

Antiagregación plaquetaria

Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición

Antonio López Farré* y Carlos Macaya

Unidad de Investigación Cardiovascular, Servicio de Cardiología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

Palabras clave:

Plaqueta

Micropartículas

Agonistas plaquetarios

Glucoproteínas

RESUMEN

Las plaquetas tienen un papel fundamental tanto en la hemostasia como en la patogenia de la aterotrombosis. Después de producirse la rotura de la placa de ateroma, diferentes proteínas se expresan en la plaqueta que interviene tanto en la unión de la plaqueta a la pared vascular dañada como en la interacción con nuevas plaquetas y otras células sanguíneas para formar el trombo final. Diferentes agonistas, entre ellos el difosfato de adenosina, el tromboxano A_2 y la trombina, se sintetizan y se liberan para llamar a más plaquetas a formar parte del trombo. Además, diferentes inhibidores endógenos de las plaquetas tratan de formar los agonistas plaquetarios anteriormente mencionados. Las plaquetas jóvenes y las micropartículas derivadas de las plaquetas también participan en la formación del trombo. Este artículo trata de revisar los mecanismos fisiológicos implicados en la activación y la inactivación plaquetarias.

Platelets: the Physiology of Activation and Inhibition

ABSTRACT

Platelets play a fundamental role in both hemostasis and the pathogenesis of atherothrombosis. After rupture of an atheromatous plaque, platelets express a number of adhesive proteins that influence both platelet adhesion at the damaged vessel wall and interactions with new platelets and other blood cells, all of which eventually result in clot formation. Several agonist, including adenosine diphosphate, thromboxane A_2 and thrombin, are then synthesized and released to attract additional platelets to form part of the clot. Moreover, various endogenous platelet inhibitors act against the above-mentioned platelet agonists. In addition, young platelets and platelet-derived microparticles also participate in clot formation. This article provides an overview of the physiological mechanisms involved in platelet activation and antiplatelet processes.

Keywords:

Platelet

Microparticle

Platelet agonist

Glycoprotein

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es uno de los más importantes sistemas de defensa del organismo. En su inicio es probable que el sistema se desarrollara para evitar el sangrado; sin embargo, su desarrollo en entornos arteriales puede convertir el proceso en patológico.

Para que ocurra el proceso de activación de las plaquetas durante la aterotrombosis, se requiere una serie de condiciones: *a*) la existencia de disfunción endotelial; *b*) alteraciones en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas; *c*) inflamación crónica en la que estén implicadas citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión y factores de crecimiento que modifican la funcionalidad de la pared vascular, intervienen en la regulación de la interacción intercelular y facilitan el desarrollo y la rotura de la placa ateromatosa; *d*) el estrés oxidativo que cambia la estructura y la actividad de lipoproteínas y promueve la activación de células, incluidas las propias plaquetas, y *e*) un estado hipercoagulante en el que las plaquetas también contribuyen.

Las plaquetas intervienen en el proceso trombótico agudo que sigue a la rotura de la placa de ateroma. Algunos datos experimentales también indican la posible participación de las plaquetas en la formación de la placa ateromatosa. Es evidente además que los tratamientos farmacológicos que permiten reducir el riesgo cardiovascular también reducen de manera indirecta, y algunos de ellos directamente, la activación de las plaquetas. Así, los tratamientos hipolipemiantes, antidiabéticos, antihipertensivos, vasodilatadores, etc., e incluso medidas dietéticas de mejora en los hábitos de vida pueden, en mayor o menor medida, reducir la activación de las plaquetas¹⁻⁴. También existen fármacos desarrollados específicamente para inhibir la capacidad de activación de las plaquetas con papel terapéutico, tanto en prevención primaria, en pacientes con enfermedad aterosclerótica o factores de riesgo asociados, como en prevención secundaria, en pacientes que ya han sufrido un evento trombótico. Esta revisión intenta repasar los mecanismos de agregación y antiagregación plaquetaria que en cierta medida nos ayuden a com-

*Autor para correspondencia: Unidad de Investigación Cardiovascular, Servicio de Cardiología, Hospital Clínico San Carlos, Prof. Martín Lagos s/n, 28040 Madrid, España.
Correo electrónico: ajlf@telefonica.net (A. López Farré).

prender cómo funcionan los fármacos antiplaquetarios e identifiquen otras posibles dianas terapéuticas para el desarrollo de nuevos fármacos.

LAS PLAQUETAS

De los elementos que forman la sangre, la plaqueta es el último en ser descubierto. Se considera al francés Alfried Donne (1801-1878) como el descubridor de las plaquetas, aunque también se atribuye al médico inglés George Gulliver (1804-1882). No fue hasta finales del siglo XIX cuando Giulio Bizzozero (1841-1901) aisló las plaquetas de los trombos e identificó la hemostasia y la trombosis como procesos análogos.

Las plaquetas son células enucleadas de 1-2 μm de tamaño, generadas en la médula ósea por fragmentación de los bordes de los megacariocitos, que se acumulan en el lugar donde el endotelio está disfuncional o dañado dentro de la pared arterial, lo que inicia la formación del trombo⁵. El intervalo fisiológico de las plaquetas es de 150-400 $\times 10^9/\text{l}$. Un adulto sano produce cada día una media de alrededor de 1×10^{11} plaquetas. La expectativa de vida de las plaquetas es de 7 a 10 días.

