

## Proteinase-Activated Receptors in The Nervous System: Physiological and Pathological Aspects

Atefeh Aminian<sup>1</sup>, Farshid Noorbakhsh<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

<sup>2</sup>Department of Immunology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 30 Nov 2017

Article Info:

Accepted: 4 Feb 2018

### ABSTRACT

**Introduction:** Proteinase-activated receptors (PARs), a family of four G protein-coupled receptors, are characterized by their unique activation mechanism which involves the proteolytic unmasking of a tethered ligand. To date, four PARs receptors have been discovered in human and mammals. All four members of the PARs family are expressed in the nervous system, where they have been shown to affect neural cell morphology, proliferation, and function. Furthermore, PARs play significant roles in degenerative and neuroinflammatory diseases, including Alzheimer's disease, multiple sclerosis, HIV-associated dementia, and stroke. The widespread distribution of PARs in the nervous system and their potential roles in different disorders make them attractive therapeutic targets for neurological diseases. **Conclusion:** In this review we summarize the roles of PARs in the central and peripheral nervous systems in the physiological setting as well as in pathological conditions.

### Key words:

1. Receptors, Proteinase-Activated
2. Thrombin
3. Central Nervous System

\*Corresponding Author: Farshid Noorbakhsh

E-mail: f-noorbakhsh@sina.tums.ac.ir

## گیرنده‌های فعال شونده با پروتئیناز در سیستم عصبی، جنبه‌های فیزیولوژی و پاتولوژی

عاطفه امینیان<sup>۱</sup>، فرشید نوربخش<sup>۲\*</sup><sup>۱</sup>گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران<sup>۲</sup>گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۵ بهمن ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۹ آذر ۱۳۹۶

## چکیده

**مقدمه:** گیرنده‌های فعال شونده با پروتئیناز، خانواده‌ای متشکل از ۴ گیرنده متصل شونده به G پروتئین هستند که با مکانیسم فعالسازی خاص آن‌ها مشخص می‌شود و مستلزم آشکار شدن لیگاند فعال کننده پروتئولیتیک است. تا به امروز چهار گیرنده PAR در انسان و پستانداران کشف شده است. هر چهار عضو خانواده PAR در سیستم عصبی بیان شده‌اند، جایی که نشان داده شده است، بر ریخت‌شناسی، تکثیر و عملکرد سلول عصبی تأثیر دارند. به علاوه PAR ها در بیماری‌های التهابی و تحلیل برنده عصبی مانند بیماری آلزایمر، مالتیپل اسکلروز، دمانس ناشی از HIV و سکته‌های مغزی نقش معنی‌داری دارند. توزیع گسترده PAR ها در سیستم عصبی و نقش آن‌ها در اختلالات مختلف، آن‌ها را به اهداف درمانی مناسبی برای اختلالات عصبی تبدیل نموده است. **نتیجه‌گیری:** در این مقاله ما نقش PAR ها در سیستم عصبی محیطی و مرکزی در شرایط فیزیولوژی و نیز شرایط پاتولوژیک را مرور می‌کنیم.

## کلید واژه‌ها:

۱. گیرنده‌های فعال شونده با پروتئیناز
۲. ترومبین
۳. سیستم عصبی مرکزی

\* نویسنده مسئول: فرشید نوربخش

آدرس الکترونیکی: f-noorbakhsh@sina.tums.ac.ir

مقدمه

هرچند PAR ها اولین بار در روند جستجو برای گیرنده‌هایی که واسطهٔ اثرات شبه هورمونی ترومبین در پلاکت‌ها بودند کشف گردیدند، مطالعات بیشتر بیان وسیع آن‌ها را در انواع مختلفی از سلول‌ها در دستگاه‌های گوارشی، قلبی-عروقی، تنفسی، ادراری تناسلی و سیستم اعصاب محیطی و مرکزی نشان داده‌اند. در این مقاله، به مروری بر مکانیسم اثر و بیان PAR ها، عملکرد فیزیولوژیک آن‌ها در سیستم عصبی محیطی و مرکزی و نقش درمانی بالقوه‌شان در بیماری‌های عصبی خواهیم پرداخت.

مکانیسم‌های پیام‌رسانی

اولین عضو خانوادهٔ PAR یعنی PAR1 در سال ۱۹۹۰ به دنبال جستجو برای یافتن گیرنده‌ای که اثرات ترومبین را واسطه‌گری می‌کند کشف شد (۵). پس از آن، PAR2 عضو فعال‌شونده با تریپسین و نیز ۲ گیرندهٔ دیگر فعال‌شونده با ترومبین یعنی PAR3 و PAR4 کشف گردیدند (۸-۶). مکانیسم‌های پروتئولیتیکی که فعالیت PAR ها را تنظیم می‌کنند، پیچیده‌تر از آنچه ابتدا پیش‌بینی می‌گردید، هستند (جدول ۲).

سرین پروتئینازها نواحی خاصی در پایانهٔ آمینی خارج سلولی PAR1، PAR2 و PAR4 را برش داده تا قسمتی به نام tethered ligand آشکار گردد. سپس tethered ligand به لوپ‌های خارج سلولی گیرنده متصل می‌شود که این امر منجر به فعال شدن گیرنده و فراخوانی G

گیرنده‌های فعال‌شونده با پروتئیناز (PARs) خانوادهٔ جدیدی از گیرنده‌های متصل به G پروتئین (GPCR) هستند که در انواع زیادی از سلول‌ها بیان می‌شوند و به‌وسیلهٔ مکانیسم منحصر به فردی که شامل آشکارسازی پروتئولیتیک سکانس آمینی انتهایی گیرنده است فعال می‌گردند (۲، ۱). سکانس آشکار شده در حالی که به گیرنده متصل است به‌عنوان tethered ligand عمل نموده و با اتصال به قسمت خارج سلولی گیرنده منجر به فعال شدن آن می‌گردد. چهار عضو خانوادهٔ PAR کلون شده‌اند که بر اساس سکانس tethered ligand و حساسیت برای فعال شدن توسط سرین پروتئینازها، از هم متمایز می‌شوند (۳، ۱). PAR1 و PAR3 ترجیحاً به‌وسیلهٔ ترومپسین شکسته و در نتیجه فعال می‌گردند، PAR2 ترجیحاً توسط تریپسین و نیز تریپتاز ماست سل‌ها و PAR4 توسط هم تریپسین و هم ترومبین فعال می‌گردند. به‌علاوه شماری از سرین پروتئینازهای اندوژن می‌توانند PAR ها را فعال نمایند (جدول ۱-۴).

