

## DERLEME/REVIEW

# İNSAN VİTRONEKTİNİN MOLEKÜLER YAPISI VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Meltem MARAŞ<sup>1</sup>, Erol AKSÖZ<sup>2</sup>

### ÖZ

Hücrelerin hücrelerarası maddelerle etkileşimin sağlayan hücre yüzeyi ve tanıma mekanizmaları, hücre gelişme, hücre göçü ve farklılaşmada önemli bir düzenleyici olarak rol oynamaktadır. Hücrelere yapıştığı bilinen hücre dışı matriks molekülleri fibrojin, kollajen, laminin ve vitronektin gibi proteinlerdir. Vitronektin karaciğerde sentezlenen, kan ve hücre dışı matrikste bulunan bir glikoprotein olup böbrek, kan damarı duvarı, derinin elastik lifleri ve trombositlerde bulunur. Polimorfik bir protein olan vitronektin 75 kDa olarak sentezlenir ve sentez sonrası modifikasyonlar ile 65 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir. Trombosit yüzeyinin fibrinojen ve vitronektin gibi plazma proteinleriyle etkileşmesi hemostazis ve kan pıhtılaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Vitronektin, kan pıhtılaşmasını düzenler ve koplemanla yaratılan hücre lizisine engel olmaktadır. Vitronektin heparin varlığında antitrombin III tarafından trombinin hızlı inaktivasyonunu inhibe eder. Vitronektinin heparine bağlanması ile oluşan üç boyutlu yapıdaki değişiklik Trombin-Antitrombin III'e bağlanma bölgesini açığa çıkarır. Vitronektinin heparine bağlanması, heparin bağlama bölgesi ile gerçekleşmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Vitronektin, Heparin Bağlama Bölgesi, Tromboz.

## MOLECULAR STRUCTURE AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF HUMAN VITRONECTIN

### ABSTRACT

Cell surface and the recognition mechanisms providing the interaction of cells with extracellular substance play an important role as a regulator on cellular growth, cell migration and differentiation. Extracellular matrix proteins including fibrinogen, laminin and vitronectin are known to adhere cells. Vitronectin is a glycoprotein synthesized in liver and found in blood and extracellular matrix. It is found in kidney, platelet vascular wall and elastic fibre as well. Vitronectin, a polymorphic protein, is synthesized as 75 kDa and has a 65 kDa molecular weight with posttranslational mechanism. The interaction platelet surface with plasma proteins including fibrinogen and vitronectin plays an important role in hemostasis and blood coagulation. Vitronectin regulates blood coagulation and prevents from complement-mediated cell. Vitronectin inhibits rapid inactivation thrombin by antithrombin III in presence of heparin. Differentiation of threedimensional structure results from heparin-vitronectin connection exposed thrombin-antithrombin III region. Vitronectin-heparin binding is achieved by heparin-binding domain.

**Key Words:** Vitronectin, Heparin-Binding Domain, Thrombosis.

### Vitronektinin Keşfi

Bindokuzyüztümüş yılların başında  $\alpha$ -1 protein olarak insan serumundan izole edilip sonra bölgeye özgü protein olarak adlandırıldı (Holmes, 1967). Son 10 yılda, hücre gelişimini hızlandıran, serumda hücre yayılma faktörü (serum spreading faktör) veya S protein olarak isimlendirilen vitronektin memeli plazma ve se-

rumunda bulunan hücreye yapışıcı bir glikoproteindir (Kitagaki et al., 1990).

### Vitronektinin Sentezi

Plazma vitronektini diğer plazma proteinleri gibi karaciğerden orijin almaktadır (Seiffert and Keeton, 1991).

<sup>1</sup> Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ABD, Yahşihan, Kırıkkale.  
<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ABD, Beytepe, Ankara.

Karaciğer, vitronektini sentezleyen asıl organ olmakla beraber, trombosit ve makrofajlarda reseptörlerine bağlı olarak da bulunmaktadır. Vitronektin insan plazma ve serumunda 0,25-0,45 mg/ml oranlarında bulunmaktadır. Kalsiyuma bağımlı olarak sentezlenip ortama verilir. Vitronektin mRNA sı en fazla karaciğerde bulunur. Beyindeki miktarı ise 25 kere daha azdır (Nuova and Preissner, 1995), Trombosit vitronektini, kanda bulunan proteinlerin %0,8'ini içerirken trombosit proteinlerinin %1'ini oluşturmaktadır. Plazma vitronektini 1 ml kandaki miktarı %40 m altına düştüğünde protrombin zamanı uzar ve bu olay defibrinasyonla sonuçlanır. Epidermal gelişme faktörleri, insülin, glukagon, hidrokortizon, kolera toksini ve cAMP, hepatositlerin gelişimini sağlamakta ve vitronektin sentezini arttırmaktadır (Barnes and Reing., 1985). Kötü fonksiyonlu vitronektin sentezi organizma için öldürücü bir faktör olabilir.

Vitronektin komplemanla yaratılan hücre lizisinde fibrinoliziz, tromboz, inflamasyon ve fagositozda düzenleyici role sahiptir. Bu fonksiyonlar membran reseptörleri terminal kompleman bileşenleri trombin antitrombin III kompleksleri ve plazminojen aktivatör inhibitör 1'i içeren farklı moleküllerle etkileşimi yoluyla sağlanmaktadır. Dönüştürücü büyüme faktörü (T.G.F.) hepatositlerle vitronektinin etkili bir düzenleyicisidir. T.G.F., vitronektinin ifadesinin bu faktör tarafından artışı, vitronektinin hücre dışı matriks oluşumunun ve parçalanmanın düzenleyicisi olarak fonksiyon gösterdiğini ifade etmektedir (Koli et al., 1991). Sentez sonrası değişiklik vitronektinin N terminal tirozininin sülfatlanması ile gerçekleşmektedir. Tirozinin sülfatlanması golgide oluşur ve membrana bağlı bir enzim olan sülfotransferaz ile gerçekleşmektedir. Bu enzim, asidik protein bölgesindeki tirozin amino asidini tanıyarak vitronektinin konformasyonel kararlılığını sağlamaktadır. Trombositlerden salgılanan ve yaralı hücrelerden serbest bırakılan ATP, tirozin kinazlar tarafından 378. amino asit olan Serin'den fosforile eder. Serin'in fosfota bağlanması vitronektinin heparine bağlanmasını kolaylaştırır. Sentez sonrası değişiklikler, vitronektinin işlevsel aktiviteleri için gereklidir. İnsan, tavşan ve farelerdeki vitronektinlerin amino asit dizileri karşılaştırıldığında, %82 oranında benzerlik görülmüştür (Seifert, et. al., 1991). Vitronektin molekül ağırlığının %10-20 sini N bağlı oligosakkaritler içerir. Şeker zincirleriyle bağlantılı 3 asparajin amino asitleri ile sağlanmaktadır. Türden türe karbohidrat düzenlemeleri farklılık göstermektedir. Vitronektinin çeşitliliği, moleküler ağırlığındaki ve şeker zincirlerinin yapısı ile sayısındaki farklılıktan ileri gelmektedir. İnsan vitronektini D-galaktozamin içermezken, N-asetilnörominik asit, L-fukoz ve D-galaktoz içerir (Ogawa et. al., 1989). Hepatositlerde vitronektin sentezlenirken, tunikomisin, oligosakkaritlerin bağlanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Barnes and Reing, 1989). Vitronektin glikozilasyo-

nunun tunikomisin'le inhibisyonu, proteinin asparajine bağlı oligosakkaritleri içerdiğini işaret etmektedir. Asparajine bağlı glikozilasyonun, molekülün amino terminal bölümüne yakın olduğu görülmüştür (Bourin and Lindahl, 1993).