En condiciones fisiológicas, las plaquetas circulan en forma no activa y expresan en su superficie un número relativamente pequeño de muchas de las moléculas que, en estado activado, van a facilitar su interacción con otras plaquetas y otras células de su entorno. Además, las plaquetas contienen diferentes tipos de gránulos (fundamentalmente gránulos densos, gránulos α y lisosomas) desde los que al ser activadas liberan diferentes factores almacenados en ellos y que a su vez estimulan más la actividad de la propia plaqueta. Estos factores tienen también efectos biológicos sobre otras células del entorno plaquetario. Un estudio proteómico ha descrito que las plaquetas activadas por trombina liberan más de 300 proteínas diferentes, muchas de ellas relacionadas con reacciones inflamatorias⁶. Además, las plaquetas pueden interactuar con patógenos bacterianos e incluso expresar receptores del complemento⁷, lo que las convierte también en células involucradas en la inmunogenicidad del organismo. De hecho, las plaquetas expresan y almacenan proteínas antibacterianas llamadas trombocidinas⁸.

Como hemos señalado, las plaquetas contienen fundamentalmente tres tipos de gránulos: los gránulos densos, los gránulos α y los lisosomas. La liberación de los gránulos densos en las plaquetas ocurre por exocitosis, y desde ellos se liberan difosfato de adenosina (ADP), trifosfato de adenosina (ATP), fosfato inorgánico, polifosfatos, serotonina y calcio, entre otros.

La liberación de ADP es esencial como cofactor de la agregación plaquetaria y actúa mediante su interacción con receptores específicos localizados en la superficie plaquetaria. Se conocen dos receptores para el ADP en la plaqueta, uno acoplado a la proteína Gq (el P2Y₁) y otro acoplado a Gi (el P2Y₁₂), que es esencial para la hemostasia primaria^{9,10}. Ambos receptores actúan de modo sinérgico en la activación de las plaquetas. El P2Y₁ probablemente sea lo que origina la activación inicial reversible, mientras que el P2Y₁₂ es necesario para la activación prolongada y la agregación plaquetaria. El ADP y el ATP no sólo pueden actuar como coactivadores plaquetarios, sino también influir en el tono vascular.

El calcio liberado por la plaqueta es necesario para la formación de fibrina, mientras que los polifosfatos actúan como elementos reguladores en la coagulación y en el sistema fibrinolítico reaccionando con el factor XIII¹¹, entre otros. Finalmente, la serotonina no sólo tiene efecto vasoconstrictor, sino que también interviene en la activación de las propias plaquetas.

Los lisosomas plaquetarios contienen elastasas y otras proteasas que facilitan la degradación de la matriz extracelular, además de crear un ambiente ácido que favorecerá la acción de estas enzimas.

Los gránulos α son reservorios de proteínas que van desde factores de crecimiento hasta moléculas de adhesión o receptores que utiliza

la plaqueta para interactuar con otras células. Entre estos receptores se incluyen las glucoproteínas (GP) Ib y $\alpha\text{IIb}\beta 3$ ¹². Otra de las moléculas de adhesión contenidas en estos gránulos es la P-selectina, que permite la interacción de las plaquetas con las células endoteliales, los leucocitos y otras células inmunitarias. En los gránulos α hay también moléculas asociadas a la respuesta inflamatoria, como las citocinas.

ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

El mecanismo de formación del trombo plaquetario puede dividirse en cuatro etapas:

1. Frenado de las plaquetas circulantes sobre la pared vascular contra la corriente del flujo sanguíneo que las empuja.
2. Activación y adhesión firme de la plaqueta a la pared del vaso.
3. Unión de más plaquetas a las ya adheridas, que sería la fase de crecimiento del trombo.
4. Estabilización del trombo, la última fase.

En cada fase actúa una serie de mecanismos no completamente conocidos.

La GPIb α actúa en la fase inicial de frenado de las plaquetas sobre la pared vascular. La GPIb α se expresa de forma constitutiva en la superficie de la plaqueta e inicia el proceso de adhesión plaquetario uniéndose al colágeno y al factor von Willebrand (FvW)¹³. El FvW estará embebido en las fibras de colágeno, particularmente del colágeno de tipos I, III y VI. En los vasos con alto estrés de rozamiento, como ocurre en las arterias, el FvW es esencial para reducir el flujo rápido de las plaquetas mediante la interacción del dominio A1 del FvW con GPIb α . Sin embargo, la GPIb α es también el receptor más conocido de la proteína Mac-1, localizada en la superficie de los leucocitos activados. Mediante la interacción entre GPIb α y Mac-1 ocurre la unión entre plaqueta y leucocito, importante en la respuesta inflamatoria mediada por las plaquetas.

La interacción transitoria entre el FvW y la GPIb α permite la «rodadura» de las plaquetas en la zona dañada del vaso. Como resultado, las proteínas contenidas en la pared vascular, fundamentalmente el colágeno, inducirán la activación de las plaquetas y su adhesión firme a la pared, de tal manera que el colágeno y el FvW forman una especie de unidad funcional para la formación inicial del trombo, en el que el FvW contribuye a la captura inicial de las plaquetas en la superficie del vaso y el colágeno permite que se establezca una unión más estable con las plaquetas. En el proceso de interacción entre plaqueta y colágeno participan dos receptores plaquetarios, la GPVI y la integrina $\alpha 2\beta 1$ ¹⁴.

La activación de las plaquetas mediada por GPVI permite una firme adhesión de las plaquetas y la secreción de las sustancias procoagulantes y proinflamatorias contenidas en ellas, lo que hace que el trombo crezca y se consolide su formación. Además, a la unión de las plaquetas al colágeno sigue la expresión de fosfatidilserina sobre la membrana plaquetaria. La fosfatidilserina proporciona actividad protrombinasa, que aumenta la formación de trombina. Las plaquetas adheridas permanecerán vivas durante horas o días en el sitio de la lesión vascular y liberarán microvesículas con actividad proinflamatoria y protrombótica, de las cuales se habla más adelante.