PAR ها همچنین در صورت فقدان برش پروتئولیتیکی می‌توانند به‌وسیلهٔ پپتیدهای کوچکی که مشابه سکانس tethered ligand (مثلاً TFLLR برای PAR1 و SLIGRL برای PAR2) هستند، فعال گردند. این پپتیدها به‌عنوان آگونیست‌های انتخابی برای مطالعهٔ عملکرد PAR ها در داخل و خارج بدن مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴).

جدول ۱- خصوصیات گیرنده‌های فعال شونده با پروتئیناز (۱، ۲).

PAR4	PAR3	PAR2	PAR1	
ترومبین، تریپسین، کاتپسین G، فاکتور VIIa / فاکتور X	ترومبین، تریپسین	تریپسین، تریپتاز، فاکتور VIIa / فاکتور بافتی / فاکتور X، سرین پروتئاز نوع غشایی ۱	ترومبین، تریپسین، کاتپسین G، گرانزایم A، فاکتور VIIa / فاکتور X	پروتئینازهای فعال کننده
GYPGQV	TFRGAP	SLIGKV	SFLLR	سکانس tethered ligand
GYPGQV-NH <sub>2</sub> , GYPGKF-NH <sub>2</sub> , AYPGKF-NH <sub>2</sub>	-----	SLIGKV-NH <sub>2</sub> , SLIGRL-NH <sub>2</sub> , trans-cinnamoyl-LIGRLO-NH <sub>2</sub>	TFRIFD, TFLLR-NH <sub>2</sub>	پپتید فعال کننده
Ca <sup>2+</sup>	ERK1/2	Gaq/ Ca <sup>2+</sup> , Ga12/13-Rho, MAPK, ERK1/2, β-arrestin, Akt, Gai and Gas/cAMP	Gaq/Ca <sup>2+</sup> , Ga12/13-Rho, β-arrestin/ERK1/2, Ga12/13-Rho, MAPK	مسیرهای پیام‌رسانی
قشر، هیپوکامپ، آمیگدال، تالاموس و هیپوتالاموس	قشر، هیپوکامپ، تالاموس، آمیگدال، هیپوتالاموس، نورون‌های استریاتال در مغز، ریشهٔ پشتی گانگلیون، نورون‌های میان‌تربیک و ساب موکوزال در PNS	قشر، هیپوکامپ، تالاموس، آمیگدال، هیپوتالاموس، نورون‌های استریاتال در مغز، ریشهٔ پشتی گانگلیون، نورون‌های میان‌تربیک و ساب موکوزال در PNS	هیپوکامپ، نورون‌های قشر و آمیگدال، ریشهٔ پشتی گانگلیون، نورون‌های میان‌تربیک و ساب موکوزال در PNS	نواحی موجود PARs در سیستم عصبی

<sup>1</sup> Protease-activated receptors

<sup>2</sup> G protein-coupled receptor

جدول ۲- مکانیسم‌های پیام‌رسانی PAR ها (۲، ۳).

مکانیسم‌های پیام‌رسانی PARs	مثال	توضیحات
فعال شدن استاندارد (canonical)	فعال شدن PAR3 توسط ترومبیین	پروتئازهای از جمله ترومبیین و تریپسین، PAR ها را در محل‌های برش canonical قطع می‌کنند. توالی tethered ligand ظاهر شده به لوب‌های خارج سلولی متصل می‌گردد. PAR ها که با این مکانیسم‌ها فعال می‌گردند، اغلب با مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به G پروتئین‌ها و یا وابسته به $\beta$ -ارستین تعامل می‌نمایند.
biased agonism	فعال شدن PAR1 توسط الاستاز	پروتئازهایی چون APC، MMP1 و الاستاز، PAR ها را در محل‌هایی مجزا از نواحی برش canonical قطع می‌کنند. ممکن است tethered ligand جدیدی آشکار گردد که با محل‌هایی در گیرنده برش داده شده تعامل نموده و منجر به فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی منحصر به فرد و biased گردد.
فعال شدن توسط پپتیدهای فعال کننده	فعال شدن PAR2 توسط SLIGKV-NH2	پپتیدهای سنتتیک محلولی هستند که عملکرد tethered ligand آشکار شده به وسیلهٔ پروتئازها را در محل‌های canonical و biased تقلید می‌کنند. می‌توانند همان مسیرهای پروتئازها را فعال نمایند و یا مسیرهای پیام‌رسانی مختلف را شروع و ایجاد biased پیام‌رسانی کنند.
فعال شدن non-tethered ligand	فعال شدن PAR2 توسط الاستاز	برخی پروتئازها از جمله الاستاز، PAR ها را برش داده و ظاهر tethered ligand آشکار نمی‌گردد. پیشنهاد شده که پروتئولیز به تنهایی ممکن است گیرنده را فعال نماید.
Proteolytic disarming	غیر فعال نمودن PAR2 توسط کاتپسین	پروتئازهایی مانند کاتپسین G، با برش دادن PAR ها، tethered ligand را حذف و یا آسیب می‌زنند. بنابراین مانع فعال شدن پروتئولیتیک می‌گردند.

