskadzie krzepnięcia krwi, które jest wytwarzane przez płytki krwi jest czynnik tkankowy (TF). Czynnik ten bierze udział w procesie inicjacji krzepnięcia przez tworzenie razem z aktywnym czynnikiem VIIa na powierzchni komórek zawierających TF kompleksu enzymatycznego TF/VIIa. Kompleks ten, z udziałem fosfolipidów błon komórkowych (FL) i jonów Ca²⁺, aktywuje czynnik X i dodatkowo IX, powodując pojawienie się niewielkiej ilości trombiny, zdolnej już do aktywacji płytek krwi i uruchomienia szlaku przemian nieaktywnych osoczowych czynników krzepnięcia w formy aktywne [5,57]. Jednak płytki nie tylko udostępniają swoją powierzchnię komórkową do tworzenia się kompleksu TF/VIIa, lecz także dostarczają swój własny czynnik tkankowy. Podczas aktywacji płytki syntetyzują i ekspozują TF na swojej powierzchni [49]. Kontrola syntezy TF w płytkach krwi jest bardzo podobna jak w przypadku IL-1 β i także polega na regulacji za pomocą splicingu. Splicing pre-mRNA dla czynnika tkankowego jest kontrolowany przez kinazę Clk1 (Cdc2-like kinase 1), która jest odpowiedzialna za fosforylację czynnika splicingu 2 i alternatywnego czynnika splicingu (ASF). Zahamowanie aktywności Clk1 w płytkach zapobiega syntezie i akumulowaniu czynnika tkankowego [60].

Synteza białek uczestniczących w kaskadzie krzepnięcia i hamujących układ fibrynolizy prawdopodobnie przyczynia się do powiększania i stabilizacji skrzepliny powstającej w wyniku uszkodzenia naczynia krwionośnego. Płytki zawierają bardzo dużą ilość inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1), który uwalniany jest z ziarnistości w wyniku ich aktywacji. Uwalniany z płytek PAI-1, zwiększa odporność skrzepu bogatopłytkowej fibryny na fibrynolizę przez nieodwracalne związanie i zahamowanie aktywności tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA). Największa pula PAI-1 we krwi występuje w płytkach i stanowi około 90% znajdującego się w krwiobiegu PAI-1 [7]. Białko to może być zarówno pobierane przez płytki z osocza jak i syntetyzowane przez megakariocyty. Jednak Konkle i wsp. [30] wykazali w 1993 r., że płytki zawierają mRNA dla PAI-1. Brogren i wsp. [12] potwierdzili syntezę aktywnego PAI-1 przez płytki. W ciągu doby całkowita ilość białka PAI-1 w niestymulowanych płytkach wzrosła o 25%. Ponadto tempo syntezy znacząco się zwiększało, gdy płytki zostały aktywowane trombiną; co więcej, trombina również prowadziła do uwalniania PAI-1 z aktywowanych płytek krwi. Cząsteczki PAI-1 wytwarzane przez makrofagi, komórki śródbłonna i adipocyty, mają różnorodne wzorce glikozylacji. Natomiast brak glikozylacji wykryto w cząsteczkach PAI-1 wyizolowanych z osocza lub płytek krwi. Wskazuje to, że głównym źródłem występującego w osoczu PAI-1 mogą być właśnie płytki krwi [13].

Jednym z najważniejszych regulatorów kaskady krzepnięcia krwi jest układ białka C. Białko C jest bardzo swoistym enzymem należącym do białek zależnych od witaminy K,

którego głównym zadaniem w warunkach fizjologicznych jest hamowanie aktywności dwóch osoczowych czynników krzepnięcia: czynnika Va i czynnika VIIa. Proteolityczny rozkład czynnika Va i VIIa przez białko C powoduje rozpad kompleksów tenazy i protrombiny, a co za tym idzie, zahamowanie kaskady krzepnięcia krwi i ograniczenie konwersji protrombiny do trombiny [14]. W 1989 r. Jane i wsp. [27] zaobserwowali, że stymulowane trombiną płytki krwi wydzielają inhibitor białka C (PCI), który znosi jego antykoagulacyjne działanie. Prendes i wsp. [53] wykazali obecność mRNA dla PCI w płytkach, co może wskazywać na syntezę tego białka przez płytki podczas ich aktywacji.