Después de la deposición de las plaquetas sobre el FvW y el colágeno, se requiere el reclutamiento de nuevas plaquetas desde la circulación, en un proceso conocido como agregación plaquetaria. Esto es posible por la acumulación local de agonistas de la activación de las plaquetas debida a su secreción desde las plaquetas ya adheridas a la pared del vaso. Entre estos agonistas se incluyen el ADP, el TxA₂, la epinefrina y la trombina. La etapa final es la activación de los receptores $\alpha\text{IIb}\beta 3$, que posibilitan la unión del fibrinógeno y también del FvW, lo que permite el establecimiento de puentes estables entre las plaquetas. En el proceso de estabilización participan también otras moléculas, quizá una de las de mayor interés sea el ligando de CD40 (CD40L).

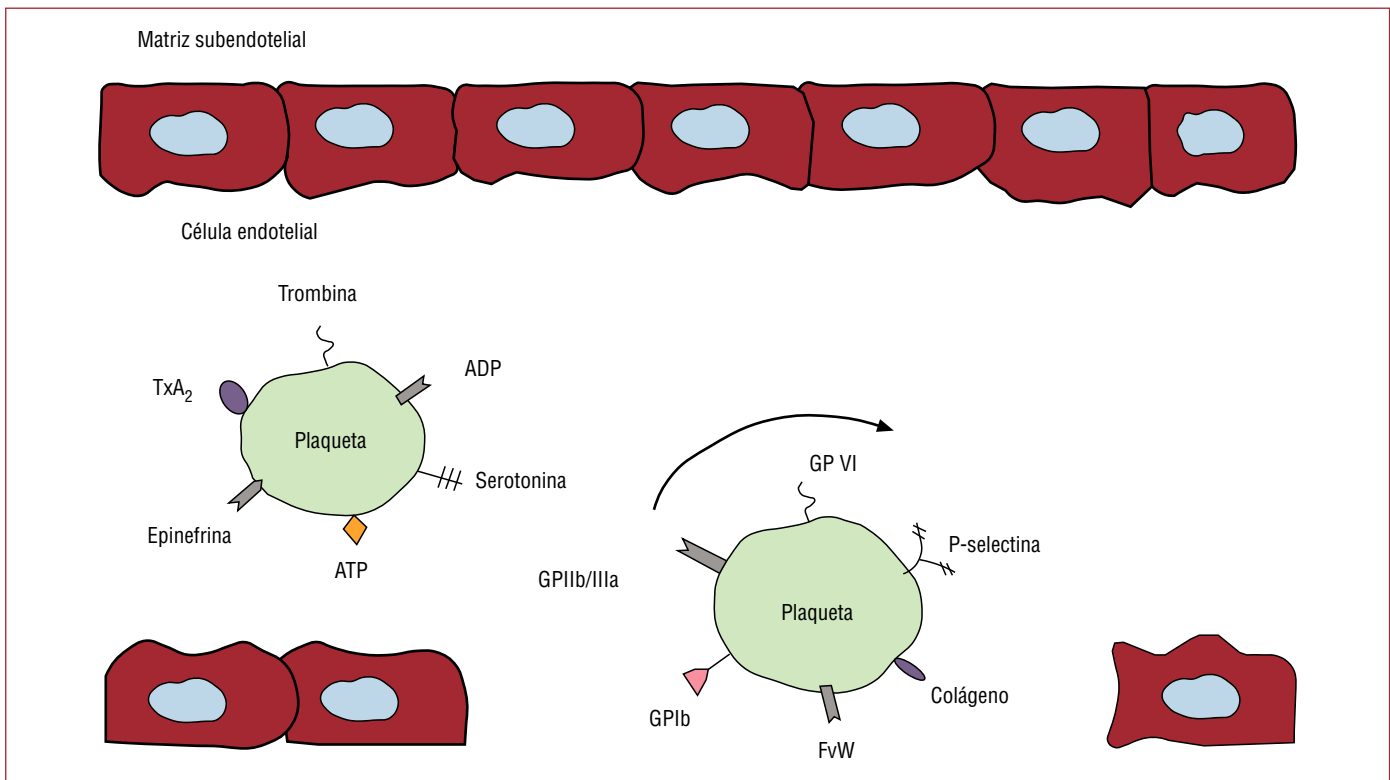


Figura 1. Principales agonistas y proteínas de adhesión que en la plaqueta participan en el proceso de activación plaquetaria. ADP: difosfato de adenosina; ATP: trifosfato de adenosina; FvW: factor de von Willebrand; GP: glucoproteína; TxA₂: tromboxano A₂.

El CD40L es una GP almacenada en los gránulos plaquetarios que, tras la desgranulación plaquetaria, pasa a expresarse en la superficie de la plaqueta. Desde allí puede liberarse desde la plaqueta al plasma mediante la actividad de la metaloproteasa-2. Tanto el CD40L unido a la plaqueta como el CD40L soluble interactúan con el CD40, expresado en los linfocitos B, los neutrófilos, los monocitos, otras plaquetas, las células endoteliales, las células dendríticas, los fibroblastos y las células de músculo liso vascular, entre otras. No se conoce bien el papel de esta interacción CD40L-CD40, pero sí se sabe que la interacción del CD40L de la plaqueta con el CD40 de las células endoteliales estimula la expresión y la liberación de moléculas asociadas al proceso inflamatorio¹⁵. Además, la interacción del CD40L expresado en las plaquetas con las células endoteliales de origen coronario reduce la capacidad de estas de liberar óxido nítrico (NO) y aumenta el estrés oxidativo¹⁶.