پپتیدهای سنتتیک کوتاه مشتق از توالی tethered ligand و یا دارای شباهت سکانس با آن می‌توانند به‌عنوان پپتیدهای فعال کننده و آگونیست PAR عمل نمایند. پروتئازهای فعال کنندهٔ PAR مانند ترومبیین و تریپسین دارای تارگت‌های متعددی می‌باشند و استفاده از آن‌ها در مطالعات PAR همراه با Off Target Effect های بسیار می‌باشد. از این رو پپتیدهای آگونیست که به‌طور اختصاصی بر روی PAR ها اثر می‌گذارند تبدیل به ابزارهای ارزنده‌ای در مطالعات PAR شده‌اند و بسیاری از اثرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک PAR ها با استفاده از این پپتیدهای آگونیست کشف و گزارش شده است (۱۶، ۱۷).

### بیان PAR ها در سیستم عصبی مرکزی و محیطی

هر چهار PAR به‌طور وسیعی در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی (CNS)<sup>۵</sup> روی نورون‌ها، آستروسیت‌ها و سلول‌های میکروگلیا و نیز روی نورون‌ها و سلول‌های شوان در سیستم عصبی محیطی (PNS)<sup>۶</sup> بیان می‌شوند (جدول ۱)-(۲۱-۱۸). بیان PAR1 در نورون‌های هیپوکامپ، آمیگدال، قشر جوندگان دیده شده در حالی که PAR2 و PAR3 با تراکم بالا در نورون‌های هیپوکامپ، آمیگدال، قشر، تالاموس، هیپوتالاموس و استریاتوم بیان می‌شوند. توزیع PAR4 در CNS نیز در نواحی مشابهی است (۱۸، ۱).

نکتهٔ جالب اینکه نورون‌ها، آستروسیت‌ها و میکروگلیا همچنین توانایی بیان سرین پروتئازها را دارا می‌باشند که می‌توانند باعث فعال شدن PAR ها گردند (۲۶-۲۲). هر چند ابتدا به نظر می‌رسید که ترومبیین فعال کنندهٔ PAR ها در CNS منشأ خارجی داشته باشد، بعدها دیده

پروتئین‌ها و دیگر مولکول‌های پیام‌رسانی<sup>۳</sup> در بخش داخل سلولی گیرنده می‌گردد (۹). برش انتهای آمینی PAR3 نیز، یک tethered ligand بالقوه را ظاهر می‌کند ولی اینکه آیا این گیرنده توانایی سیگنال دادن به خودش را دارد مشخص نیست. به نظر می‌رسد PAR3 به‌عنوان کوفاکتور فعال شدن PAR4 با واسطهٔ ترومبیین عمل می‌کند (۱۰، ۳) و ممکن است به‌عنوان قسمتی از هتروداایمر PAR1-PAR3 سیگنال دهی کند (۱۱، ۲).

مطالعات جدید نشان داده‌اند که علاوه بر مکانیسم سیگنال دهی PARها از طریق G پروتئین‌ها، فعال شدن این گیرنده‌ها به‌وسیلهٔ tethered ligand می‌تواند منجر به سیگنال‌دهی از طریق مکانیسم‌های غیر وابسته به G پروتئین و با واسطهٔ  $\beta$ -ارستین گردد (۱۲). به‌علاوه اگر سرین پروتئازها انتهای آمینی را در محلی پایین‌تر از سکانس tethered ligand برش بزنند (Proteolytic disarming)، PAR دیگر برای فعال شدن توسط آنزیم هدف (مثلاً ترومبیین یا تریپسین) در دسترس نیست (۱۳، ۱۴). این روند منجر به خاموش شدن پاسخ گیرنده به آنزیم‌های فعال کنندهٔ PAR می‌گردد (آنتاگونیسم گیرنده). هر چند یکسری از مطالعات نشان داده‌اند که آنزیمی چون الاستاز که می‌تواند پیام‌رسانی PAR با واسطهٔ تریپسین را خنثی کند، همچنین می‌تواند به‌طور انتخابی پیام‌رسانی PAR2 را از طریق مسیر پروتئین کیناز فعال شونده با میتوزن (MAPK)<sup>۴</sup> و بدون افزایش ابتدایی در سطح کلسیم داخل سلولی که به‌وسیلهٔ tethered ligand آشکار شده در اثر تریپسین استاندارد (canonical) ایجاد می‌گردد، فعال نماید (biased-agonism) (۱۵، ۲).

<sup>3</sup> Signaling<sup>4</sup> Mitogen-activated protein kinase<sup>5</sup> Central nervous system<sup>6</sup> Peripheral nervous system