İnsan vitronektin geni, 4,5 kb'lık 1545 baz çifti uzunluğundadır. 8 ekson ve 7 intronu vardır. 3'uçta AA-UAAA poliadenilasyon sinyalinin içeren 109 bazlık bir bölge ve 5'uçta 61 bazlık tercüme edilmeyen bir bölge olup 459 amino asit içerir. İlk 19'u çok hidrofobik olduğundan lider peptittir. Treonin ya da metioninin 381. pozisyonda bulunması polimorfizmi ortaya çıkarmaktadır (Jenne and Stanley, 1985).

Vitronektin geninin transkripsiyonel regülasyon mekanizması henüz bilinmiyor. TATA kutusu promotör aktiviteye karışmaz ve vitronektin promotörü TATA ve GC kutusundan yoksundur. Nüklear proteinler promotör aktivitesine sahip 38 baz çiftlik elemente bağlanır (Miyamoto et al., 1998).

### Vitronektinin Moleküler yapısı

Vitronektin asidik bir glikoprotein olup beş ayrı fonksiyonel bölgeye sahiptir (Şekil 1)

**I. Bölge:** İlk 44 amino asitlik kısım sistein açısından zengin bir bölgedir. Dört disülfid bağı içerir. Asidik karakter taşır. Trombin bağlanması bu bölgede gerçekleşir SomatomedinB bölge olarak adlandırılır. 5 kDa'lık bir fragmenttir (Suzuki and Olberg, 1985).

**II. Bölge:** Vitronektinin hücre reseptörüne bağlanma bölgesinin amino asit dizisi Arg-Gly-Asp şeklindedir. SomatomedinB domainin karboksi terminaline yakın yerdedir. Bu dizi farklı bölgelerde farklı fonksiyon gösterebilir.

**III. Bölge:** N-bağlı oligosakkaritlerin bağlandığı bölge prolin ve hidrofobik amino asitlerce zengindir. Üç asparajin residüsü yer alır (Ishikawa-Salurai and hayashi, 1993).

**IV. Bölge:** Heparine bağlanma bölgesi Arg<sup>342</sup> ve Arg<sup>379</sup> arasındaki bazı aminoasitlerin yer aldığı 47 amino asitlik kısımdır (Liang and Rosenblatt, 1997).

**V. Bölge:** Tripsinle muamele edildiğinde hemen kırılan bölgedir. Kopan fragment 7 aminoasit içerir (Jenne and Stanley, 1985).

### Heparin Bağlanma Bölgeleri

Plazma ve ekstraselular matriksin çok fonksiyonlu bir glikoproteini olan vitronektin hem monomerik hemde multimerik formda yer alır. Karaciğerden sentezlenip plazmaya monomerik formda verilir. Ekstra vaskü-

ler yerlerde vitronektin multimer formunda yer alır. Heparin bağlama bölgesi proteinin C terminalindeki 347-361. aminoasitler arasındadır. Bu bölgede sadece bir tane aromatik aminoasit Phe<sup>352</sup> yer almaktadır. Kararlı bir heparin vitronektin kompleksinin oluşumu için vitronektin 341-361. aminoasitler arasında yeralan metionine ihtiyaç vardır. Bu sonuçlar bu bölgede oluşan antibodyler ile bağlanma yerinin bloklanması ile ortaya çıkarılmıştır. Heparin bağlayan form, 6,5 sedimentasyon katsayılı 65 kDa'lık bir polipeptittir. Heparin bağlanmayan form ise 4,25 sedimentasyon katsayılı bir monomer olup katlanmış bir konformasyon göstermektedir. Kan pıhtılaşması sırasında heparin bağlamayan vitronektinin %5'i heparin bağlayan forma dönüşmektedir (Barnes and Reing, 1985). Vitronektinin heparine bağlanan bölgesi konformasyonel olarak içe gömülmüştür. Denatürasyon ve katlanımın açılmasının ardından ortaya çıkar ve heparin ile Glutamin ve Lizin amino asitler arasındaki etkileşim kolaylaşır. Bağlanma bölgesinde  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$  plakalı yapı sekonder yapıyı oluşturur ve vitronektinin karboksi terminal uçtan  $\beta$  tabakalarının kıvrılmasıyla bir oyuk meydana gelir (Cardin and Weintraub, 1989). Vitronektine heparinin bağlanması komplementer yapılar arasında sıkı bağlantıya izin veren bir heparin oktasakkarid üzerinde katlanan ve etrafını saran hidrofobik bir yapının oluşumuna izin verir. Bu noktada etkileşim hızlı bir şekilde geri dönüşümlüdür. Zayıf bir kompleksten kararlı bir komplekse dönüşüm etkileşimi sınırlamamaktadır (Şekil 2).

Heparin bağlama bölgesi 12 kDa'lık bir fragmenttir. Heparinin negatif yüklü sülfat grupları ile vitronektinin bu bölgesinde bulunan bazik aminoasitler arasında iyonik etkileşimler görülür. Böylece endotelial hücrelerle glikozaminoglikanların etkileşimi kolaylaşmaktadır. Vitronektinle glikozaminoglikan bağlanması kinetikleri oldukça komplekstir. Vitronektine heparin bağlanması molekülün diğer bölgelerine bağlayıcının (ligand) bağlanmasını allosterik olarak etkiler. Fakat heparin bağlama bölgesi glikozaminoglikanlarla etkileşime girdiği gibi serum ve ekstraselular matriks proteinleriyle (ECM) etkileşime girer. Sadece multimerik vitronektin heparine bağlanabilir. Bu olay geri dönüşümlüdür. Bu sonuçlar fluorescence tekniklerle ve klasik biyokimyasal tekniklerle gösterilmiştir. Fluorescensteki artış özgül bağlanması işaret etmektedir. Non denatüre edici jel elektroforezi, vitronektin dimerinin 150000 Da'lık moleküler ağırlığa sahip olduğunu göstermiştir. Dimerlerin heparin bağlanmasına katkısı azdır. Heparin sefaroza kromatografisi kullanılarak monomerler elde edilebilir. Heparin ve vitronektin arasındaki etkileşim, trombosit yüzeyinde hemostazisin kontrolünü sağlamaktadır. Kinetik veriler vitronektine heparin bağlanmasının başlangıçta hızlı ve zayıf kompleksler daha sonra kararlı komplekslerin oluşumuna izin veren bifazik olaylar olduğunu göstermiştir.