TxA₂, AMPLIFICADOR DE LA ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

Después de la activación inicial de las plaquetas, diferentes mecanismos cooperan para que esta activación se transmita al mayor número de plaquetas, y se produce lo que se conoce como fenómeno de reclutamiento plaquetario. Uno de estos factores cooperadores principales es el TxA₂, que se sintetiza en la plaqueta como consecuencia de la liberación de ácido araquidónico por la acción de la fosfolipasa A₂¹⁷. El ácido araquidónico es el sustrato de la ciclooxigenasa-1 (COX-1). La COX-1 producirá endoperóxidos cíclicos de las prostaglandinas, PGG₂ y PGH₂ como productos iniciales, que se transformarán en TxA₂ por la actividad de la TxA₂ sintasa. El TxA₂, además de activar más plaquetas, contraerá las células del músculo liso vascular.

Es conocido que la inhibición de la COX-1 plaquetaria es el mecanismo principal de acción antiplaquetaria del ácido acetilsalicílico. El ácido acetilsalicílico acetila de forma irreversible la molécula de hidróxido (OH) de la serina en posición 529 de la COX-1, con lo que se inhibe la actividad de esta enzima. El resultado de que se reponga la actividad de COX-1 en las plaquetas depende de la producción de más

plaquetas debido al carácter anucleado de estas, lo que las hace incapaces de generar nueva COX-1. Se calcula que se genera nuevo cada día aproximadamente un 10% del total de las plaquetas circulantes y que casi el 30% de las plaquetas tendrán activa la COX-1 y una producción normal de TxA₂ en las 48 h tras la última dosis de ácido acetilsalicílico¹⁸.

Probablemente, desde el punto de vista del tratamiento antiplaquetario, la inhibición de los receptores de TxA₂ o la actividad de la TxA₂ sintasa en la plaqueta tengan inicialmente una ventaja mayor que la actividad COX-1, ya que el ácido acetilsalicílico también inhibe la COX-1 endotelial que, a diferencia de la plaquetaria, libera prostaciclina, un inhibidor de la activación de las plaquetas. Se han hecho esfuerzos para desarrollar inhibidores específicos de la TxA₂ sintasa; sin embargo, los resultados experimentales obtenidos han demostrado una eficiencia muy limitada en comparación con el ácido acetilsalicílico, lo que posiblemente ocurre porque al inhibirse la TxA₂ sintasa se produce una acumulación de prostaciclina G₂ y H₂, ambas agonistas también de los receptores de TxA₂ en las plaquetas.

El ADP contribuye también a la propagación de la activación de las plaquetas. Ya hemos señalado que el ADP se libera desde los gránulos densos de las plaquetas, pero también por las células endoteliales y por los eritrocitos.

El ADP, mediante su unión a los receptores P2Y₁₂, inhibe la adenilato ciclasa y reduce la formación de adenosinmonofosfato cíclico (AMPC) en la plaqueta, lo que facilita su activación. El ADP, por su unión a los receptores P2Y₁, produce la activación de la fosfolipasa C. Estos dos receptores están acoplados a proteínas Gq y Gi respectivamente, lo que tiene gran importancia en el efecto del ADP en las plaquetas. Por ejemplo, el receptor Gq es el responsable del cambio de forma de la plaqueta inducido por ADP dependiente del reordenamiento de los filamentos de actina en la plaqueta acoplados a la activación de los receptores P2Y₁¹⁹.

El TxA₂ también usa como mecanismo de inhibición de la activación plaquetaria la reducción en la formación de AMPC. Sin embargo, el receptor plaquetario del TxA₂ no está directamente acoplado a la

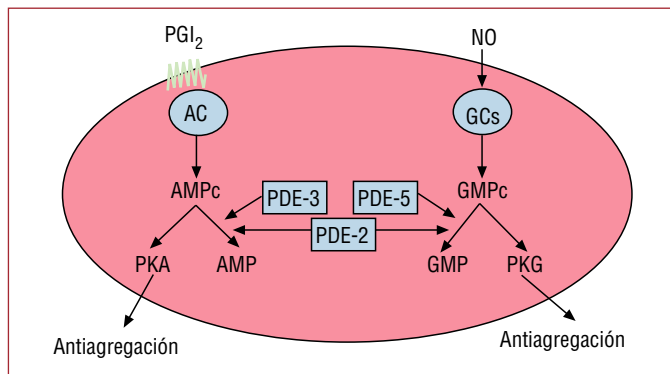


Figura 2. Activación de la formación de AMPc y GMPc en la plaqueta por prostaciclina (PGI₂) y óxido nítrico (NO), respectivamente. El AMPc estimula la proteína quinasa A (PKA) y el GMPc, la proteína quinasa G (PKG). A través de ambas vías de señalización se producirá la inhibición de la activación plaquetaria. La fosfodiesterasa degrada tanto el AMPc como el GMPc en el AMP y el GMP respectivamente. En las plaquetas hay tres isoformas de fosfodiesterasas (PDE): la PDE-3, que actúa fundamentalmente sobre el AMPc; la PDE-5, que actúa fundamentalmente sobre el GMPc, y la PDE-2, que actúa sobre el GMPc y el AMPc. AC: adenilato ciclasa; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; GCs: guanilato ciclasa soluble; GMPc: monofosfato de guanosina cíclico.

proteína Gi, lo que hace que el TxA₂ requiera la liberación de ADP para inhibir la actividad de adenilato ciclasa²⁰.