خونریزی داخل مغزی، ایسکمی و وضعیت‌های التهابی و یا بیماری‌های تحلیل برنده عصبی<sup>۱۱</sup> دخیل دانسته‌اند. نقص PAR1 و یا مهار فارماکولوژیکی آن با آنتاگونیست BMS-200261 باعث کاهش حجم سکنه به دنبال انسداد شریان میانی مغزی در مدل موشی سکنه مغزی ایسکمیک (۳۵) و نیز کاهش آسیب نورونی ایجاد شده در اثر تزریق اینترا استرایاتال N-متیل دی آسپاراتات (NMDA)<sup>۱۲</sup> در موش صحرایی گردیده است (۳۶). از طرف دیگر در مطالعه‌ای به اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی آپوپتیک پتید فعال کننده آنتی (SFLLRN-NH2) PAR1 و نیز تأثیرات ضد ایسکمی آن در مدل سکنه مغزی ایسکمیک که با انسداد شریان میانی مغز به صورت درون تنی و نیز محرومیت گلوکز و اکسیژن (OGD)<sup>۱۳</sup> در کشت اولیه نورون‌های قشری جنین موش صحرایی ایجاد شده، اشاره شده است (۳۷). در مطالعه‌ای دیگر دیده شده که مهارکننده‌های PAR1 آسیب مغزی ایجاد شده در اثر خونریزی داخل مغزی را کاهش می‌دهند (۳۸). به علاوه، نمونه‌های بافت مغز پس از مرگ بیماران دچار دمانس ناشی از HIV (یک بیماری تحلیل برنده عصبی در بیماران مبتلا به ایدز) نشان داده‌اند که بیان PAR1 در آستروسیت‌ها افزایش یافته که به نوبه خود بیان واسطه‌های التهابی توسط سلول‌های التهابی را القاء می‌کند (۳۹، ۴۰). همچنین مهارکننده‌های اختصاصی PAR1 بیان سایتوکین‌های التهابی میکروگلیا توسط  $\alpha$ -synuclein (پروتئینی با نقش کلیدی در بیماری زایی بیماری پارکینسون) را کاهش داده‌اند (۴۱). به طور مشابه نقص PAR1 و نیز تجویز آنتاگونیست‌های PAR1 داخل بطنی باعث کاهش آسیب نورونی دوپامینرژیک و میکروگلیوزیس در مدل پارکینسون القاء شده با MPTP (۱ متیل-۴ فنیل-۲-۳-۶-تتراهیدروپیریدین) گردیده است (۴۲). علاوه بر اثرات پیش التهابی و نوروتوکسیک، PAR1 تکثیر و آستروگلیوزیس را پس از آسیب مغزی واسطه‌گری می‌کند (۴۳).

روی هم رفته این مطالعات نشان داده‌اند که PAR1 غالباً دارای نقش پیش‌التهابی و تحلیل برنده عصبی در شماری از آسیب‌های مغزی است که به اهمیت بالقوه درمانی آنتاگونیست‌های PAR1 در موارد بیماری‌های مزمن و حاد CNS اشاره می‌کند. هرچند گزارشاتی نشان داده‌اند که فعال شدن PAR1 می‌تواند نقش حفاظت کننده عصبی<sup>۱۴</sup> داشته باشد که این اثر موافق با تأثیر دوزهای پایین ترومبین و یا آگونیست‌های PAR1 در مطالعات برون تنی است.

فعال شدن PAR2 در مغز در ارتباط با تحریک نورونی،

شد که همه امکانات لازم برای تولید، فعال شدن و تنظیم ترومبین در سیستم عصبی موجود است. بیان پروترومبین و نیز فاکتور X (فعال کننده اصلی پروترومبین) در سطح mRNA و پروتئین در کشت سلولی نورونی و نواحی مختلف مغز انسان و موش صحرایی در طول نمو دیده شده است (۲۷-۲۹). همچنین مهارکننده‌های ترومبین مانند پروتاز نکسین ۱ (PN1)<sup>۱۵</sup> و آنتی ترومبین ۳ (AT3)<sup>۱۶</sup> در کشت‌های آستروگلیال و مغز یافت شده‌اند (۲۸). این آنزیم‌ها به طور موضعی تولید می‌گردند و به همراه پروتئینازهای انعقادی فعال کننده PAR ها که به علت سد خونی مغزی (BBB)<sup>۱۷</sup> آسیب دیده وارد CNS می‌گردند، همه شرایط لازم برای پیام‌رسانی PAR ها را فراهم می‌نمایند.

در PNS به دنبال آسیب، از عروق خونی و بافت‌ها، ترومبین و کاتپسین G آزاد شده که می‌توانند فعالیت PAR1 و PAR4 را روی اعصاب مجاور تنظیم کنند، بدین ترتیب که ترومبین، PAR1 و PAR4 و کاتپسین G، PAR4 را فعال نموده و کاتپسین G، PAR1 را غیرفعال می‌کند. اگرچه تریپسین به عنوان پروتئیناز اصلی فعال کننده PAR2 شناخته می‌شود؛ این آنزیم در بیشتر بافت‌ها حضور ندارد. بنابراین از آن جایی که ماست سل‌ها در شبکه کورویید، نواحی اطراف عروقی و پارانشیم CNS و در تماس نزدیک با اعصاب محیطی هستند (۳۱، ۳۰)، تریپتاز ماست سل‌ها کاندیدای خوبی برای فعال نمودن PAR2 نورونی می‌باشد.

#### عملکرد فیزیولوژیک PAR ها در سیستم عصبی و دخالت در بیماری‌زایی اختلالات CNS

اثر PAR ها بر روی نمو، تکثیر و زنده ماندن سلول‌های عصبی به طور گسترده‌ای با استفاده از مدل‌های برون تنی و درون تنی مورد مطالعه قرار گرفته است. فعال شدن PAR1 در نورون‌ها و آستروسیت‌ها، ریخت‌شناسی<sup>۱۸</sup>، فرایند گسترش و نیز بقای سلول را تنظیم می‌کند (۳۲، ۳۳، ۱۰). سطح پایین فعالیت PAR1 به واسطه غلظت‌های پیکومولار ترومبین دارای اثرات حفاظتی بر علیه تحریکات زیان آور و عکس نمودن فرایند گسترش آستروسیتی است، در حالی که سطح بالای فعالیت این گیرنده توسط غلظت‌های نانومولار ترومبین باعث به مخاطره انداختن حیات نورون و تکثیر آستروسیت‌ها می‌گردد. این اثرات توسط پپتیدهای فعال کننده PAR1 نیز ایجاد می‌گردند (۳۴، ۳). افزایش تکثیر آستروسیت‌ها منجر به آستروگلیوزیس که ویژگی مشترک بسیاری از اختلالات دژنراتیو و التهابی CNS است؛ می‌گردد (۱).

