

## 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

### Article Info:

Received: 30 Nov 2017

Revised: 17 Jan 2018

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

اصلاحیه: ۲۷ دی ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۹ آذر ۱۳۹۶

### چکیده

**مقدمه:** گیرنده‌های فعال شونده با پروتئیناز، خانواده‌ای متصل شونده به G پروتئین هستند که با مکانیسم فعالسازی خاص آن‌ها مشخص می‌شود و مستلزم آشکار شدن لیگاند فعال کننده پروتولیتیک 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 PAR‌ها در بیماری‌های التهابی و تحلیل برندۀ عصبی مانند بیماری آزاییر، مالتیپل اسکلروز، دمانس ناشی از HIV و سکته‌های مغزی نقش معنی‌داری دارند. توزیع گسترده PAR‌ها 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 PAR‌ها 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. ترمبین
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 واسطه 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 خانواده PAR یعنی PAR1 در سال ۱۹۹۰ به دنبال جستجو برای یافتن گیرنده‌ای که اثرات ترومبین PAR2 را واسطه‌گری می‌کند کشف شد (۵). پس از آن، نیز ۲ گیرنده دیگر عضو فعل شونده با تریپسین و نیز ۲ گیرنده دیگر فعل شونده با ترومبین یعنی PAR3 و PAR4 کشف گردیدند (۶-۸). مکانیسم‌های پروتولوژیکی که فعالیت PAR ها را تنظیم می‌کنند، پیچیده‌تر از آنچه ابتدا پیش‌بینی می‌گردید، هستند (جدول ۲).

سرین پروتئینازها نواحی خاصی در پایانه آمنی خارج سلولی PAR1، PAR2 و PAR4 را برش داده تا قسمتی به tethered ligand نام آشکار گردد. سپس PAR ها را لوب‌های خارج سلولی گیرنده متصل می‌شود که این امر منجر به فعل شدن گیرنده و فراخوانی G

گیرنده‌های فعل شونده با پروتئیناز (PARs)<sup>۱</sup> خانواده جدیدی از گیرنده‌های متصل به G پروتئین (GPCR)<sup>۲</sup> هستند که در انواع زیادی از سلول‌ها بیان می‌شوند و به وسیله مکانیسم منحصر به فردی که شامل آشکارسازی پروتولوژیک سکانس آمنی انتهای گیرنده است فعال می‌گردد (۱، ۲). سکانس آشکار شده در حالی که به گیرنده متصل است به عنوان tethered ligand عمل نموده و با اتصال به قسمت خارج سلولی گیرنده منجر به فعل شدن آن می‌گردد. چهار عضو خانواده PAR کلون شده‌اند که بر اساس سکانس tethered ligand و حساسیت برای فعل شدن توسط سرین پروتئینازها، از هم متمایز می‌شوند (۱، ۳). PAR1 و PAR3 ترجیحاً به وسیله ترومبین شکسته و در نتیجه فعل می‌گردد، PAR2 ترجیحاً توسط تریپسین و نیز تریپتاز ماستسل‌ها و PAR4 توسط هم تریپسین و هم ترومبین فعل می‌گردد. به علاوه شماری از سرین پروتئینازهای اندوزن می‌توانند PAR ها را فعل نمایند (جدول ۱-۴).

PAR ها همچنین در صورت فقدان برش پروتولوژیکی می‌توانند به وسیله پپتیدهای کوچکی که مشابه سکانس SLIGRL (متلا TFLLR برای PAR1 و PAR2) هستند، فعل گردد. این پپتیدها به عنوان آگونیست‌های انتخابی برای مطالعه عملکرد PAR ها در داخل و خارج بدن مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴).

جدول ۱- خصوصیات گیرنده‌های فعل شونده با پروتئیناز (۱۰، ۲).