W płytkach krwi kwas arachidonowy jest metabolizowany przez syntazę cyklicznego nadtlenu prostaglandyny (PGHS; PGH-synthase) zwaną również cyklooksygenazą (COX). Obecnie wyróżnia się następujące postaci enzymu: konstytutywną COX-1 oraz indukowaną COX-2. Płytki krwi wykazują mniejszą ekspresję COX-2 w porównaniu z COX-1 [73]. Na skutek przemian kwasu arachidonowego w płytkach dochodzi do wytwarzania tromboksanu A₂ (TXA₂), związku powodującego agregację płytek i skurcz naczyń krwionośnych. Kwas acetylosalicylowy jest inhibitorem cyklooksygenazy, który powoduje nieodwracalną acetylację seryny w jej centrum aktywnym (Ser-530 w przypadku COX-1 i Ser-516 COX-2), przy czym obserwuje się około 170 razy większą skuteczność hamowania COX-1 niż COX-2 przez kwas acetylosalicylowy [2,52]. Jednak okazuje się, że traktowane aspiryną płytki krwi po pewnym czasie odzyskują zdolność do syntezy tromboksanu A₂, natomiast trwale zahamowanie syntezy TXA₂ zaobserwowano dopiero w płytkach, które dodatkowo inkubowane były z inhibitorami translacji. W płytkach krwi odkryto obecność mRNA dla COX-1, które ulega *de novo* translacji do aktywnego białka [17]. Płytki również zawierają pre-mRNA dla COX-2, które ulega splicingowi, a następnie translacji po stymulacji endotoksyną bakterii Gram-ujemnych - lipopolisacharydem (LPS) [61]. Synteza COX przez płytki może częściowo wyjaśniać występowanie zjawiska tzw. aspirynooporności, czyli niezdolności aspiryny do: hamowania agregacji płytek krwi *ex vivo* i do hamowania syntezy TXA₂.

Integryna α IIb β 3 (GP IIb/IIIa) jest płytkowym receptorem dla fibrynogenu pośredniczącym w wiązaniach płytka-płytki i tworzeniu agregatów płytkowych. W płytkach krwi zaobserwowano obecność mRNA zarówno dla podjednostek tej integryny: α II jak i β 3, dzięki czemu receptor ten może być syntetyzowany w komórce [18]. Podczas przechowywania płytek krwi w pozbawionych leukocytów koncentratów płytkowych z czasem następuje wzrost ekspresji powierzchniowej integryny α IIb β 3: po 7 dniach o 13,4%, a po 10 dniach nawet o 41,9%. Natomiast całkowite stężenie podjednostki β 3 po 7 dniach ulega podwojeniu, a po 10 zwiększa się czterokrotnie [69]. Podczas przechowywania płytek następuje również wzrost stężenia cytokin, takich jak: czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF), chemokiny

CXCL7, CCL5/RANTES, czynnika wzrostu naskórka (EGF) i płytkowego czynnika wzrostu (PDGF) [22], co potwierdza, że płytki krwi mają stabilne mRNA zdolne do translacji nawet po 10 dniach.