مطالعات بسیاری پیام‌رسانی PAR1 را در بیماری‌زایی

<sup>7</sup> Protease nexin-1

<sup>8</sup> Antithrombin 3

<sup>9</sup> Blood brain barrier

<sup>10</sup> Morphology

<sup>11</sup> Neurodegenerative

<sup>12</sup> N-Methyl-D-aspartate

<sup>13</sup> Oxygen-glucose deprivation

<sup>14</sup> Neuroprotective



PAR ها بر روی سلول‌های عصبی در نتیجه تغییر در محیط مغز، سطح پیام‌رسانی PAR ها در طول بیماری را تغییر می‌دهند. در اختلالات دژنراتیو و التهابی مزمن بیان تغییر یافته PAR ممکن است پدیده غالب باشد؛ در حالی که در آسیب‌های حاد (مانند تروما یا سکته مغزی) افزایش نفوذ و یا تولید موضعی پروتئین‌ها می‌تواند غالب گردد (۳).

اگرچه PAR1 واسطه اثرات دژنراتیو ترومبیین در مغز محسوب می‌گردد؛ بیان وسیع PAR3 و PAR4 در سلول‌های عصبی دخالت احتمالی این رسپتورها را نیز در بیماری‌های مغزی مطرح می‌کند. سیگنالینگ PAR4 در اثر ترومبیین منجر به فعال شدن سلول‌های میکروگلیا می‌گردد (۲۰) که به نوبه خود در التهاب عصبی سهیم است. در مقایسه با موش‌های سالم، موش‌های دچار نقص PAR4 کاهش قابل توجهی در سایز سخته در مدل ایسکمی CNS را نشان می‌دهند که همراه با کاهش چسبیدن لکوسیت‌ها، ادم مغزی و آسیب BBB می‌باشد (۵۱). بنابراین PAR2 و PAR4 هر دو ممکن است در ایجاد ایسکمی CNS دخالت داشته باشند. نقش PAR3 در پاتولوژی مغز کمتر مشخص است. ایسکمی کانونی منجر به بیان PAR3 روی سلول‌های میکروگلیا می‌گردد که با افزایش بیان PAR4 روی نورون‌ها در ارتباط است (۱۹). همراه با PAR1، پیام‌رسانی PAR3 همچنین در حفاظت با واسطه APC نورون‌ها علیه تحریکات آپوپتوتیک دخالت دارد. مجموع این مطالعات نشانگر نقش PARها در پاتولوژی‌های مختلف مغز می‌باشد؛ باین حال هدف قرار دادن PAR ها در CNS توسط داروهایی که توانایی وارد شدن به مغز را دارند هنوز مانع مهمی است.

#### عملکرد PAR ها در سیستم عصبی محیطی

همانطور که قبلاً گفته شد PAR ها در سلول‌های مختلف اعصاب محیطی یافت شده و مطالعات صورت گرفته نقش بالقوه PAR ها را در التهاب نوروژنیک، حس درد، خارش و رزتراسیون عصبی نشان داده‌اند.

PAR1 و PAR2 در نورون‌های اولیه آوران نخاع بیان شده و حس درد را تنظیم می‌کنند. آگونیست‌های PAR2 (پپتیدهای فعال کننده PAR2 و تریپسین) آزادسازی پپتید وابسته به ژن کلسی تونین (CGRP) و ماده P (SP) را در نورون‌های محیطی و مرکزی آوران نخاع با مکانیسمی وابسته به کلسیم افزایش می‌دهند (۵۳، ۵۲، ۱). در مدلی از درد نوروپاتیک القا شده با اگزالی‌پلاتین در رت نیز دیده شد که بیان PAR2 در شاخ پشتی سطحی نخاع افزایش یافته و مهار نمودن PAR2 و transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) آزادسازی CGRP و SP و پاسخ درد ایجاد شده توسط تحریکات مکانیکی را کاهش داده است (۵۴). مطالعات

انتقال سیناپسی و پلاستیسیته است (۴۶-۴۴). بررسی‌های پیام‌رسانی PAR2 در مغز نشان از هر دو تأثیر دژنراتیو و حفاظت کننده این گیرنده دارد. در بیماری آلزایمر افزایش بیان PAR2 دیده شده که فعال شدن PAR2 نورونی علیه نوروتوکسیسیته ایجاد شده با واسطه بتا آمیلوئید حفاظت کننده بوده در حالی که تحریک PAR2 روی سلول‌های میکروگلیا منجر به افزایش ترشح فاکتورهای نوروتوکسیک و تضعیف مکانیسم‌های ضدالتهابی آستروسیتی و در نتیجه مرگ نورون می‌گردد؛ بنابراین PAR2 در این بیماری هر دو اثر حفاظت کننده و پاتوژنیک را دارد (۴۷). افزایش بیان PAR2 در مدل‌های موشی دمانس ناشی از HIV نقش حفاظت کننده عصبی دارد و حیوانات دچار نقص در PAR2 به اثرات نوروتوکسیک پروتئین‌های کد شده HIV حساس تر هستند (۴۸). مطالعات دیگر همچنین نشان داده‌اند که PAR2 نقش‌های حفاظت عصبی در سخته مغزی ایسمیک دارد. حیوانات دچار نقص PAR2 سایز سخته بزرگتری داشتند و تراکم بالایی از سلول‌های آپوپتوتیک در مدل موشی ایسکمی کانونی CNS دیده شده است (۴۹). بیان زیاد PAR2 در سلول‌های مونوسیتوئید<sup>۱۵</sup> ماده سفید بیماران مبتلا به MS با القای بیان سایتوکین‌های التهابی در ایجاد التهاب نورونی نقش دارد. همچنین در موش‌های دچار نقص PAR2 با القای مدل تجربی بیماری MS یعنی آنسفالومیلیت اتوایمیون تجربی (EAE)<sup>۱۶</sup>، فرم ملایم‌تری از بیماری دیده شده است (۴). در مطالعه‌ای که بر روی مغز بیماران مبتلا به پارکینسون پس از مرگ انجام شده، بیان تغییر یافته PAR2 و برخی پروتئین‌های کنترل کننده عملکرد این گیرنده در نواحی مختلف مغز گزارش شده است (۵۰).