PAR4	PAR3	PAR2	PAR1	
ترومبین، تریپسین، G، فاکتور X/VIIa	ترومبین، تریپسین	تریپسین، فاکتور VIIa فاکتور X غشایی	ترومبین، تریپسین، G، فاکتور X	پروتئینازهای فعل کننده
GYPGQV	TFRGAP	SLIGKV	SFLLR	tethered لیگاند سکانس
GYPGQV-NH <sub>2</sub> , GYPGKF-NH <sub>2</sub> , AYPGKF-NH <sub>2</sub>	-----	SLIGKV-NH <sub>2</sub> , SLIGL-NH <sub>2</sub> , trans- cinnamoyl-LIGRLO- NH <sub>2</sub>	TFRIFD, TFLLR-NH <sub>2</sub>	پپتید فعل کننده
Ca <sup>2+</sup>	ERK1/2	Gαq/Ca <sup>2+</sup> , Gal2/13-Rho, MAPK, ERK1/2, β-arrestin, Akt, Gai and Gas/cAMP	Gαq/Ca <sup>2+</sup> , Gal2/13-Rho, β-arrestin/ERK1/2, Gal2/13-Rho, MAPK	مسیرهای پیامرسانی
قشر، هیپوکامپ، آمیگدال، هیپوپotalamus تمار	تمار، هیپوکامپ، آمیگدال، هیپوپotalamus، نورون‌های استریاتال در مغز، ریشه پشتی گانگلیون، نورون‌های میانتریک و ساب میانتریک و ساب موکزال در PNS	قشر، هیپوکامپ، آمیگدال، نورون‌های استریاتال در مغز، ریشه پشتی گانگلیون، نورون‌های میانتریک و ساب موکزال در PNS	هیپوکامپ، نورون‌های قشر و آمیگدال، ریشه پشتی گانگلیون، نورون‌های میانتریک و ساب موکزال در PNS	نواحی موجود PARs در سیستم عصبی

<sup>1</sup> Protease-activated receptors<sup>2</sup> G protein-coupled receptor

# شناخت

جدول ۲- مکانیسم‌های پیامرسانی PAR ها<sup>۲، ۳</sup>

مکانیسم‌های پیامرسانی PARs	مثال	توضیحات
فعال شدن استاندارد (canonical)	فعال شدن PAR3 توسط ترومبین	پروتازهای از جمله ترومبین و تریپسین، PAR ها در محلهای برش خارج سلولی متصل می‌گردند. 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	پروتازهای جون MMP1، APC و الاستاز PAR ها در محلهای مجزا از نواحی برش canonical قطع می‌کنند. ممکن است tethered ligand جدیدی آشکار گردد که با محلهای در گیرنده برش داده شده تعامل نموده و منجر به فعال شدن مسیرهای پیامرسانی منحصر به فرد و biased گردد.
فعال شدن توسعه پیتیدهای فعال کننده	فعال شدن PAR2 توسط SLIGKV-NH2	پیتیدهای سنتیک محلولی هستند که عملکرد آشکار شده به وسیله پروتازها در محلهای canonical و biased می‌کنند. می‌توانند همان مسیرهای پروتازها 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 پروتازها از جمله الاستاز PAR ها بر برش داده و ظاهر tethered ligand آشکار نمی‌گردند. پیشنهاد شده که پروتازهای به تهابی ممکن است گیرنده را فعال نمایند.
Proteolytic disarming	غیر فعال نمودن PAR2 توسط کاتپسین	پروتازهای مانند کاتپسین G، یا برش دادن PAR ها، tethered ligand را حذف و یا آسیب می‌زنند، بنابراین مانع فعال شدن پروتولوژیک می‌گردند. <sup>۴</sup>

tethered ligand پیتیدهای سنتیک کوتاه مشتق از توالی پروتازهای از جمله الاستاز، PAR ها بر برش داده و ظاهر tethered ligand آشکار نمی‌گردند. پیشنهاد شده که پروتازهای به تهابی ممکن است گیرنده را فعال نمایند. از این رو پیتیدهای آگونیست که به طور 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 پیتیدهای آگونیست کشف و گزارش شده است (۱۶، ۱۷).

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

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

نکته جالب اینکه نورون‌ها، آستروسیت‌ها و میکروگلیا همچنین توانایی بیان سرین پروتازها را دارا می‌باشند که می‌توانند باعث فعال شدن PAR ها گردد (۲۲-۲۶). هرچند ابتدا به نظر می‌رسید که ترومبین فعال کننده 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 به عنوان کوفاکتور فعال شدن PAR4 با واسطه ترومبین عمل می‌کند (۱۰) و ممکن است به عنوان قسمتی از هترودایمر PAR1-PAR3 سیگنال دهی کند (۱۱).

مطالعات جدید نشان داده‌اند که علاوه بر مکانیسم سیگنال دهی PAR ها از طریق G پروتئین‌ها، فعال شدن این گیرندها به وسیله tethered ligand می‌تواند منجر به سیگنال دهی از طریق مکانیسم‌های غیر وابسته به G پروتئین و با واسطه  $\beta$ -ارستین گردد (۱۲). به علاوه اگر سرین پروتازها انتهای آمینی را در محلی پایین‌تر از سکانس tethered ligand برش بزنند (Proteolytic disarming)، دیگر برای فعال شدن توسط آزیم هدف (متلاً ترومبین یا تریپسین) در دسترس نیست به آنژیم‌های فعال کننده PAR می‌گردد (آنتاگونیسم گیرنده). هر چند یکسری از مطالعات نشان داده‌اند که آنژیمی چون الاستاز که می‌تواند پیامرسانی PAR با واسطه تریپسین را خنثی کند، همچنین می‌تواند به طور انتخابی پیامرسانی PAR2 را از طریق مسیر پروتئین کیناز فعال شونده با میتوژن (MAPK)<sup>۷</sup> و بدون افزایش ابتدایی در سطح کلسیم داخل سلولی که به وسیله آشکار شده در اثر تریپسین استاندارد tethered ligand (biased canonical) ایجاد می‌گردد، فعال نماید (agonism).