Interleukina 1 β (IL-1 β) jest jednym z głównych czynników wywołujących stan zapalny w organizmie człowieka. IL-1 β wywołuje stymulację proliferacji limfocytów T, różnicowanie limfocytów B, pobudza uwalnianie czynników stymulujących kolonizację granulocytów (G-CSF) i makrofagów (M-CSF) oraz wzmacnia wydzielanie histaminy i prostaglandyn. Bezpośrednim następstwem działania IL-1 jest pobudzenie w czasie procesu zapalnego ekspresji białek adhezyjnych (ICAM-1, V-CAM), odpowiedzialnych za przyleganie komórek do struktur śródbłonna naczyń krwionośnych oraz stymulacja ekspresji chemokin (np. IL-8) przez komórki tkanki łącznej [56]. Lindemann i wsp. [37] w 2001 r. udowodnili, że płytki krwi zawierają mRNA, które koduje prekursor IL-1 β . Ten transkrypt znajduje się w polisomach, czyli zespole rybosomów, związanych z jedną cząsteczką mRNA. Zapewnia to mechanizm efektywnej i szybkiej syntezy tego białka po aktywacji płytek. Synteza IL-1 β jest regulowana przez splicing pre-mRNA [15,76]. Wykazano, że płytki krwi zawierają w pełni funkcjonalny spliceosom, czyli kompleks białek i RNA (snRNA), który bierze udział w wycinaniu niekodujących intronów z pre-mRNA w procesie splicingu, dzięki czemu dojrzały transkrypt mRNA może ulegać translacji. Elementy spliceosomu są obecne w cytoplazmie megakariocytów i są przekazywane do płytek podczas trombopoëzy. W odpowiedzi na aktywację receptora integrynowego α IIb β 3 następuje wycięcie intronów z pre-mRNA dla IL-1 β dając dojrzały mRNA, który następnie ulega translacji w ciągu kilku godzin [15]. Dojrzewanie mRNA w pobudzonych płytkach krwi odbywa się w wyniku ich aktywacji wywołanej trombiną - silnym fizjologicznym agonistą, a także na skutek działania lipopolisacharydu [15,61]. Synteza i wydzielanie IL-1 β , która trwa nawet kilka godzin po aktywacji płytek sugerują dotychczas nieznaną rolę płytek krwi w przebiegu stanu zapalnego. Zależność syntezy IL-1 β od aktywacji receptora integrynowego α IIb β 3 dla fibrynogenu i tworzenia agregatów wskazuje także na dotąd nieznaną powiązanie kaskady krzepnięcia i stanu zapalnego [37].

Aktywowane płytki krwi syntetyzują również białko Bcl-3 [75]. Białko to należy do rodziny I κ B, jednak białko Bcl-3 pełni odmienną funkcję niż reszta białek rodziny I κ B, ponieważ łączy się z homodimerami p50 i p52, a utworzone w ten sposób kompleksy stają się aktywatorami transkrypcji [50]. Jednak płytki krwi nie przeprowadzają transkrypcji (oprócz transkrypcji w mitochondriach) i nie mają białka p50 ani p52. Wskazuje to na inną, alternatywną funkcję białka Bcl-3. Weyrich i wsp. [75] sugerują, że zsyntetyzowane Bcl-3 wiąże się z domeną SH3 jednej z kinaz z rodziny Src - kinazy Fyn, która jest regulatorem szlaku kinazy PI3K. Fyn ponadto reguluje funkcję cytoszkieletu. Aktywacja Fyn przez syntetyzowany podczas aktywacji płytki Bcl-3 może wpływać na retrakcję skrzepu, która wykazuje zależność od syntezy Bcl-3 [74]. Dzieje się tak prawdopodobnie

dlatego, że kinazy tyrozynowe (w tym kinaza Fyn) regulują wiązanie cytoskieletu z integryną $\alpha\text{IIb}\beta_3$, co jest niezbędne do agregacji płytek [58]. Białko Bcl-3 zostało wykryte tylko w płytkach aktywowanych trombiną, natomiast jego obecności nie stwierdzono w płytkach będących w stanie spoczynku [75]. Synteza Bcl-3 w aktywowanych płytkach jest kontrolowana na wielu poziomach wliczając przekazywanie sygnału przez integrynę $\alpha\text{IIb}\beta_3$. Synteza białka Bcl-3 jest znacznie ograniczona u pacjentów z defektem genów dla $\alpha\text{IIb}\beta_3$, czyli z tzw. trombastenią Glanzmanna, podczas gdy wzrost syntezy Bcl-3 obserwowany jest u zdrowych osób w czasie przyłączania fibrynogenu do integryny $\alpha\text{IIb}\beta_3$. Syntezę Bcl-3 zaobserwowano także po aktywacji integryny $\alpha_2\beta_1$ przez kolagen [48].