این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که آگونیست‌های PAR2 ممکن است نقش بالقوه درمانی در برخی بیماری‌های تحلیل برنده عصبی داشته باشند. با این وجود اثر پیش التهابی ایجاد شده توسط PAR2 بر سلول‌های مونوسیتوئید و شاید در روند بیماری پارکینسون این امکان را پیچیده می‌کند و احتمال اینکه مهار PAR2 بتواند التهاب نورونی را کاهش دهد را مطرح می‌کند. بنابراین شاید بتوان چنین فرض کرد که فعالیت PAR2 ممکن است در بیماری‌های عصبی همراه با میزان کمتری از نفوذ سلول‌های التهابی و یا فعالیت میکروگلیا مفید باشد در حالی که آنتاگونیست‌های PAR2 ممکن است التهاب و در نتیجه آسیب نورونی را در اختلالاتی چون MS که فعالیت سیستم ایمنی سهم عمده‌ای در نوروپاتولوژی بیماری دارد را کاهش دهند (۳).

بررسی‌ها بر روی بیماری‌زایی اختلالات مغزی نشان داده که ۲ پدیده مستقل نشت پروتئین‌های پلاسما از طریق BBB آسیب دیده و همچنین افزایش و یا کاهش بیان

<sup>15</sup> Monocytoid

<sup>16</sup> Experimental autoimmune encephalomyelitis

وابسته به دوز pro-nociceptive و ضد دردی در نواحی احشایی و سوماتیک ایجاد کنند (۵۶).

### نتیجه گیری

PAR ها نه تنها از نظر روندهای التهاب عصبی و بیماری‌های تحلیل برنده عصبی اهمیت دارند؛ بلکه در ترمیم، نمو و پلاستیسیته CNS و نیز احساس درد و خارش در PNS نقش اساسی دارند. خصوصیت منحصر به فرد این گیرنده‌ها مکانیسم پروتئولیتیک غیرقابل بازگشت فعال شدنشان است که منجر به ایجاد tethered ligand می‌گردد. از آن جایی که PAR ها در سیستم عصبی توسط سرین پروتئینازهای اندوژن فعال گشته و عملکردهای فیزیولوژیک و یا پاتولوژیک خود را اعمال می‌کنند، فهم بیشتر شرایط فعال شدن این پروتئینازها که منجر به فعالیت گیرنده خاص خود می‌گردند لازم به نظر می‌رسد. با وجود این حقیقت که GPCR ها از مهم‌ترین گروه گیرنده‌های هدف دارو به شمار می‌روند، ساختن داروهایی با هدف اختصاصی PAR چالش برانگیز بوده است. روش‌های متفاوتی برای ساختن داروهایی با هدف کنترل عملکرد PAR ها به کار رفته ولی مسئله قدرت دارو، اختصاصی بودن و پروفایل ضعیف فارماکوکینتیک دارو برای دسترسی به CNS هنوز وجود دارد.

مشابهی به نقش PAR2 در التهاب نورونیک اشاره دارند (۳، ۵۲). از طرف دیگر دیده شده که تزریق داخل پوستی آگونیست PAR2 می‌تواند منجر به پاسخ خارش گردد و این پاسخ زمانی که آگونیست در داخل ضایعه تزریق گردد تشدید می‌شود (۵۰).

اگرچه PAR1 نیز در اعصاب حسی که حاوی SP و CGRP هستند بیان می‌شود، التهاب ایجاد شده توسط پپتیدهای آگونیست PAR1 با مکانیسمی مجزا از آزادسازی نوروپپتیدها بوده است و مطالعاتی نشان داده‌اند که آگونیست‌های PAR1 اثرات ضد دردی، افزایش آستانه حس درد و مهار هایپرالژزیا و آلودینیای التهابی دارند (۵۵).

از سوی دیگر شواهد بسیاری به نقش مهم PAR4 در بیماری‌زایی التهاب و درد اشاره کرده‌اند. این گیرنده در نورون‌های ریشه پستی گانگلیون (DRG) بیان شده و سرین پروتئینازهای تولید شده در روند آسیب و التهاب PAR4 را در نورون‌ها برش داده و ایجاد هایپرالژزیا می‌کنند. این روند نیاز به حساس شدن کانال‌های یونی TRPV (TRPV1, TRPV4) به وسیله پروتئین کیناز C و مسیر پیام‌رسانی MAPK/ERK و نیز افزایش آزادسازی CGRP و SP در پاسخ به تحریکات دمایی و مکانیکی دارد. آگونیست‌های PAR4 ممکن است اثرات

### منابع

- Noorbakhsh F, Vergnolle N, Hollenberg MD, Power C. Proteinase-activated receptors in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(12): 981-90.
- Zhao P, Metcalf M, Bunnett NW. Biased signaling of protease-activated receptors. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5: 67. doi:10.3389/fendo.2014.00067.
- Ramachandran R, Noorbakhsh F, Defea K, Hollenberg MD. Targeting proteinase-activated receptors: therapeutic potential and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(1): 69-86.
- Noorbakhsh F, Tsutsui S, Vergnolle N, Boven LA, Shariat N, Vodjgani M, et al. Proteinase-activated receptor 2 modulates neuroinflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Exp Med*. 2006; 203(2): 425-35.
- Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell*. 1991; 64(6): 1057-68.
- Rasmussen UB, Vouret-Craviari V, Jallat S, Schlesinger Y, Pages G, Pavirani A, et al. cDNA cloning and expression of a hamster alpha-thrombin receptor coupled to Ca<sup>2+</sup> mobilization. *FEBS Lett*. 1991; 288(1-2): 123-8.
- Nystedt S, Emilsson K, Wahlestedt C, Sundelin J. Molecular cloning of a potential proteinase activated receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(20): 9208-12.
- Bohm SK, Kong W, Bromme D, Smeekens SP, Anderson DC, Connolly A, et al. Molecular cloning, expression and potential functions of the human proteinase-activated receptor-2. *Biochem J*. 1996; 314(3): 1009-16.
- Adams MN, Ramachandran R, Yau MK, Suen JY, Fairlie DP, Hollenberg MD, et al. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors. *Pharmacol Ther*. 2011; 130(3): 248-82.
- Nakanishi-Matsui M, Zheng YW, Sulciner DJ, Weiss EJ, Ludeman MJ, Coughlin SR. PAR3 is a cofactor for PAR4 activation by thrombin. *Nature*. 2000; 404(6778): 609-13.
- McLaughlin JN, Patterson MM, Malik AB. Protease-activated receptor-3 (PAR3) regulates PAR1 signaling by receptor dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;