<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 برندۀ عصبی<sup>۱۱</sup> دخیل دانسته‌اند. نقص PAR1 و یا مهار فارماکولوژیکی آن با آنتاگونوئیست BMS-200261 باعث کاهش حجم سکته به دنبال انسداد شریان میانی مغزی در مدل موشی سکته مغزی ایسکمیک (۳۵) و نیز کاهش آسیب نورونی ایجاد شده در اثر تزریق اینترایاتال N-متیل دی‌آسپارتات (NMDA)<sup>۱۲</sup> در موش صحرایی گردیده است (۳۶). از طرف دیگر در مطالعه‌ای به اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی آپوپتیک پیتید فعال کننده PAR1 (SFLLRN-NH2)<sup>۱۳</sup> و نیز تأثیرات ضد ایسکمی آن در مدل سکته مغزی ایسکمیک که به با انسداد شریان میانی مغز به صورت درون‌تنی و نیز محرومیت گلوکز و اکسیژن (OGD)<sup>۱۴</sup> در کشت اولیه نورون‌های قشری جنین موش صحرایی ایجاد شده، اشاره شده است (۳۷). در مطالعه‌ای دیگر دیده شده که مهار کننده‌های 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 برندۀ عصبی در بیماران مبتلا به ایدز) نشان داده‌اند که بیان PAR1 در آستروسویتها افزایش یافته که به نوبه خود بیان واسطه‌های التهابی توسط سلول‌های التهابی را القاء می‌کند (۳۹، ۴۰). همچنین مهار کننده‌های 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 آنتاگونوئیست‌های PAR1 داخل بطی نسبت کاهش آسیب نورونی دوپامینرژیک و MPTP (۱۵-۴۲) فنیل-۳،۶-۲-۱-تراهیدروپریدین) گردیده است (۴۲). علاوه بر اثرات پیش التهابی و نوروتوکسیک، PAR1 تکثیر و آستروگلوزیس را پس از آسیب مغزی واسطه‌گری می‌کند (۴۳).

روی هم رفته این مطالعات نشان داده‌اند که PAR1 غالباً دارای نقش پیش التهابی و تحلیل برندۀ عصبی در شماری از آسیب‌های مغزی است که به اهمیت بالقوه درمانی آنتاگونوئیست‌های PAR1 در موارد بیماری‌های مزمم 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 ترمومبین و یا آگونوئیست‌های PAR1 در مطالعات برون‌تنی است.

فعال شدن PAR2 در مغز در ارتباط با تحریک نورونی،

<sup>۷</sup> Protease nexin-1

<sup>۸</sup> Antithrombin 3

<sup>۹</sup> Blood brain barrier

<sup>۱۰</sup> Morphology

شد که همه امکانات لازم برای تولید، فعال شدن و تنظیم ترمومبین در سیستم عصبی موجود است. بیان پروتومبین و نیز فاکتور X (فعال کننده اصلی پروتومبین) در سطح mRNA و پروتئین در کشت سلولی نورونی و نواحی مختلف مغز انسان و موش صحرایی در طول نمودیده شده است (۲۹-۳۷). همچنین مهار کننده‌های ترمومبین مانند پروتئاز آنکسین ۱ (PN1)<sup>۱۵</sup> و آنتی ترمومبین 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، ترمومبین و کاتپسین G آزاد شده که می‌توانند فعالیت PAR1 و PAR4 را روی اعصاب مجاور تنظیم کنند، بدین ترتیب که ترمومبین PAR1 و PAR4 و کاتپسین G، PAR2 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 ماستسل‌ها در شبکه کوروئید، نواحی اطراف عروقی و پارانشیم CNS و در تماس نزدیک با اعصاب محیطی هستند (۳۰، ۳۱)، تریپتاز ماستسل‌ها کاندیدای خوبی برای فعال شدن PAR2 نورونی می‌باشد.