Implicación de la glucoproteína IIb/IIIa en la activación de las plaquetas

El receptor más abundante en la plaqueta es la integrina αIIbβ3 (GPIIb/IIIa) con aproximadamente 50.000-80.000 unidades en la superficie de cada plaqueta. La unión entre las subunidades GPIIb y GPIIIa ocurre mediante unión no covalente, lo que genera el receptor heterodimérico²¹. La mayoría de las GPIIb/IIIa se encuentran en la superficie plaquetaria, y sólo una pequeña parte se almacena en los gránulos α y en el sistema canalicular de la plaqueta, sistema de canales ramificados que se conectan a la membrana externa de la plaqueta. En las plaquetas circulantes, la GPIIb/IIIa se encuentra en estado de baja afinidad, que se transforma en alta afinidad después de la activación de estas células.

La GPIIb/IIIa interviene en la adhesión de la plaqueta a la pared vascular y también en la interacción entre plaquetas, lo que se conoce como agregación plaquetaria, mediante la interacción de dos GPIIb/IIIa localizadas en plaquetas diferentes que se unirán entre sí a través del fibrinógeno, que hará de nexo. Aunque el fibrinógeno es el ligando principal de la GPIIb/IIIa, otras moléculas como el FvW, la fibronectina y la vitronectina se unen también a la GPIIb/IIIa²¹. Todas lo hacen a través de una región específica localizada en estas moléculas, conocida como región RGD por ser la nomenclatura de los aminoácidos que conforman esta región (arginina, glicina, aspártico)²². Por lo tanto, los péptidos que contienen la secuencia RGD son capaces de interactuar con la GPIIb/IIIa e inhibir su interacción con otras moléculas. Existen otras secuencias peptídicas reconocidas por la GPIIb/IIIa, como por ejemplo lisina-glutamina-alanina-glicina-aspártico-valina. A diferencia de la región RGD, esta secuencia de 6 aminoácidos sólo se ha localizado en el fibrinógeno.

RECEPTORES DE LA TROMBINA

La trombina es el agonista plaquetario más potente que también facilita la producción de fibrina desde el fibrinógeno. Los receptores activados por la proteasa (PAR) son receptores de la trombina. El mecanismo de activación de los PAR y las señales que estimula son complejos. La trombina es una enzima, por lo que puede activar más de una molécula del receptor. Al unirse la trombina al receptor, ocurre una liberación proteolítica en la molécula del receptor, lo que produce la activación de cuatro tipos diferentes de proteínas G que estimulan señales diferentes en la célula²³.

Hasta el momento se han descrito cuatro tipos diferentes de PAR. De ellos, solamente el PAR-1 y el PAR-4 se expresan en las plaquetas humanas y cualquiera de los dos estimula la agregación y la secreción plaquetarias^{24,25}. El PAR-1 es el receptor principal de trombina en las plaquetas y produce la activación de la plaqueta con concentraciones bajas de trombina (EC₅₀, 50 pM), mientras que PAR-4 necesita concentraciones de trombina mayores (EC₅₀, 5.000 pM). Algunos investigadores han propuesto que en las plaquetas el PAR-1 actúa como cofactor de la activación por trombina de PAR-4, por lo que el PAR-1 y el PAR-4 actuarían como un único complejo²⁶. Sin embargo, los estudios preclínicos indican que la inhibición del receptor PAR-1 es suficiente para la prevención del evento trombótico²⁷. No obstante, los PAR no son de expresión exclusivamente plaquetaria, lo que dificulta el uso de este tipo de antitrombótico.

MECANISMOS ENDÓGENOS DE INHIBICIÓN DE LAS PLAQUETAS

Existen diferentes mecanismos endógenos que pueden contrarrestar el efecto de los agonistas que inducen la activación de las plaquetas. Entre ellos, es muy probable que el NO sea el principal regulador de la activación de las plaquetas.

El NO producido por la propia plaqueta interviene en el proceso de inhibición de la agregación plaquetaria y en la reducción del reclutamiento de nuevas plaquetas al trombo formado²⁸. En este sentido, las plaquetas de pacientes con angina inestable o infarto de miocardio producen menos NO que las plaquetas de los pacientes con angina estable, además de mostrar menos sensibilidad al NO²⁹. Además, el ambiente prooxidante que se produce durante la fase aguda del síndrome coronario favorece una reducción en la biodisponibilidad del NO que generan otras células del entorno plaquetario, lo que reduce su efecto inhibitorio en las plaquetas³⁰.

Son muchos los mecanismos por los que el NO puede inhibir las plaquetas. El segundo mensajero principal de las acciones del NO es el GMP cíclico (GMPc). El GMPc previene la activación de las plaquetas a través de al menos tres mecanismos: a) aumenta indirectamente la concentración de AMPc por inhibición de la fosfodiesterasa 3 (PDE-3); el aumento de AMPc actúa sinérgicamente con el de GMPc para inhibir la agregación plaquetaria; b) el GMPc inhibe la activación de la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) que produce la activación de la GPIIb/IIIa³¹, y c) el GMPc produce la fosforilación del receptor del TxA₂ e inhibe su función.

Además, e independientemente de la producción de GMPc, el NO inhibe la exocitosis de los gránulos densos, los lisosomas y los gránulos plaquetarios³².

Se sabe que las plaquetas no activas generan cantidades de NO significativamente menores que las plaquetas activadas. En este punto hay que señalar que es muy probable que el NO liberado por la propia plaqueta no sea el principal NO que contribuya a la regulación de la actividad de estas células. Tanto el endotelio como los leucocitos circulantes, células que forman parte importante en el trombo plaquetario, también generan NO. Incluso los fármacos antiplaquetarios utilizan el NO de estas otras células para inhibir las plaquetas^{33,34}.