Vitronektin, bu özellikleri ile hemostatik sistem ve immun sistem arasında bir bağlantıya izin vermektedir. Vitronektin, antitrombin III tarafından trombinin inaktivasyonuna engel olup Antitrombin III'ün nonkompetitif inhibitörüdür. Heparin, antitrombin III tarafından trombinin inaktivasyonunu nötralize eder. Antitrombin III vitronektine sülfatlanmış tirozinden bağlanır ve çok sayıda vitronektin molekülünün bir araya gelmesini sağlar. Trombin-antitrombin III kompleksinin vitronektinle etkileşiminden sonra bu yapı heparine bağlanır. Vitronektin ve heparin arasındaki etkileşim, hücrelerle hücre iskeletinin organizasyonunu kolaylaştırmaktadır (Bourin and Lindahl, 1993). Hücre yüzey glikozaminoglikanlar fibroblastlar tarafından multimerik vitronektinin degradasyonunda ve vitronektin-trombin-antitrombin III kompleksinin heparin tarafından uzaklaştırılmasında bir rol oynar (Şekil 3). Multimerik vitronektinin endotelial hücrelere bağlanımı heparinle bloke edilmektedir. Kararlı olmayan glikozaminoglikan-vitronektin komplekslerinin kararlı komplekse dönüşümü endotelial hücrelerle birleşmesiyle ilişkilidir (Francois et al., 1999).

Heparin bağlama bölgesi vitronektinle hücrelerin etkileşimini, fibronektinin matrikste toplanmasını inhibe eder. Bu etkileşim aynı zamanda aktin mikrofilament organizasyonunda değişikliklere neden olur. Bu veriler heparin bağlama bölgesinin aktin hücre iskeletinin organizasyonundaki değişikliklerle fibronektinin ekstraselular matrikse depolanmasını regüle ettiğini göstermektedir (Hocking et al., 1999).

### Vitronektinin Heparin Affinite Kromatografisine Bağlanması

Affinite kromatografisinde vitronektin molekülünün bağlayıcısı (ligand) heparindir. Heparin, agaroz veya sefaroza üronik asit veya hidroksil gruplarıyla bağlanmaktadır (Nadkarni et al., 1994).

Serumdaki vitronektinde, 8 M üre varlığında konformasyonel bir değişiklik meydana gelerek heparine bağlanma aktivitesi artmaktadır. Heparinin sülfat grubu ile vitronektinin heparin bağlama bölgesindeki lizin ve glutamin amino asitleri arasında kovalent bağlanma gerçekleşmektedir (Sane et al., 1990).

Hücre içi şartlarda heparin vitronektinin plazmin ve trombinle kırılım hızını arttırmaktadır. Elastaz ve trombin gibi proteinazlar, fizyolojik olaylar sırasında ekstraselüler matriks bileşenlerinin parçalanmasına neden olmaktadır. Vitronektinin N terminal fragmentin uzaklaşmasıyla 17 kDa'lık bir parçalar oluşur. Proteazlarla kırılma, plazminojen aktivatör inhibitör I (P.A.I) ve vitronektin arasındaki etkileşimi etkilemektedir (Gechman et al., 1997). Elastazla proteolizis, vit-

ronektinin 45 kDa'lık bir fragmente dönüşmesine neden olmaktadır. Böylece vitronektinin hücreleri birbirine yapıştırma özelliği kaybolmakta ve hücre-matriks etkileşimi kararsızlaşmaktadır. Vitronektinin fonksiyonlarındaki bu değişim nedeniyle yara bölgelerinde vitronektinin önemli bir morforegülatörük faktör olduğu anlaşılmaktadır. Vitronektin bu özellikleri ile kan damarı duvarındaki düzenleyici aktivite için koagülasyon son ürünlerinin kandan temizlenmesi ve trombin inhibisyonu arasında moleküler bir bağlantı sağlamaktadır (Kost et al., 1996).

## Vitronektinin Kazein Kinaz II Tarafından

### Fosforilasyonu

Vitronektin, trombinle fizyolojik stimülasyona kadar trombositlerden serbest bırakılan ve aynı zamanda kan hücrelerinde ektoenzim olarak rol oynayan protein kinaz A tarafından fosforillenir. Plazma vitronektini sadece bir tane protein kinaz A fosforilasyon yerine (Ser<sup>37</sup>) sahiptir. İnsan serumu ve kan hücreleri hücre yüzeyinde Kazein Kinaz II içerdiği için fosforilasyon vitronektinin fonksiyonu değişir. Vitronektini fosforile eden Kazein kinaz II enziminin km değeri 0.5-2 $\mu$ M'dir. Kazein Kinaz II enzimi substratını Thr<sup>50</sup> ve Thr<sup>57</sup> den fosforile eder. Thr<sup>57</sup> nin fosforilasyonu Thr<sup>50</sup> nin fosforilasyonunu kolaylaştırır. Vitronektinin fosforilasyonu endotelial hücrelerin yapışmasını artırmaktadır (Seger et al., 1998).

## Trombositler ve Vitronektin

Hemostaziste rol oynayan trombosit, kanın şekilli elemanlarının en küçüğü olup, kemik iliğinin en büyük hücreleri olan megakaryositlerden meydana gelmiştir (Phenke et al., 1967). Trombositler 2-5  $\mu$  çapında 5-7 $\mu$ m<sup>3</sup> hacminindedir. Memelilerde çekirdeksizdir. Yaşam süresi 8-10 gündür, normal kişilerin kanında sayısı 150.000-400.000/mm<sup>3</sup> kadardır. Glikoproteinler trombositin uyarılmasıyla yakından ilgilidir. Vitronektin trombositlerdeki reseptöre bağlanan bir glikoproteindir. Vitronektinin başlıca fonksiyonu, subendotelium trombositlerin yapışmasını sağlamaktadır (Wolfgang et al., 1989). Vitronektinde yer alan Arg-Gly-Asp amino asitleri, bu molekülün trombositlerdeki integrin olarak adlandırılan reseptörlere bağlanması için gereklidir.