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

اثر PAR ها بر روی نمو، تکثیر و زندگانی سلول‌های عصبی به طور گستره‌ای با استفاده از مدل‌های برون‌تنی و درون‌تنی مورد مطالعه قرار گرفته است. فعال شدن PAR1 در نورون‌ها و آستروسویتها، ریخت‌شناسی<sup>۱۸</sup>، فرایند گسترش و نیز بقای سلول را تنظیم می‌کند (۳۲، ۳۳). سطح پایین فعالیت PAR1 به واسطه غلظت‌های پیکومولار ترمومبین دارای اثرات حفاظتی بر علیه تحریکات زیان آور و عکس نمودن فرایند گسترش آستروسویتی است، در حالی که سطح بالای فعالیت این گیرنده توسط غلظت‌های نانومولار ترمومبین باعث به مخاطره انداختن حیات نورون و تکثیر آستروسویتها می‌گردد. این اثرات توسط پیتیدهای فعال کننده PAR1 نیز ایجاد می‌گردند (۳۴، ۳۵). افزایش تکثیر آستروسویتها منجر به آستروگلوزیس که ویژگی مشترک بسیاری از اختلالات دُزِنراتیو و التهابی CNS است؛ می‌گردد (۱).

### مطالعات بسیاری پیامرسانی PAR1 را در بیماری‌زایی

<sup>۱۱</sup> Neurodegenerative

<sup>۱۲</sup> N-Methyl-D-aspartate

<sup>۱۳</sup> Oxygen–glucose deprivation

<sup>۱۴</sup> Neuroprotective

PAR ها بر روی سلول های عصبی در نتیجه تغییر در محیط مغز، سطح پیام رسانی PAR ها در طول بیماری را تغییر می دهند. در اختلالات دژنراتیو و التهابی مزمن بیان تغییر یافته PAR ممکن است پدیده غالب باشد؛ در حالی که در آسیب های حاد (مانند ترومایا سکته مغزی) افزایش نفوذ و یا تولید موضعی پروتئینازها می تواند غالب گردد.<sup>(۳)</sup>

اگرچه PAR1 واسطه اثرات دژنراتیو ترومیین در مغز محسوب می گردد؛ بیان وسیع PAR3 و PAR4 در سلول های عصبی دخالت احتمالی این رسپتورها را نیز در بیماری های مغزی مطرح می کند. سیگنالینگ PAR4 در اثر ترومیین منجر به فعال شدن سلول های میکرو گلیا می گردد<sup>(۲۰)</sup> که به نوبه خود در التهاب عصبی سهیم است. در مقایسه با موش های سالم، موش هایی دچار نقش PAR4 کاهش قابل توجهی در سایز سکته در مدل ایسکمی CNS را نشان می دهند که همراه با کاهش چسبیدن لکوسیت ها، ادم مغزی و آسیب BBB می باشد<sup>(۵۱)</sup>. بنابراین PAR4 و 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 سلول های میکرو گلیا می گردد که با افزایش بیان PAR4 روی نورون ها در ارتباط است<sup>(۱۹)</sup>. همراه با PAR1 پیام رسانی PAR3 همچنین در حفاظت با واسطه APC نورون ها علیه تحریکات آپوپتویک دخالت دارد. مجموع این مطالعات نشانگر نقش PAR ها در پاتولوژی های مختلف مغز می باشد؛ با این 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 قبل از گفته شد PAR ها در سلول های مختلف اعصاب محیطی یافت شده و مطالعات صورت گرفته نقش بالقوه PAR ها را در التهاب نوروژنیک، حس درد، خارش و رُزناسیون عصبی نشان داده اند.

PAR1 و PAR2 در نورون های اولیه آوران نخاع بیان شده و حس درد را تنظیم می کنند. آگونیست های PAR2 (پیتید های فعال کننده PAR2 و تریپسین) آزادسازی پیتید وابسته به زن کلسی توئین (CGRP) و ماده P (SP) را در نورون های محیطی و مرکزی آوران نخاع با مکانیسمی وابسته به کلسیم افزایش می دهند<sup>(۱۰، ۵۲، ۵۳)</sup>. در مدلی از درد نوروپاتیک القا شده با اگزالی پلاتین در رت نیز دیده شد که بیان PAR2 در شاخ پشتی سطحی نخاع افزایش یافته و مهار نمودن آزادسازی CGRP و SP و پاسخ درد ایجاد شده توسط تحریکات مکانیکی را کاهش داده است<sup>(۵۴)</sup>. مطالعات