PODSUMOWANIE

Wiedza dotycząca znaczenia i biologicznej aktywności płytek krwi ewoluowała w ostatnich latach od ery, kiedy około stu lat temu płytki określane były jedynie jako „kurz krwi”, do czasów współczesnych, kiedy odkryto ich zaawansowaną zdolność biosyntezy białek. Te niewielkie, pozbawione jądra komórki zdolne są do procesów dojrzewania pre-mRNA oraz translacji mRNA do swoistych białek płytkowych. Przez co rola płytek krwi nie ogranicza się wyłącznie do uczestniczenia w procesach hemostazy, ale także w stanach zapalnych, procesach odpornościowych, czy progresji nowotworów, a zaburzenia w ich powstawaniu i funkcji prowadzą do poważnych stanów patologicznych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Agam G., Bessler H., Djaldetti M.: In vitro DNA and RNA synthesis by human platelets. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976; 425: 41-48
- [2] Awtry E.H., Loscalzo J.: Aspirin. *Circulation*, 2000; 101: 1206-1218
- [3] Barbour R.A.: The leukocytes and platelets of a marsupial, *Trichosurus vulpecula*. A comparative morphological, metrical and cytochemical study. *Arch. Histol. Jpn.*, 1972; 34: 311-360
- [4] Belloc F., Hourdille P., Boisseau M.R., Bernard P.: Protein synthesis in human platelets correlation with platelet size. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, 1982; 24: 369-373
- [5] Bijak M., Bobrowski M.: Znaczenie inhibitorów trombiny w farmakoterapii przeciwzakrzepowej. *Postępy N. Med.*, 2010; 23: 819-825
- [6] Bluteau D., Lordier L., Di Stefano A., Chang Y., Raslova H., Debili N., Vainchenker W.: Regulation of megakaryocyte maturation and platelet formation. *J. Thromb. Haemost.*, 2009; 7 (Suppl. 1): 227-234
- [7] Booth N.A., Simpson A.J., Croll A., Bennett B., MacGregor I.R.: Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br. J. Haematol.*, 1988; 70: 327-333
- [8] Booyse F., Rafelson M.E.Jr.: In vitro incorporation of amino-acids into the contractile protein of human blood platelets. *Nature*, 1967; 215: 283-284
- [9] Booyse F.M., Rafelson M.E.Jr.: Stable messenger RNA in the synthesis of contractile protein in human platelets. *Biochim. Biophys. Acta*, 1967; 145: 188-190
- [10] Booyse F.M., Zschocke D., Hoveke T.P., Rafelson M.E.Jr.: Studies on human platelets. IV. Protein synthesis in maturing human platelets. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1971; 26: 167-176
- [11] Boullin D.J., Votavova M., Green A.R.: Protein synthesis by human blood platelets after accumulation of leucine and arginine. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1972; 28: 54-64
- [12] Brogren H., Karlsson L., Andersson M., Wang L., Erlinge D., Jern S.: Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1. *Blood*, 2004; 104: 3943-3948
- [13] Brogren H., Sahlbom C., Wallmark K., Lonn M., Deinum J., Karlsson L., Jern S.: Heterogeneous glycosylation patterns of human PAI-1 may reveal its cellular origin. *Thromb. Res.*, 2008; 122: 271-281
- [14] Dahlbäck B., Villoutreix B.O.: Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 1311-1320
- [15] Denis M.M., Tolley N.D., Bunting M., Schwartz H., Jiang H., Lindemann S., Yost C.C., Rubner F.J., Albertine K.H., Swoboda K.J., Fratto C.M., Tolley E., Kraiss L.W., McIntyre T.M., Zimmerman G.A., Weyrich A.S.: Escaping the nuclear confines: signal-dependent pre-mRNA splicing in anucleate platelets. *Cell*, 2005; 122: 379-391
- [16] Ditttrich M., Birschmann I., Pfrang J., Herterich S., Smolenski A., Walter U., Dandekar T.: Analysis of SAGE data in human platelets: features of the transcriptome in anucleate cell. *Thromb. Haemost.*, 2006; 95: 643-651
- [17] Evangelista V., Manarini S., Di Santo A., Capone M.L., Ricciotti E., Di Francesco L., Tacconelli S., Sacchetti A., D'Angelo S., Scilimati A., Sciulli M.G., Patrignani P.: De novo synthesis of cyclooxygenase-1 counteracts the suppression of platelet thromboxane biosynthesis by aspirin. *Circ. Res.*, 2006; 98: 593-595
- [18] Fink L., Holschermann H., Kwapiszewska G., Muiy J.P., Lengenmann B., Bohle R.M., Santoso S.: Characterization of platelet-specific mRNA by real-time PCR after laser-assisted microdissection. *Thromb. Haemost.*, 2003; 90: 749-756
- [19] Freedman M.L., Karparkin S.: Requirement of iron for platelet protein synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1973; 54: 475-481
- [20] Geddis A.E.: Megakaryopoiesis. *Semin. Hematol.*, 2010; 47: 212-219
- [21] Geraghty D.P., Griffiths J., Stewart N., Robertson I.K., Gust N.: Hematologic, plasma biochemical, and other indicators of the health of Tasmanian platypuses (*Ornithorhynchus anatinus*): predictors of mucormycosis. *J. Wildl. Dis.*, 2011; 47: 483-493
- [22] Glenister K.M., Payne K.A., Sparrow R.L.: Proteomic analysis of supernatant from pooled buffy-coat platelet concentrates throughout 7-day storage. *Transfusion*, 2008; 48: 99-107
- [23] Harrison P., Savidge G.F., Cramer E.M.: The origin and physiological relevance of α -granule adhesive proteins. *Br. J. Haematol.*, 1990; 74: 125-130
- [24] Hay N., Sonenberg N.: Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev.*, 2004; 18: 1926-1945
- [25] Hoffman M., Monroe D.M.: Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 2007; 21: 1-11
- [26] Hu C.J., Baglia F.A., Mills D.C., Konkle B.A., Walsh P.N.: Tissue-specific expression of functional platelet factor XI is independent of plasma factor XI expression. *Blood*, 1998; 91: 3800-3807
- [27] Jane S.M., Mitchell C.A., Hau L., Salem H.H.: Inhibition of activated protein C by platelets. *J. Clin. Invest.*, 1989; 83: 222-226