La prostaciclina es otra de las moléculas endógenas que tiene una implicación directa en la regulación de la actividad plaquetaria. El producto principal derivado del ácido araquidónico en las células endoteliales es la prostaciclina producida a través del sistema de la COX y la prostaciclina sintasa. Aunque la prostaciclina tiene un efecto vasodilatador, parece que su función fisiológica principal es reducir la activación y la agregación de las plaquetas manteniéndolas en un estado no activo. En la pared vascular, la producción mayor de prostaciclina ocurre en la superficie de la íntima y disminuye según se avanza hacia la adventicia.

En la plaqueta, la activación del receptor de prostaciclina produce la estimulación de la adenilato ciclasa plaquetaria aumentando la concentración de AMPc en la plaqueta. El aumento de AMPc permite la fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatador

(VASP) y la inhibición de la movilización de calcio y la desgranulación plaquetaria. La fosforilación de VASP se ha correlacionado con la inhibición de la GPIIb/IIIa³⁵. En este sentido, las plaquetas deficientes en VASP tienen una mayor unión del fibrinógeno a la GPIIb/IIIa³⁶.

HIPERACTIVIDAD PLAQUETARIA Y MARCADORES PLAQUETARIOS DE ACTIVIDAD

No todos los pacientes tienen un estado trombotico «basal» similar. Por ejemplo, los pacientes obesos, con síndrome metabólico o diabéticos se caracterizan por tener un estado protrombótico que puede estar motivado por un aumento en la generación de trombina, una reducción de la fibrinólisis o hiperactividad plaquetaria. Se cree que este aumento de la reactividad plaquetaria basal aumenta el riesgo de aterotrombosis. Entre las alteraciones asociadas a la hiperactividad plaquetaria observada en este tipo de pacientes, se incluye mayor sensibilidad a los agonistas que inducen adhesividad y activación plaquetaria y resistencia a la respuesta antiagregante al NO^{37,38}. Esta respuesta reducida al NO también se produce con los dadores de NO³⁸.

Se ha considerado el tamaño del volumen plaquetario como un predictor independiente del evento vascular³⁹. Sin embargo, no se conoce bien los mecanismos que favorecen la presencia de plaquetas más grandes. Algunos investigadores han apuntado que la existencia de un número elevado de plaquetas de mayor tamaño refleja la existencia de plaquetas reticuladas. Las plaquetas reticuladas son plaquetas jóvenes, con mayor contenido de ARN mensajero, mayor número de gránulos densos y un potencial proagregante y procoagulante aumentado⁴⁰. El número de plaquetas reticuladas parece estar elevado en pacientes con síndrome coronario agudo⁴¹. Se ha propuesto la presencia de plaquetas reticuladas como un marcador de mayor recambio plaquetario. Este mayor recambio plaquetario reduce la eficacia de algunos fármacos antitrombóticos de inhibir la actividad plaquetaria^{42,43}.

Como ya se ha referido, la plaqueta no es la única célula involucrada en el proceso trombotico. Tanto las células endoteliales como los leucocitos y los eritrocitos participan en el proceso de formación del trombo. Otras estructuras que contienen diverso material celular proveniente de estas mismas células parecen tener una importante implicación en el proceso de la activación de la plaqueta. En particular, nos referimos a las micropartículas.

Diferentes células, entre ellas las plaquetas, liberan fragmentos de 0,1-1 µm, llamados micropartículas, cuya envoltura es una porción de la propia membrana plasmática celular. Las micropartículas derivadas de las plaquetas constituyen el 70-90% de las micropartículas circulantes y el aumento de su número se ha correlacionado con mayor riesgo de trombosis arterial⁴⁴.

El origen celular de las micropartículas se puede identificar por la expresión de diferentes marcadores en su superficie. En concreto, para las micropartículas de origen plaquetario se ha definido la presencia del antígeno CD41+. Las micropartículas se forman tras la activación de las plaquetas por agonistas plaquetarios como la trombina y el colágeno. Sin embargo, las micropartículas positivas a marcadores que hacen sospechar su origen plaquetario también se encuentran en número elevado en sujetos inicialmente sanos cuyas plaquetas no están activadas. Además, diversos estudios que evalúan la vida media de las micropartículas han demostrado que se aclaran rápidamente de la circulación. Una posibilidad es que las micropartículas derivadas de plaquetas que se encuentran en los sujetos sanos sean consecuencia de la formación de plaquetas desde los megacariocitos.

La importancia fisiopatológica que se atribuye actualmente a las micropartículas derivadas de plaquetas es su alta capacidad protrombótica e incluso inflamatoria. La elevada actividad protrombótica de las micropartículas derivadas de plaquetas se ha asociado inicialmente con su alto contenido en fosfatidilserina, aunque el mecanismo de su trombogenicidad no está bien establecido.

Otra diana terapéutica que quizá no se ha considerado suficientemente en el área de la prevención de la trombosis arterial son los megacariocitos, células que dan origen a las plaquetas. En un artículo recientemente publicado por nuestro grupo, se observó que durante la fase aguda de un síndrome coronario, hay plaquetas cuyas propiedades proteicas hacen sospechar que se las pueda considerar «aturdidas» (*bewildered*)⁴⁶. Estas plaquetas aturdidas existentes en esa fase aguda tienen una maquinaria asociada al metabolismo energético plaquetario reducida y una expresión menor de algunas proteínas asociadas con el citoesqueleto⁴⁶. El papel fisiológico de estas plaquetas aturdidas no se conoce todavía, pero podría ser un limitador de la activación plaquetaria tras la rotura de la placa de ateroma.