انتقال سیناپسی و پلاستیسیتی است<sup>(۴۴-۴۶)</sup>. بررسی های پیام رسانی 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 نورو توکسیسیتی ایجاد شده با واسطه بتا آمیلوئید حفاظت کننده بوده در حالی که تحریک PAR2 روی سلول های میکرو گلیا منجر به افزایش ترشح فاکتورهای نورو توکسیک و تضعیف مکانیسم های ضد التهابی آسترودسیتی و در نتیجه مرگ نورون می گردد؛ بنابراین PAR2 در این بیماری هر دو اثر حفاظت کننده و پاتوژنیک را دارد<sup>(۴۷)</sup>. افزایش بیان PAR2 در مدل های موشی دمانس ناشی از HIV نقش حفاظت کننده عصبی دارد و حیوانات دچار نقص در PAR2 به اثرات نورو توکسیک پروتئین های کد شده HIV حساس تر هستند<sup>(۴۸)</sup>. مطالعات دیگر همچنین نشان داده اند که PAR2 نقش های حفاظت عصبی در سکته مغزی ایسمیک دارد. حیوانات دچار نقص PAR2 سایز سکته بزرگتری داشتند و تراکم بالایی از سلول های آپوپتویک در مدل موشی ایسکمی کانونی CNS دیده شده است<sup>(۴۹)</sup>. بیان زیاد PAR2 در سلول های مونوسیتoid<sup>۱۵</sup> ماده سفید بیماران مبتلا به MS با القای بیان سایتوکین های التهابی در ایجاد التهاب نورونی نقش دارد. همچنین در موش های دچار نقص PAR2 با القای مدل تجربی بیماری MS یعنی آسفالومیلت اتوایمیون تجربی (EAE)<sup>۱۶</sup>، فرم ملایم تری از بیماری دیده شده است<sup>(۴)</sup>. در مطالعه ای که بر روی مغز بیماران مبتلا به پارکینسون پس از مرگ انجام شده، بیان تغییر یافته PAR2 و برخی پروتئین های کنترل کننده عملکرد این گیرنده در نواحی مختلف مغز گزارش شده است<sup>(۵۰)</sup>.

این مطالعات پیشنهاد می کنند که آگونیست های PAR2 ممکن است نقش بالقوه درمانی در برخی بیماری های تحلیل برندۀ عصبی داشته باشند. با این وجود اثر پیش التهابی ایجاد شده توسط توسط PAR2 بر سلول های مونوسیتoid و شاید در روند بیماری پارکینسون این امکان را پیچیده می کند و احتمال اینکه مهار PAR2 بتواند التهاب نورونی را کاهش دهد را مطرح می کند. بنابراین شاید بتوان چنین فرض کرد که فعالیت PAR2 ممکن است در بیماری های عصبی همراه با میزان کمتری از نفوذ سلول های التهابی و یا فعالیت میکرو گلیا مفید باشد در حالی که آنتاگونیست های PAR2 ممکن است التهاب و در نتیجه آسیب نورونی را در اختلالاتی چون MS که فعالیت سیستم ایمنی سهم عمده ای در نوروپاتولوژی بیماری دارد را کاهش دهند<sup>(۳)</sup>.

بررسی ها بر روی بیماری زایی اختلالات مغزی نشان داده که ۲ پدیده مستقل نشست پروتئین های پلاسمای طریق آسیب دیده و همچنین افزایش و یا کاهش بیان BBB

<sup>۱۵</sup> Monocyte

<sup>۱۶</sup> Experimental autoimmune encephalomyelitis

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

### نتیجه‌گیری

PAR ها نه تنها از نظر روندهای التهاب عصبی و بیماری‌های تحلیل برنده عصبی اهمیت دارند؛ بلکه در ترمیم، نمو و پلاستیسیتی CNS و نیز احساس درد و خارش در PNS نقش اساسی دارند. خصوصیت منحصر به فرد این گیرندهای 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 می‌گردد لازم به نظر می‌رسد. با وجود این حقیقت که GPCR ها از مهم‌ترین گروه گیرندهای 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 نوروزنیک 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 هایپرآلزیا و آلودگی‌های التهابی دارند (۵۵). از سوی دیگر شواهد بسیاری به نقش مهم در بیماری‌زایی التهاب و درد اشاره کرده‌اند. این گیرنده در نورون‌های ریشه پشتی گانگلیون (DRG)<sup>۱۷</sup> بیان شده و سرین پروتئازهای تولید شده در روند آسیب و التهاب PAR4 را در نورون‌ها برش داده و ایجاد هایپرآلزیا 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-activatedreceptors. *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 receptor1 (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. Scarsbrick IA, Isackson PJ, Cricic 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, Scarsbrick 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, Sastre 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 ratbrain 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 versusmatrixmetalloproteinases 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 seizuresandepileptogenesis. *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 deathduring 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.