Trombositler organizmada subendotelium ve kollajene yapışma özelliğine sahiptir. Bu yapışma esnasında dolaşımdaki şekillerini değiştirip yalancı ayaklar çıkarır. Böylece yabancı yüzeye yapışırlar. Trombositler kollajene yapışırken hiç bir aracıya gerek duymazken, subendoteliuma ve birbirlerine yapışırken bir aracıya gereksinim duyarlar. Bunun için ortamda fibrinojen,

vitronektin, ADP ve iki değerlikli katyonların bulunmasına gerek vardır (Hellem and Owren, 1994).

Fibrinolitik sistemin ana düzenleyicisi olan plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) klinik açıdan önemli vasküler tromboz riskini belirlemede önemli bir rol oynar. Vitronektin PAI-1'e ve integrinlere bağlanır ve hücre göçü ve fibrinolitik regüle ederek yaralanmaya karşı vasküler cevapta önemli bir rol oynar. Ancak damar yaralanmalarına karşı en erken cevapta vitronektinin rolü henüz tam anlamıyla ifade edilememiştir. Vitronektin arter yaralanma yerlerinde antitrombotik bir role sahiptir (Şekil 4). Bu aktiviteyi en azından trombosit-trombosit etkileşimleri inhibe ederek gerçekleştirir (Tomasini and Mosher, 1999). Yaralanmalardan sonra PAI-1 ve vitronektin tarafından fibrinolitik düzenlenmesi vasküler trombozun gelişiminde önemli bir role sahiptir (Fay et al., 2000).

## Trombosit Vitronektini

Trombosit vitronektini, trombosit proteinlerinin %1'inden daha fazlasını oluşturmaktadır. Trombosit simulasyonunu takiben plazma vitronektini integrine bağlanır. Kan pıhtılaşması sırasında, vitronektinde konformasyonel bir değişiklik olmaktadır. Trombinle stimüle olan trombositlerden fibrinojen ve vitronektin salgılanır ve plazma membranına bağlanır.

Trombositler tromboplastin içermesi nedeniyle heparine vitronektinin bağlanmasını kolaylaştırır. Kan pıhtılaşması, heparini bağlayan vitronektin tarafından nötralize olması ile kan pıhtılaşması regüle edilir. Yararlanma anında, fibroblastlar yaranın gerilme kuvvetini arttıran kollajen I ve III'ü sentezler. Yaralı kan damarı duvarında kollajen meydana gelir. Fibriller arasında çapraz bağların kurulmasıyla yaralı bölgede paketlenirler ve kararlı hale geçerler. Fibrinojen ve vitronektin kan dolaşımı yoluyla yararlı dokulara hareket ederler ve ekstraselular matriks proteinlerine bağlanırlar. Yaralanmanın ardından immün hücreleri ve iltahaplı hücreler arasında etkileşimler sağlanır. T.G.F. makrofajlardan serbest bırakılır ve vitronektin geninin promotör bölgesine doğru bağlanarak ekspresyonu artırır. Bu oluşum, kollajen degradasyonunun ve ekstraselular yıkılmayı önler ve iyileşen yaranın gerilme kuvvetini artırır. Stimüle olan trombositlerle vitronektinin bağlanmasının sonucu olarak, kararlı trombosit toplulukları oluşur (Izumi and Yamada, 1989).

Trombositlerin herhangi bir madde ile uyarılmaları neticesinde biraraya gelerek kümeleşmelerine agregasyon denir. Bu uyarıcı maddeler trombin, kollajen, ADP, antijen-antikor kompleksleri, endotoksinler, polimerize fibrin, virüsler ve bakteriler olabilir. Agregasyon olması için uyarıcılara ilaveten, ADP, fibrinojen, vitro-

nektin ve iki değerlikli katyonlar ( $Ca^{++}$ ) gereklidir (Mylyly et al., 1973).

Vitronektinin trombosit reseptörüne bağlanması için ( $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ) iki değerlikli, metal iyonlarına gereksinim duyar. Trombosit agregasyonu, çeşitli kardivasküler hastalıkların ilerlemesi ve gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Serbest radikaller, trombosit agregasyonunu ilerletmektedir. Peroksidasyon ürünleri, trombositlerden serbest bırakılan faktörleri stimüle ve membran reseptörü olan integrini aktive eder (Sebruangy and Ordenez, 1997).

Trombositlerin yapışma mekanizmaları arasındaki denge, hücre tipinin morfoloji ve gelişme özellikleri üzerinde önemli etki göstermektedir. Vitronektin, tümör ve lökositlerin hareketini inhibe eder. Vitronektinin fenotipik etkileri, R.G.D. dizisi ve heparin bağlama bölgesi ile etkileşim sağlayarak hücre şeklinde değişikliğe neden olmaktadır. Vitronektin polaritesinin korunmasında önemlidir.

### Vitronektin Reseptörü

Vitronektin molekülünde Arg-Gly-Asp dizisine (RGD dizisi) rastlanması ve hücre yüzey reseptörlerine tanınması, hücre ve çevresi arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır. Pek çok proteinde RGD dizisi olmasına karşın, vitronektin reseptörü sadece uygun konformasyonda olanı tanımaktadır. Vitronektin reseptörü olan integrin, 5 alt birimden oluşan bir heteromerdir. Bu alt birimler 2 tane  $\alpha$  ve 3 tane  $\beta$  şeklindedir. Bu polipeptid zincirleri birbirine disülfid bağlarıyla bağlanmıştır. a zincirin karboksit terminali, proteinin membrana gömülü ve sitoplazmik kısımları içerir. İntegrin reseptörünün sitoplazmik bölgeleri hücre iskelet proteinlerine bağlıdır. Bu kısım hücre içi yapısal elementlerle bağlanmayı gerçekleştirir. İntegrin fosforilasyonu, hücre şekil değişikliklerine, tümörleşmeye ve hücre hareketine neden olur (Freed et al., 1989). Hücrelerde ifade edilen vitronektin reseptörleri hücrelerin göç etme aktivitesinde rol oynamaktadır. Vitronektin/avb3 etkileşimi kanser hücrelerinin yapışmasını ve göçünü etkilemektedir. Bu hücreler vitronektin sentezleme yeteneğindedir. İntegrinin yapı, fonksiyon ve ekspresyonundaki farklılıkların neoplastik hücrelerde gözlenmesi, malignan fenotipe doğru gidişi ifade etmektedir. Bu olaylar, invazyon ve tümör gelişimi sırasında hücrelerin hareket ettiğini göstermektedir. Metastatik oluşum sırasında kan damarlarındaki endotelial hücrelere vitronektinin bağlanması gösterilmiştir. avb3 integrinde bu hücreler tarafından ifade edilir ve hücre iskeletiyle sinyal moleküllerle ve proteinlerle bağlantı kuracak şekilde yerleşmiştir (Şekil 5). Endotelial hücrelerin yapışmasında ve çoğalmasında integrinin ve vitronektinin aktif katılımı gerekmektedir (Cruet et al., 1999).