- [28] Józwiak P., Lipińska A.: RNA interference as a potential tool for diagnosis and therapy of some human diseases. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 504-512
- [29] Kieffer N., Guichard J., Farcet J.P., Vainchenker W., Breton-Gorius J.: Biosynthesis of major platelet proteins in human blood platelets. *Eur. J. Biochem.*, 1987; 164: 189-195
- [30] Konkle B.A., Schick P.K., He X., Liu R.J., Mazur E.M.: Plasminogen activator inhibitor-1 mRNA is expressed in platelets and megakaryocytes and the megakaryoblastic cell line CHRF-288. *Arterioscler. Thromb.*, 1993; 13: 669-674
- [31] Kralisz U.: Oddziaływania płytek krwi z komórkami śródbłonka w stanach zapalnych. Część I. Receptory adhezyjne płytek krwi, komórek śródbłonka i mikropecherzyków w homeostazie i stanach zapalnych. *Postępy Biol. Kom.*, 2008; 35: 45-60
- [32] Kralisz U.: Oddziaływania płytek krwi z komórkami śródbłonka w stanach zapalnych. Część II. Substancje uwalniane z płytek krwi - szlaki regulujące przewodzenie sygnału w komórkach śródbłonka w stanach zapalnych. *Postępy Biol. Kom.*, 2008; 35: 61-78
- [33] Kwinta Ł.: Rola sekwencji niekodujących w kancerogenezie czerniaka. *Wsp. Onk.*, 2008; 12: 99-106
- [34] Landry P., Plante I., Ouellet D.L., Perron M.P., Rousseau G., Provost P.: Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2009; 16: 961-966
- [35] Lewis J.H., Phillips L.L., Hann C.: Coagulation and hematological studies in primitive Australian mammals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1968; 25: 1129-1135
- [36] Licari L.G., Kovacic J.P.: Thrombin physiology and pathophysiology. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*, 2009; 19: 11-22
- [37] Lindemann S., Tolley N.D., Dixon D.A., McIntyre T.M., Prescott S.M., Zimmerman G.A., Weyrich A.S.: Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1 β synthesis. *J. Cell Biol.*, 2001; 154: 485-490
- [38] Lindemann S., Tolley N.D., Eyre J.R., Kraiss L.W., Mahoney T.M., Weyrich A.S.: Integrins regulate the intracellular distribution of eukaryotic initiation factor 4E in platelets. A checkpoint for translational control. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 33947-33951
- [39] Ludány A., Kellermayer M.: Protein synthesis in human platelets. *Clin. Biochem.*, 1988; 21: 107-110
- [40] Mahaut-Smith M.P., Thomas D., Higham A.B., Usher-Smith J.A., Hussain J.F., Martinez-Pinna J., Skepper J.N., Mason M.J.: Properties of the demarcation membrane system in living rat megakaryocytes. *Biophys. J.*, 2003; 84: 2646-2654
- [41] Martincic D., Kravtsov V., Gailani D.: Factor XI messenger RNA in human platelets. *Blood*, 1999; 94: 3397-3404
- [42] Mattia G., Vulcano F., Milazzo L., Barca A., Macioce G., Giampaolo A., Hassan H.J.: Different ploidy levels of megakaryocytes generated from peripheral or cord blood CD34⁺ cells are correlated with different levels of platelet release. *Blood*, 2002; 99: 888-897
- [43] McRedmond J.P., Park S.D., Reilly D.F., Coppinger J.A., Maguire P.B., Shields D.C., Fitzgerald D.J.: Integration of proteomics and genomics in platelets: a profile of platelet proteins and platelet-specific genes. *Mol. Cell. Proteomics*, 2004; 3: 133-144
- [44] Nagalla S., Shaw C., Kong X., Kondkar A.A., Edelstein L.C., Ma L., Chen J., McKnight G.S., López J.A., Yang L., Jin Y., Bray M.S., Leal S.M., Dong J.F., Bray P.F.: Platelet microRNA-mRNA coexpression profiles correlate with platelet reactivity. *Blood*, 2011; 117: 5189-5197
- [45] Nakao K., Angrist A.A.: Membrane surface specialization of blood platelet and megakaryocyte. *Nature*, 1968; 217: 960-961
- [46] Newman P.J., Gorski J., White G.C.2nd, Gidwitz S., Cretney C.J., Aster R.H.: Enzymatic amplification of platelet-specific messenger RNA using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Invest.*, 1988; 82: 739-743