Como las plaquetas tienen una vida media de aproximadamente 10 días, es difícil pensar que estas plaquetas aturdidas se hayan generado de forma aguda en número suficiente como para poder detectarlas en la masa general de plaquetas, ya que se incluyó a los pacientes en el estudio dentro de las primeras 24 h desde el inicio del primer síntoma⁴⁶. Por ello, y como hipótesis, es probable que días antes de romperse la placa de ateroma se estén formando este tipo de plaquetas desde los megacariocitos, probablemente inducidos por señales que incluso podrían estar relacionadas con la inflamación de la placa que se va a romper. Además, estos hallazgos nos llevan a pensar que dogmas que en principio pensamos bien establecidos, como puede ser el proceso de activación plaquetaria tras la rotura de la placa ateromatosa, pueden verse modificados al utilizar tecnologías más novedosas que aparecen constantemente y nos permiten investigar con mayor detalle los procesos fisiopatológicos.

Numerosos estudios han demostrado el efecto beneficioso del ácido acetilsalicílico en diferentes situaciones clínicas agudas, como es el caso del síndrome coronario agudo y la revascularización percutánea. Además, está suficientemente demostrado el efecto beneficioso del ácido acetilsalicílico en prevención secundaria y primaria en pacientes con factores de riesgo cardiovascular. También se ha demostrado la eficacia de la inhibición de los receptores de ADP, P2Y₁₂, en pacientes de riesgo alto en terapia simple o en combinación con ácido acetilsalicílico. Actualmente se usan tres tienopiridinas diferentes para este propósito: la ticlopidina, el clopidogrel y el prasugrel, a las que se podría añadir el ticagrelor.

Aunque el ácido acetilsalicílico como monoterapia tiene un coste bajo y un beneficio alto, un número considerable de pacientes en tratamiento continúan sufriendo complicaciones aterotrombóticas, sobre todo los de riesgo cardiovascular elevado. También la potencia limitada del clopidogrel en su dosificación convencional ha estimulado la realización de estudios que evalúan dosis mayores. Uno de los más recientes es el estudio CURRENT-OASIS 7, que evaluó la eficacia y la seguridad de una dosis doble de clopidogrel comparada con la dosis estándar en pacientes con síndrome coronario agudo⁴⁷. No se observaron diferencias significativas entre los dos regímenes terapéuticos en el objetivo primario (muerte cardiovascular, infarto de miocardio o ictus) en los 30 días de tratamiento⁴⁷. Otros inhibidores de ADP, como el prasugrel, han demostrado un beneficio mayor en pacientes con diabetes mellitus y pacientes con elevación de ST sometidos a angioplastia primaria^{48,49}. Finalmente, en el estudio PLATO se evaluó el ticagrelor, un antiagregante reversible de los receptores P2Y₁₂ que actúa más rápidamente que el clopidogrel. En este estudio, que aleatorizó a 18.624 pacientes con síndrome coronario agudo a tratamiento con ticagrelor o clopidogrel, se observó una reducción significativa en el objetivo primario (muerte de causa vascular, infarto de miocardio o ictus) después de 12 meses de tratamiento en el brazo de tratamiento con ticagrelor⁵⁰. No obstante, en este y otros estudios con otros inhibidores de los receptores de ADP como el cangrelor (CHAMPION-PCI⁵¹, CHAMPION-PLATFORM⁵²) o el elinogrel (INNOVATE-PCI⁵³), en los que se intentó demostrar un mayor beneficio clínico de estos con respecto al clopidogrel, es incuestionable que podemos extraer entre sus conclusiones que siguen produciéndose eventos aterotrombóticos en pacientes tratados con diferentes fármacos antiplaquetarios. Es