<sup>17</sup> Dorsal root ganglia

104(13): 5662-7.

12. Defea K. Beta-arrestins and heterotrimeric G-proteins: collaborators and competitors in signal transduction. *Br J Pharmacol.* 2008; 153(1): S298-309.

13. Dulon S, Cande C, Bunnett NW, Hollenberg MD, Chignard M, Pidard D. Proteinase-activated receptor-2 and human lung epithelial cells: disarming by neutrophil serine proteinases. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003; 28(3): 339-46.

14. Renesto P, Si-Tahar M, Moniatte M, Balloy V, Van Dorsselaer A, Pidard D, et al. Specific inhibition of thrombin-induced cell activation by the neutrophil proteinases elastase, cathepsin G, and proteinase 3: evidence for distinct cleavage sites within the amino terminal domain of the thrombin receptor. *Blood.* 1997; 89(6): 1944-53.

15. Ramachandran R, Mihara K, Chung H, Renaux B, Lau CS, Muruve DA, et al. Neutrophil elastase acts as a biased agonist for proteinase-activated receptor-2 (PAR2). *J Biol Chem.* 2011; 286(28): 24638-48.

16. Scarborough RM, Naughton MA, Teng W, Hung DT, Rose J, Vu TK, et al. Tethered ligand agonist peptides. Structural requirements for thrombin receptor activation reveal mechanism of proteolytic unmasking of agonist function. *J Biol Chem.* 1992 ;267(19): 13146-9.

17. Hollenberg MD, Saifeddine M, al-Ani B, Kawabata A. Proteinase-activated receptors: structural requirements for activity, receptor cross-reactivity, and receptor selectivity of receptor-activating peptides. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997; 75(7): 832-41.

18. Striggow F, Riek-Burchardt M, Kiesel A, Schmidt W, Henrich-Noack P, Breder J, et al. Four different types of protease-activated receptors are widely expressed in the brain and are up-regulated in hippocampus by severe ischemia. *Eur J Neurosci.* 2001; 14(4): 595-608.

19. Henrich-Noack P, Riek-Burchardt M, Baldauf K, Reiser G, Reymann KG. Focal ischemia induces expression of protease-activated receptor 1 (PAR1) and PAR3 on microglia and enhances PAR4 labeling in the penumbra. *Brain Res.* 2006; 1070(1): 232-41.

20. Suo Z, Wu M, Citron BA, Gao C, Festoff BW. Persistent protease-activated receptor 4 signaling mediates thrombin-induced microglial activation. *J Biol Chem.* 2003; 278(33): 31177-83.

21. Wang H, Ubl JJ, Reiser G. Four subtypes of protease-activated receptors, co-expressed in rat astrocytes, evoke different physiological signaling. *Glia.* 2002; 37(1):

53-63.

22. Scarisbrick IA, Isackson PJ, Ciric B, Windebank AJ, Rodriguez M. MSP, a trypsin-like serine protease, is abundantly expressed in the human nervous system. *J Comp Neurol.* 2001; 431(3): 347-61.

23. Bennett MJ, Blaber SI, Scarisbrick IA, Dhanarajan P, Thompson SM, Blaber M. Crystal structure and biochemical characterization of human kallikrein 6 reveals that a trypsin-like kallikrein is expressed in the central nervous system. *J Biol Chem.* 2002; 277(27): 24562-70.

24. Sokolova E, Reiser G. Prothrombin/thrombin and the thrombin receptors PAR-1 and PAR-4 in the brain: localization, expression and participation in neurodegenerative diseases. *Thromb Haemost.* 2008; 100(4): 576-81.

25. Yoshida S, Shiosaka S. Plasticity-related serine proteases in the brain (review). *Int J Mol Med.* 1999; 3(4): 405-9.

26. Turgeon VL, Houenou LJ. The role of thrombin-like (serine) proteases in the development, plasticity and pathology of the nervous system. *Brain Res Rev.* 1997; 25(1): 85-95.

27. Deschepper CF, Bigornia V, Berens ME, Lapointe MC. Production of thrombin and antithrombin III by brain and astroglial cell cultures. *Molecular Brain Research.* 1991; 11(3-4): 355-8

28. Dihanich M, Kaser M, Reinhard E, Cunningham D, Monard D. Prothrombin mRNA is expressed by cells of the nervous system. *Neuron.* 1991; 6(4): 575-81.

29. Shikamoto Y, Morita T. Expression of factor X in both the rat brain and cells of the central nervous system. *FEBS Lett.* 1999; 463(3): 387-9.

30. Theoharides TC. Mast cells: the immune gate to the brain. *Life Sci.* 1990; 46(9): 607-17.

31. Stead RH, Tomioka M, Quinonez G, Simon GT, Felten SY, Bienenstock J. Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; 84(9): 2975-9.

32. Luo W, Wang Y, Reiser G. Protease-activated receptors in the brain: receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev.* 2007; 56(2): 331-45.