### Merkezi Sinir Sisteminde Vitronektinin Fonksiyonu

Merkezi sinir sisteminde ve neurodejeneratif hastalıklarda vitronektinin fonksiyonunu anlamak için gen ekspresyonunu incelemek gerekmektedir. Sinir hücre tipleriyle bağlantılı olan ekstra selular ve intraselular retinal bölgelerde yer almaktadır. Diğer plazma proteinleri gibi vitronektin, kan-retina engeliyle retinadan ayrılır. Hücreler tarafından vitronektin sentezi retinal fonksiyonlar için gereklidir. Olgun insan retinası bol miktarda vitronektin mRNA'sı içerir. Fotoreseptörler ve retinal ganglion hücrelerinde ve çubuk reseptörlerde bol miktarda bulunmaktadır. Fakat astrosit veya müller hücrelerinde bulunmaz. Retinal vitronektin hücre-ekstraselular matris etkileşimlerini kararlı hale getirmesi ve komplemanla yaratılan hücre lizisini önlemesi nedeniyle çok fonksiyonlu koruyucu faktör olarak önerilir. Aynı zamanda makrofajlar tarafından apoptosize uğrayan hücrelerin fagosite olmalarına neden olur. Vitronektin reseptörü  $\alpha v \beta 5$  retinal hücrelerinin apikal yüzeyinde lokalizedir. Çubuk reseptörlerde koni reseptörlerine göre daha fazla oranda vitronektin vardır. Yaralanma, yangı oluşumu, stres ve yaşlanmaya retinanın cevabında önemli bir rol oynar (Anderson et al., 1999).

### Yaygın Damariçi Kan Pıhtılaşması (Defibrinasyon Sendromu)

Pıhtılaşma mekanizmasının geniş kapsamlı bir aktivasyonu sonucu meydana gelen karmaşık bir pıhtılaşma hastalığıdır. Bu tip hastalarda fibrinolitik sistem uyarılır ve bu durum fibrinojen ve fibril yıkım ürünlerinin daha fazla miktarlarda meydana gelmesi ile sonuçlanır. Dolaşıma katılan maddeler pıhtılaşma olayını hızlandırdıkları zaman ortaya çıkar. Fibrinojen yıkım ürünlerinin meydana gelmesiyle birlikte arter yüzeyinde yaygın bir şekilde fibrin birikir. Fibrinojen ve trombosit azlığı nedeniyle şiddetli kanamalar görülür. Protrombin ve tromboplastin zamanları fibrinojen açlığı nedeniyle uzar. Trombosit sayısında azalma eritrosit sayısında artma gözlenir. Vitronektin hemostatik sistemin prokoagulant fazında etkilidir. Kan damarları ve kan pulcuklarıyla (trombositler) etkileşime girer. Bu tip hastalıklarda vitronektin plazma düzeyi düşer ve Antitrombin III yetmezliği gözlenir. Bu hiperkoagulabiteye (fazla pıhtılaşma) neden olur (Ulutin ve ark., 1975).

Dolaşıma prokoagulant maddelerin değişik nedenlerle karışmasıyla hiperkoagülabilite safhası meydana gelir. Organizma bu prokoagulant maddeleri ve oluşan fibrini retikulo endotelial sistem (RES) vasıtasıyla uzaklaştırır. Eğer RES bloke olursa dolaşıma büyük miktarlarda prokoagulantlar karışırsa yaygın damar içi pıhtılaşma meydana gelir. Trombosit sayısı  $84-141 \times 10^3/mm^3$ 'e düşmektedir.

Yaygın damar içi kan pıhtılaşması çocuklarda görülmele birlikte büyüklerde de ortaya çıkar. Böbrek yetmezliği, karaciğer rahatsızlıkları söz konusudur. Kan preparatlarında eritrosit fragmentasyonu ortaya çıkar. İdrarda ve serumda fibrin yıkım ürünlerinin bulunması ve pıhtılaşma faktörlerinin tüketilmesi söz konusu değildir. Nörolojik bozukluklarda böbrek kan damarlarında trombuslar çok sık görülür. Plazma pıhtılaşma sistemi bu olaya sekonder olarak katılır. Protrombin fonksiyonundaki bir anormallik, kanama zamanının uzamasına yol açar. Vitronektin miktarı ve aktivitesi azalmıştır. Vitronektin degradasyon ürünleri artar. Trombositopeni durumunda, trombositlerin yapılamaması, artan miktarlarda kullanılması söz konusudur. Klinik olarak trombosit sayısındaki düşme trombositopenia olarak tanımlanır. Tromboplastin normal şartlarda, kanda inaktif bulunan protrombini trombine dönüştürür. Tromboplastin trombositten başka plazma içinde de bulunur. Bu nedenle, trombosit taşımayan kan dahi yavaş yavaşta olsa pıhtılaşabilir. Bu olaya trombositopeni denir. Trombositopeninin karaciğer hastalığı veya yaygın damar içi kan pıhtılaşması gibi rahatsızlıklarla birlikte pıhtılaşma test ve ölçümleri anormaldir. Yaygın damar içi kan pıhtılaşması görülen hastalarda vitronektin seviyesi %40'ın altındadır (Maraş, M., 1999). Akut lösemi ve metastatik kanserli hastalarda bu hastalık görülür. Vitronektin seviyesindeki düşüşle beraber fibrinojen ve antitrombin III seviyesi düşüktür ve vitronektin degradasyon ürünlerinin arttığı gözlenir (Cofrancesco et al., 1994).