- [47] Osman A., Fälker K.: Characterization of human platelet microRNA by quantitative PCR coupled with an annotation network for predicted target genes. *Platelets*, 2011; 22: 433-441
- [48] Pabla R., Weyrich A.S., Dixon D.A., Bray P.F., McIntyre T.M., Prescott S.M., Zimmerman G.A.: Integrin-dependent control of translation: engagement of integrin α IIb β 3 regulates synthesis of proteins in activated human platelets. *J. Cell Biol.*, 1999; 144: 175-184
- [49] Panes O., Matus V., Sáez C.G., Quiroga T., Pereira J., Mezzano D.: Human platelets synthesize and express functional tissue factor. *Blood*, 2007; 109: 5242-5250
- [50] Piotrowska A., Izykowska I., Podhorska-Okołów M., Zabel M., Dzięgieł P.: The structure of NF- κ B family proteins and their role in apoptosis. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 64-74
- [51] Podmore A., Smith M., Savidge G., Alhaq A.: Real-time quantitative PCR analysis of factor XI mRNA variants in human platelets. *J. Thromb. Haemost.*, 2004; 2: 1713-1719
- [52] Połać I., Boryczka K., Bijak M., Borowiecka M., Wojsiat J., Stetkiewicz T.: Kwas acetylosalicylowy i jego zastosowanie w profilaktyce chorób u kobiet po menopauzie. *Przegl. Menop.*, 2011; 1: 45-49
- [53] Prendes M.J., Bielek E., Zechmeister-Machhart M., Vanyek-Zavadil E., Carroll V.A., Breuss J., Binder B.R., Geiger M.: Synthesis and ultrastructural localization of protein C inhibitor in human platelets and megakaryocytes. *Blood*, 1999; 94: 1300-1312
- [54] Rosenwald I.B., Pechet L., Han A., Lu L., Pihan G., Woda B., Chen J.J., Szymanski I.: Expression of translation initiation factors eIF-4E and eIF-2 α and a potential physiologic role of continuous protein synthesis in human platelets. *Thromb. Haemost.*, 2001; 85: 142-151
- [55] Roth G.J., Hickey M.J., Chung D.W., Hickstein D.D.: Circulating human blood platelets retain appreciable amounts of poly (A)⁺ RNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 160: 705-710
- [56] Rozwadowska N., Fiszer D., Kurpisz M.: Function of the interleukin-1 gene system in immunomodulation, apoptosis and proliferation in the male gonad. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 56-67
- [57] Sawicka B.: Rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe: aspekty kliniczne, laboratoryjne i terapeutyczne. *Postępy Nauk Med.*, 2000; 3: 40-50
- [58] Schoenwaelder S.M., Jackson S.P., Yuan Y., Teasdale M.S., Sallam H.H., Mitchell C.A.: Tyrosine kinases regulate the cytoskeletal attachment of integrin α IIb β 3 (platelet glycoprotein IIb/IIIa) and the cellular retraction of fibrin polymers. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 32479-32487
- [59] Schubert P., Devine D.V.: De novo protein synthesis in mature platelets: a consideration for transfusion medicine. *Vox Sang.*, 2010; 99: 112-122
- [60] Schwartz H., Tolley N.D., Foulks J.M., Denis M.M., Risenmay B.W., Buerke M., Tilley R.E., Rondina M.T., Harris E.M., Kraiss L.W., Mackman N., Zimmerman G.A., Weyrich A.S.: Signal-dependent splicing of tissue factor pre-mRNA modulates the thrombogenicity of human platelets. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 2433-2440
- [61] Shashkin P.N., Brown G.T., Ghosh A., Marathe G.K., McIntyre T.M.: Lipopolysaccharide is a direct agonist for platelet RNA splicing. *J. Immunol.*, 2008; 181: 3495-3502
- [62] Shaw T., Chesterman C.N., Morgan F.J.: In vitro synthesis of low molecular weight proteins in human platelets: absence of labelled release products. *Thromb. Res.*, 1984; 36: 619-631
- [63] Sikora J., Kostka B.: Struktura i aktywacja płytek krwi oraz ich zastosowanie jako komórek modelowych. *Postępy Biol. Kom.*, 2005; 32: 561-570
- [64] Soslaw G., Rybicki A.: In vitro incorporation of fucose and methionine into human platelet proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982; 109: 1256-1263