33. Tanaka M, Yoneyama M, Shiba T, Yamaguchi



- T, Ogita K. Protease-activated receptor-1 negatively regulates proliferation of neural stem/progenitor cells derived from the hippocampal dentate gyrus of the adult mouse. *J Pharmacol Sci.* 2016; 131(3): 162-71.
34. Beecher KL, Andersen TT, Fenton JW, Festoff BW. Thrombin receptor peptides induce shape change in neonatal murine astrocytes in culture. *J Neurosci Res.* 1994; 37(1):108-15
35. Junge CE, Sugawara T, Mannaioni G, Alagarsamy S, Conn PJ, Brat DJ, et al. The contribution of protease-activated receptor 1 to neuronal damage caused by transient focal cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(22): 13019-24.
36. Hamill CE, Mannaioni G, Lyuboslavsky P, Saštre AA, Traynelis SF. Protease-activated receptor 1-dependent neuronal damage involves NMDA receptor function. *Exp Neurol.* 2009; 217(1): 136-46.
37. Zhen X, Ng ES, Lam FF. Suppression of ischaemia-induced injuries in rat brain by protease-activated receptor-1 (PAR-1) activating peptide. *Eur J Pharmacol.* 2016; 786: 36-46.
38. Xue M, Hollenberg MD, Demchuk A, Yong VW. Relative importance of proteinase-activated receptor-1 versus matrix metalloproteinases in intracerebral hemorrhage-mediated neurotoxicity in mice. *Stroke.* 2009; 40(6): 2199-204.
39. Acharjee S, Zhu Y, Maingat F, Pardo C, Ballanyi K, Hollenberg MD, et al. Proteinase-activated receptor-1 mediates dorsal root ganglion neuronal degeneration in HIV/AIDS. *Brain.* 2011; 134(11): 3209-21.
40. Boven LA, Vergnolle N, Henry SD, Silva C, Imai Y, Holden J, et al. Up-regulation of proteinase-activated receptor 1 expression in astrocytes during HIV encephalitis. *J Immunol.* 2003; 170(5): 2638-46.
41. Lee EJ, Woo MS, Moon PG, Baek MC, Choi IY, Kim WK, et al. Alpha-synuclein activates microglia by inducing the expressions of matrix metalloproteinases and the subsequent activation of protease-activated receptor-1. *J Immunol.* 2010; 185(1): 615-23.
42. Hamill CE, Caudle WM, Richardson JR, Yuan H, Pennell KD, Greene JG, et al. Exacerbation of dopaminergic terminal damage in a mouse model of Parkinson's disease by the G-protein-coupled receptor protease-activated receptor 1. *Mol Pharmacol.* 2007; 72(3): 653-64.
43. Nicole O, Goldshmidt A, Hamill CE, Sorensen SD, Sastre A, Lyuboslavsky P, et al. Activation of protease-activated receptor-1 triggers astrogliosis after brain injury. *J Neurosci.* 2005; 25(17): 4319-29.
44. Gan J, Greenwood SM, Cobb SR, Bushell TJ. Indirect modulation of neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus by activation of proteinase-activated receptor-2. *BJP.* 2011; 163(5): 984-94.
45. Lohman RJ, O'Brien TJ, Cocks TM. Protease-activated receptor-2 regulates trypsin expression in the brain and protects against seizures and epileptogenesis. *Neurobiol Dis.* 2008; 30(1): 84-93.
46. Lohman RJ, Jones NC, O'Brien TJ, Cocks TM. A regulatory role for protease-activated receptor-2 in motivational learning in rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2009; 92(3): 301-9.
47. Afkhami-Goli A, Noorbakhsh F, Keller AJ, Vergnolle N, Westaway D, Jhamandas JH, et al. Proteinase-activated receptor-2 exerts protective and pathogenic cell type-specific effects in Alzheimer's disease. *J Immunol.* 2007; 179(8): 5493-503.
48. Noorbakhsh F, Vergnolle N, McArthur JC, Silva C, Vodjgani M, Andrade-Gordon P, et al. Proteinase-activated receptor-2 induction by neuroinflammation prevents neuronal death during HIV infection. *J Immunol.* 2005; 174(11): 7320-9.
49. Jin G, Hayashi T, Kawagoe J, Takizawa T, Nagata T, Nagano I, et al. Deficiency of PAR-2 gene increases acute focal ischemic brain injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: J Cereb Blood Flow Metab.* 2005; 25(3): 302-13.
50. Bar-Shavit R, Maoz M, Kancharla A, Jaber M, Agranovich D, Grisaru-Granovsky S, et al. Protease-activated receptors (PARs) in cancer: Novel biased signaling and targets for therapy. *Methods Cell Biol.* 2016; 132: 341-58.
51. Mao Y, Zhang M, Tuma RF, Kunapuli SP. Deficiency of PAR4 attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010; 30(5): 1044-52.
52. Rothmeier AS, Ruf W. Protease-activated receptor 2 signaling in inflammation. *Semin Immunopathol.* 2012; 34(1): 133-49.
53. Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, Tognetto M, Amadesi S, Ennes HS, et al. Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med.* 2000; 6(2): 151-8.

54. Chen K, Zhang ZF, Liao MF, Yao WL, Wang J, Wang XR. Blocking PAR2 attenuates oxaliplatin-induced neuropathic pain via TRPV1 and releases of substance P and CGRP in superficial dorsal horn of spinal cord. *J Neurol Sci.* 2015; 352(1-2): 62-7.

55. Asfaha S, Brussee V, Chapman K, Zochodne DW, Vergnolle N. Proteinase-activated receptor-1 agonists

attenuate nociception in response to noxious stimuli. *Br J Pharmacol.* 2002; 135(5): 1101-6.

56. Bao Y, Gao Y, Yang L, Kong X, Zheng H, Hou W, et al. New insights into protease-activated receptor 4 signaling pathways in the pathogenesis of inflammation and neuropathic pain: a literature review. *Channels.* 2015; 9(1): 5-13.