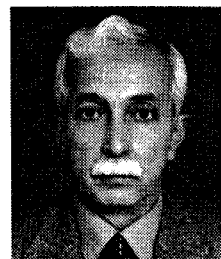
## KAYNAKÇA

- Anderson, D. H. Hageman, G. S. ve Mullins, R. F. (1999). Vitronectin gene expression in adult human retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40 (13), 3305-3315.
- Barnes, D. W. ve Reing, J. (1985). Human Spreading Factor: Synthesis and response by Hep G2 hepatoma cells in culture. *Journal of Physiology*, 125, 207-214.
- Bourin, M. ve Lindahl, U. (1993). Glycosaminoglycans and regulation of blood coagulation. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 313-330.
- Cardin, S., Salamanca, C., Mitchell, G.W. ve Auersperg, N. (1999). Alpha<sub>v</sub>beta<sub>3</sub> and vitronectin expression by normal ovarian surface epithelial cells: role in cell adhesion and cell proliferation. *Gynecology Oncology*, 75 (2), 254-260.
- Cofrancesco, E., Boschetti, C. ve Leonardi, P. (1994). Dermatan sulphate for the treatment of disseminated intravascular coagulation in acute leukaemia. *Thrombosis Research*, 74 (1), 65-75.
- Çizmeçi, G. ve Emekli, N. (1981). Effect of indobufen on platelet metabolism. *International Istanbul Symposia on Hematology*, 175-183.
- Fay, W. J., Parker, A. C., Ansari, M. N. ve Zheng, X. (2000). The role of vitronectin in fibrinolysis. *Blood*, 93, 1825-1830.
- Freed, E., Gailit, J. ve Geer, P. (1989). A novel Integrin  $\beta$  subunit in a human osteosarcoma cell line and is a substrate for protein kinase C. *The EMBO Journal*, 8 (10), 2955-2965.
- Francois, P.P., Preissner, K.T., Herrman, M., Haugland R.P. ve Vaudaux, P. (1999). Vitronectin interaction with glycosaminoglycans, 274 (53), *Journal of Biological Chemistry*, 37611-37619.
- Gechman, Z., Bellili, A., Lechpammer, S. ve Shaltiel, S. (1997). The cluster of basic amino acids in vitronectin contributes to its binding of plasminogen activator inhibitor-1. *Biochemical Journal*, 325, 339-349.
- Hellem, A. ve Owren, P. A. (1994). The mechanism of the hemostatic function of blood platelets, *Acta Hematology*, 31, 230-237.
- Hocking, D.C., Sottile, J., Reho, T. ve Fassler, R. (1999). Inhibition of fibronectin matrix assembly by the heparin-binding domain of vitronectin. *Journal of Biological Chemistry*, 274 (38), 27257-27264.
- Holmes, R. (1967). Preparation from human serum of Alpha-One Protein which induces the immediate growth of unadapted cells invitro. *Journal of Cell Biology*, 32, 297-307.
- Ishikawa-Salurai, M. and Hayashi, M. (1993). Two collagen-binding domains of vitronectin. *Cell structure and function*, 18, 254-259.
- Izumi, M., Yamada, K. M. ve Hayashi, M. (1989). Vitronectin exist in two structurally and functionally distinct forms in human plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990, 101-108.
- Jenne, D. ve Stanley, K. (1985). Molecular cloning of S-Protein, a link between complement, coagulation and cell-substrate adhesion. *The EMBO Journal*, 4 (12), 3153-3157.
- Kitagaki, P., Ogawa, K. H. ve Kreizman, T. (1990). Isolation of human serum spreading factor. *Journal of Biological Chemistry*, 265 (20), 12548-12552.
- Kost, C. ve Benner, K. (1996). Limited plasmin proteolysis of vitronectin., *European Journal of Biochemistry*, 236, 687-688.
- Liang, D. O. ve Rosenblatt, S. (1997). Identification of novel heparin-binding domains of vitronectin. *FEBS Letter*, 407, 167-172.

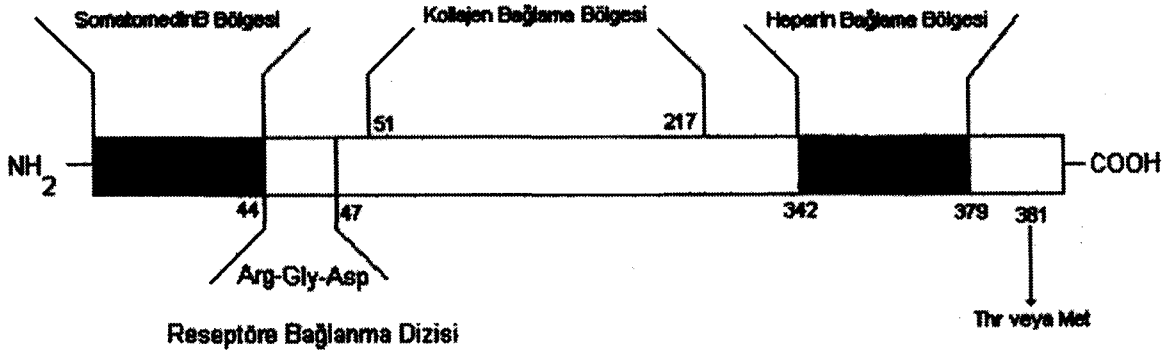
- Maras, M. (1999). *Defibrinasyon sendromlu hastalarda vitronektin plazma düzeyinin ölçülmesi ve elektroforetik analizi*. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bilim Uzmanlığı Tezi, 1-51.
- Miyamoto, Y., Hara, K., Matsumoto, Y. ve Hayashi, M. (1998). TATA-less mouse vitronectin gene promoter: characterization of the transcriptional regulatory elements and a nuclear protein binding site on the promoter. *Cell Structure and Function*, 23(1), 23-32.
- Mutsaers, G. C. ve Laurent, G. (1995). Wound healing from entropy to integrins. *The Biochemistry*, 17 (4), 32-38.
- Myllyla, G. (1873). Agregation of human blood platelets by immune complex in the sedimentation pattern test. *Scandinavian Journal of Heamatology (suppliment)*, 19, 49-57.
- Nadkarni, V. D., Pernin, A. ve Linhardt, R. J. (1994). Directional immobilization of heparin on to beaded supports. *Analytical Biochemistry*, 222, 59-67.
- Nuovo, G. J. ve Preissner, K. T. (1995). PCR, Amplified vitronectin mRNA localizes in situ to spermatozoa and round spermatids in the human testis. *Molecular Human Reproduction*, 10 (8), 2187-2191.
- Ogawa, K. H., Yatohgo, T. ve Izumi, M. (1989). Diversities in animal vitronectins. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1033, 49-56.
- Phenke, A. (1967). Electron microscopic observations on the surface coating of the human blood platelet. *Journal of Ultrastructure Research*, 24, 51-54.
- Preissner, T. K. ve Jenne, D. (1991). Vitronectin: A new molecular connection in haemostasis. *Thrombosis and Haematology*, 66 (22), 189-194.
- Preissner, T.K. ve De Bear, H. (1996) Thrombin regulation by physiological inhibitors: The role of vitronectin. *Seminar in Thrombosis and Haemostasis*, 22 (2), 165-172.
- Sane, D. C., Moser, T. L. ve Parcer, C. J. (1990). High sulphated glycosaminoglycans augment the cross-linking of vitronectin by Gutransglutaminasa. *Journal of Biological Chemistry*, 265 (6), 3543-3548.
- Seger, D., Gechtman, Z. ve Shaltiel, S. (1998). Phosphorylation of vitronectin by casein kinase II. Identification of the sites and their propotion of cell adhesion and spreading. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (38), 24805-24813.
- Seiffent, D. ve Keeton, M. (1991). Detection of vitronectin mRNA in tissues and cell of the mouse. *Proceeding National Academic of Science USA*, 88, 9402-9406.
- Serebruangy, L. V. ve Ordonez, J. V. (1997). Diatery coenzyme Q 10 supplementatation alters platellet size and inhibits human vitronectin receptor expression. *Journal of Cardiology Pharmacology*, 29, 16-22.
- Suzuki, S. ve Olberg, A. (1985). Complete amino acids sequence of human vitronectin deduced from cDNA. *The EMBO Journal*, 4 (10), 2519-2524.
- Tomasini, B. R. ve Mosher, D. F. (1999). The cluster of basic amino acids in vitronection contributes to its binding of plasminogen activator inhibitor-1. *Blood*, 72, 903-912.
- Ulutin, Ş. B., Yiğit, G. ve Uğur, M. Ş. (1975). Köpekte deneysel akut yaygın damar içi pıhtılaşması, *Türk fizyolojik bilimler derneği III. Ulusal kongresi*, 263-270.
- Wolfgang, S. (1989). Molecular mechanism of platelet activation. *Physiology Reviews*, 69, (1), 58-141.