- [65] Sottile J., Mosher D.F., Fullenweider J., George J.N.: Human platelets contain mRNA transcripts for platelet factor 4 and actin. *Thromb. Haemost.*, 1989; 62: 1100-1102
- [66] Stalsberg H., Prydz H.: Studies on chick embryo thrombocytes. II. Function in primary hemostasis. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1963; 143: 291-299
- [67] Steiner M., Baldini M.: Protein synthesis in aging blood platelets. *Blood*, 1969; 33: 628-633
- [68] Tanaka Y., Eishi Y., Morris B.: Splenic hemopoiesis of the platypus (*Ornithorhynchus anatinus*): evidence of primary hemopoiesis in the spleen of a primitive mammal. *Am. J. Anat.*, 1988; 181: 401-405
- [69] Thon J.N., Devine D.V.: Translation of glycoprotein IIIa in stored blood platelets. *Transfusion*, 2007; 47: 2260-2270
- [70] Valencia-Sanchez M.A., Liu J., Hannon G.J., Parker R.: Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes Dev.*, 2006; 20: 515-524
- [71] Warshaw A.L., Laster L., Shulman N.R.: The stimulation by thrombin of glucose oxidation in human platelets. *J. Clin. Invest.*, 1966; 45: 1923-1934
- [72] Warshaw A.L., Laster L., Shulman N.R.: Protein synthesis by human platelets. *J. Biol. Chem.*, 1967; 242: 2094-2097
- [73] Weber A.A., Przytulski B., Schumacher M., Zimmermann N., Gams E., Hohlfeld T., Schrör K.: Flow cytometry analysis of platelet cyclooxygenase-2 expression: induction of platelet cyclooxygenase-2 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Br. J. Haematol.*, 2002; 117: 424-426
- [74] Weyrich A.S., Denis M.M., Schwartz H., Tolley N.D., Foulks J., Spencer E., Kraiss L.W., Albertine K.H., McIntyre T.M., Zimmerman G.A.: mTOR-dependent synthesis of Bcl-3 controls the retraction of fibrin clots by activated human platelets. *Blood*, 2007; 109: 1975-1983
- [75] Weyrich A.S., Dixon D.A., Pabla R., Elstad M.R., McIntyre T.M., Prescott S.M., Zimmerman G.A.: Signal-dependent translation of a regulatory protein, Bcl-3, in activated human platelets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 5556-5561
- [76] Weyrich A.S., Schwartz H., Kraiss L.W., Zimmerman G.A.: Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *J. Thromb. Haemost.*, 2009; 7: 241-246
- [77] Zimmerman G.A., Weyrich A.S.: Signal-dependent protein synthesis by activated platelets: new pathways to altered phenotype and function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008; 28: s17-s24

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.