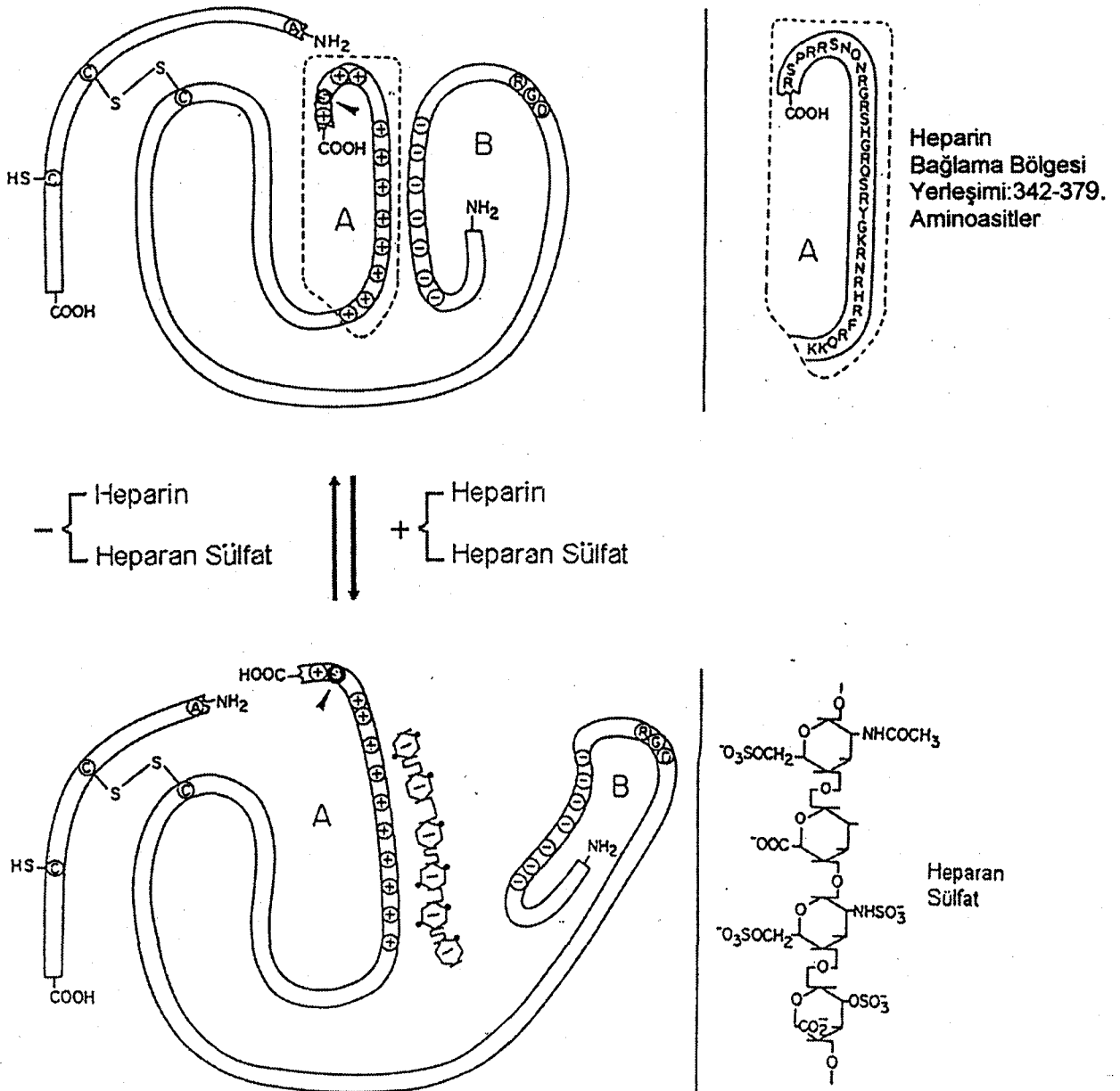
**Meltem Maraş**, Ankara 1972 doğumludur. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü 1995 yılında bitirdikten sonra, aynı bölümde 1999 yılında tamamlamıştır. Halen Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde araştırma görevlisi olan Meltem MARAŞ, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenciliğini sürdürmektedir



**Erol Aksöz**, Ankara 1947 doğumludur. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 1972'de mezun olduktan sonra aynı bölümde doktorasını 1977'de bitirmiştir. 1984 yılında Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda doçent ve 1990 yılında Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda profesörlüğe atandı. Halen Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde çalışmalarını sürdürmektedir.

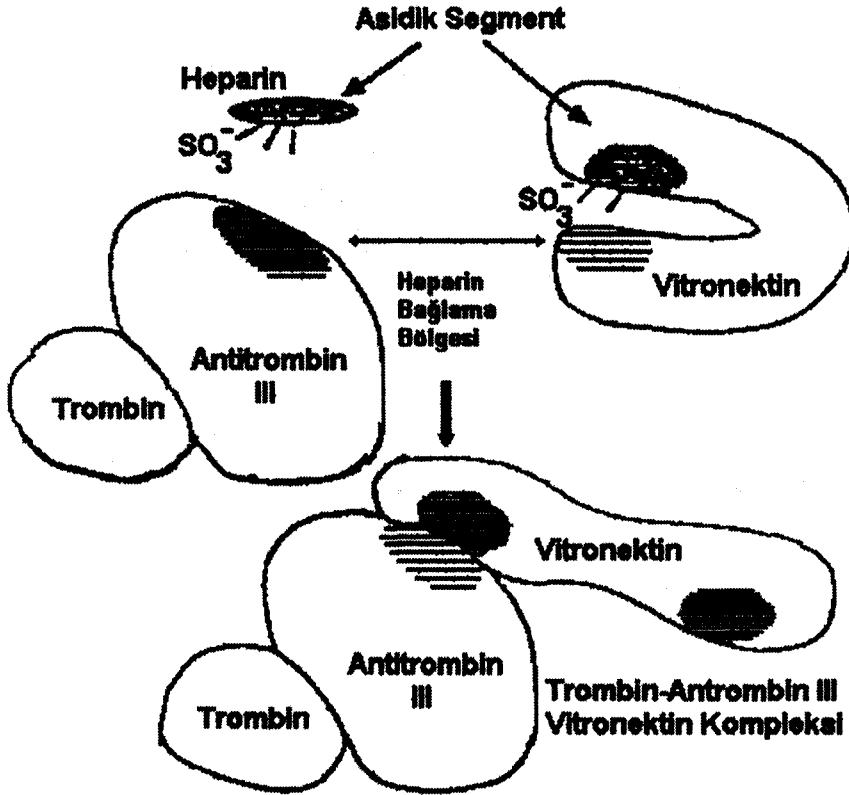


Şekil 1. İnsan Vitronektininin Üzerinde Bulunan Bölgeler. (Suzuki and Olberg, 1985; Ishikawa-Salurai and Hayashi, 1993; Liang and Rosenblatt, 1997).

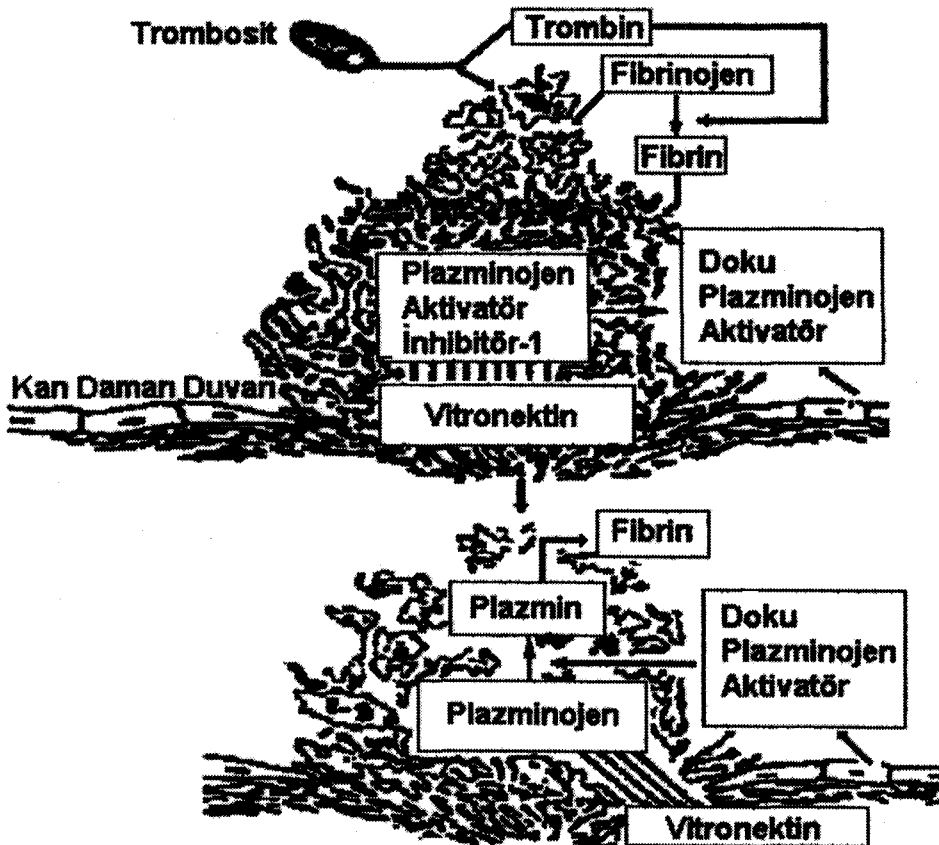


Şekil 2. Vitronektininin Heparin Bağlama Bölgesindeki Heparin Varlığında Gösterdiği Konformasyonel Değişiklik (Liang and Rosenblatt, 1997).

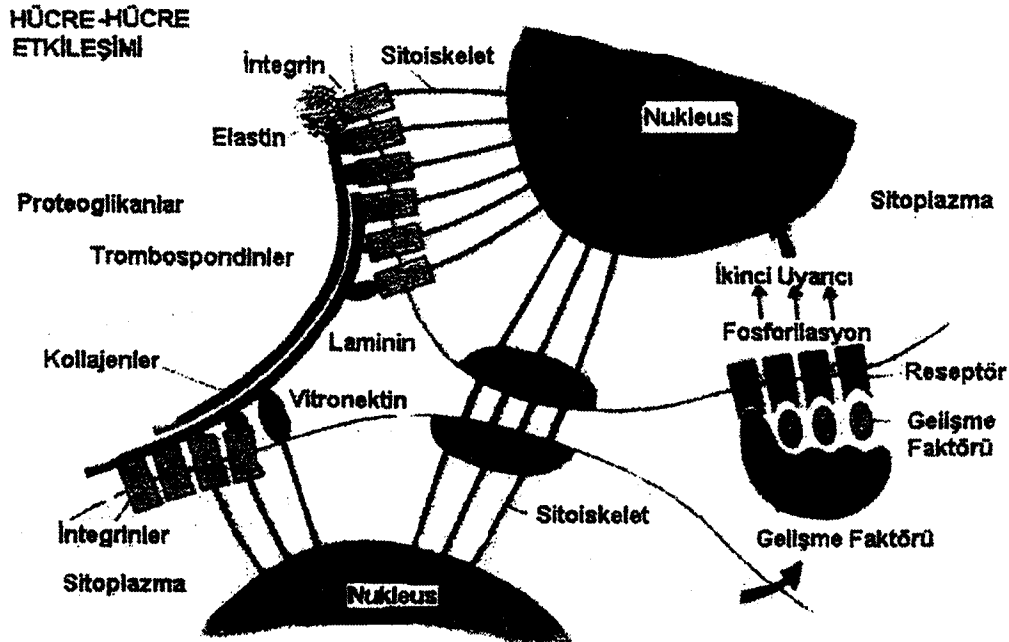




Şekil 3. Trombin-Antitrombin III'ün Vitronektinle Etkileşimi (Preissner and De Bear, 1996).



Şekil 4. Yaralanma Bölgesinde Kan Pıhtılaşması Sırasında Vitronektinin Rolü (Preissner and Jenne, 1991).



Şekil 5. Hücreler ve Ekstraselular Matriks Proteinlerinin Etkileşimi (Matsuars and Laurent, 1995).