importante, por lo tanto, profundizar en el conocimiento de los mecanismos moleculares y celulares involucrados en el proceso de activación plaquetaria, lo que nos permitirá desarrollar nuevos fármacos dirigidos a dianas terapéuticas nuevas, probablemente todavía no completamente delimitadas.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tirnaksiz E, Pamukcu B, Oflaz H, Nisanci Y. Effect of high dose statin therapy on platelet function; statins reduce aspirin-resistant platelet aggregation in patients with coronary heart disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2009;27:24-8.
2. Demirtunc R, Duman D, Basar M, Bilgi M, Teomete M, Garip T. The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2009;23:89-94.
3. Sato Y, Fujii S, Imagawa S, Ohmura K, Ohmura Y, Andoh Y, et al. Platelet aggregability in patients with hypertension treated with angiotensin II type 1 receptor blockers. *Atheroscler Thromb*. 2007;14:31-5.
4. López-Farré A, Macaya C. Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. *Rev Esp Cardiol*. 2006;6:31-7.
5. Bizzozero J. Ueber einen neuen Formbestandtheil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. *Archiv Pathol Anat*. 1985;90:261-332.
6. Senzel L, Gnatenko DV, Bahou WF. The platelet proteome. *Curr Opin Hematol*. 2009;16:329-33.
7. Yeaman MR. Platelets in defense against bacterial pathogens. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67:525-44.
8. Yeaman MR, Norman DC, Bayer AS. Platelet microbicidal protein enhances antibiotic-induced killing of and postantibiotic effect in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:1665-70.
9. Kahner BN, Shankar H, Murugappan S, Prasad GL, Kunapuli SP. Nucleotide receptor signaling in platelets. *J Thromb Haemost*. 2006;4:2317-26.
10. Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Inhibición del receptor plaquetario P2Y₁₂ de adenosina difosfato plaquetario: efectos beneficiosos y limitaciones de las estrategias terapéuticas actuales y perspectivas futuras. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:60-76.
11. Caen J, Wu Q. Hageman factor, platelets and polyphosphates: early history and recent connection. *J Thromb Haemost*. 2010;8:1670-4.
12. Von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2007;100:27-40.
13. Andrews RK, Gardiner EE, Shen Y, Berndt MC. Platelet interactions in thrombosis. *IUBMB Life*. 2004;56:13-8.
14. Siljander PR, Munnix IC, Smethurst PA, Deckmyn H, Lindhout T, Ouwehand WH, et al. Platelet receptor interplay regulates collagen-induced thrombus formation in flowing human blood. *Blood*. 2004;103:1333-41.
15. Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest*. 2005;115:3378-84.
16. Chen C, Chai H, Wang X, Jiang J, Jamaluddin MS, Liao D, et al. Soluble CD40 ligand induces endothelial dysfunction in human and porcine coronary artery endothelial cells. *Blood*. 2008;112:3205-16.
17. Kramer RM, Roberts EF, Um SL, Börsch-Haubold AG, Watson SP, Fisher MJ, et al. p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylates cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) in thrombin-stimulated platelets. Evidence that proline-directed phosphorylation is not required for mobilization of arachidonic acid by cPLA2. *J Biol Chem*. 1996;271:27723-9.
18. Tselepis AD, Gerotziafas G, Andrikopoulos G, Anninos H, Vardas P. Mechanisms of platelet activation and modification of response to antiplatelet agents. *Hellenic J Cardiol*. 2011;52:128-40.
19. Léon C, Hechler B, Freund M, Eckly A, Vial C, Ohlmann P, et al. Defective platelet aggregation and increased resistance to thrombosis in purinergic P2Y₁(1) receptor-null mice. *J Clin Invest*. 1999;104:1731-7.
20. Paul BZ, Jin J, Kunapuli SP. Molecular mechanism of thromboxane A₂(2)-induced platelet aggregation. Essential role for p2t(ac) and alpha(2a) receptors. *J Biol Chem*. 1999;274:29108-14.
21. Shattil SJ. Signaling through platelet integrin alpha IIb beta 3: inside-out, outside-in, and sideways. *Thromb Haemost*. 1999;82:318-25.
22. Tomiyama Y, Tsubakio T, Piotrowicz RS, Kurata Y, Loftus JC, Kunicki TJ. The Arg-Gly-Asp (RGD) recognition site of platelet glycoprotein IIb-IIIa on nonactivated platelets is accessible to high-affinity macromolecules. *Blood*. 1992;79:2303-12.
23. Angiolillo DJ, Capodanno D, Goto S. Platelet thrombin receptor antagonism and atherothrombosis. *Eur Heart J*. 2010;31:17-28.
24. Kahn ML, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature*. 1998;394:690-4.
25. 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;64:1057-68.
26. Leger AJ, Jacques SL, Badar J, Kaneider NC, Derian CK, Andrade-Gordon P, et al. Blocking the protease-activated receptor 1-4 heterodimer in platelet-mediated thrombosis. *Circulation*. 2006;113:1244-54.
27. Kato Y, Kita Y, Hirasawa-Taniyama Y, Nishio M, Mihara K, Ito K, et al. Inhibition of arterial thrombosis by a protease-activated receptor 1 antagonist, FR171113, in the guinea pig. *Eur J Pharmacol*. 2003;473:163-9.
28. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87:5193-7.
29. Bergandi L, Cordero M, Anselmino M, Ferraro G, Ravera L, Dalmasso P, et al. Altered nitric oxide/cGMP platelet signaling pathway in platelets from patients with acute coronary syndromes. *Clin Res Cardiol*. 2010;99:557-64.
30. López-Farré A, Riesco A, Digiuni E, Mosquera JR, Caramelo C, De Miguel LS, et al. Aspirin-stimulated nitric oxide production by neutrophils after acute myocardial ischemia in rabbits. *Circulation*. 1996;94:83-7.
31. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res*. 2001;88:756-62.
32. Beghetti M, Sparling C, Cox PN, Stephens D, Adatia I. Inhaled NO inhibits platelet aggregation and elevates plasma but not intraplatelet cGMP in healthy human volunteers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H637-42.
33. López-Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola ML, Millás I, Montón M, et al. Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation*. 1995;91:2080-8.
34. Grosser N, Schröder H. Aspirin protects endothelial cells from oxidant damage via the nitric oxide-cGMP pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1345-51.
35. Aszódi A, Pfeifer A, Ahmad M, Glauner M, Zhou XH, Ny L, et al. The vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) is involved in cGMP- and cAMP-mediated inhibition of agonist-induced platelet aggregation, but is dispensable for smooth muscle function. *EMBO J*. 1999;18:37-48.
36. Hauser W, Knobloch KP, Eigenthaler M, Gambaryan S, Krenn V, Geiger J, et al. Megakaryocyte hyperplasia and enhanced agonist-induced platelet activation in vasodilator-stimulated phosphoprotein knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:8120-5.
37. Santilli F, Vazzana N, Liani R, Guagnano MT, Davì G. Platelet activation in obesity and metabolic syndrome. *Obes Rev*. 2012;13:27-42.
38. Rajendran S, Chirkov YY. Platelet hyperaggregability: impaired responsiveness to nitric oxide ("platelet NO resistance") as a therapeutic target. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2008;22:193-203.
39. Vizioli L, Muscari S, Muscari A. The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases. *Int J Clin Pract*. 2009;63:1509-15.
40. Ault KA, Rinder HM, Mitchell J, Carmody MB, Vary CP, Hillman RS. The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. *Am J Clin Pathol*. 1992;98:637-46.
41. Lakkis N, Dokainish H, Abuzahra M, Tsyboulev V, Jorgensen J, De Leon AP, et al. Reticulated platelets in acute coronary syndrome: a marker of platelet activity. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2091-3.
42. Guthikonda S, Lev EI, Patel R, DeLaio T, Bergeron AL, Dong JF, et al. Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin. *J Thromb Haemost*. 2007;5:490-6.
43. Mateos-Cáceres PJ, Macaya C, Azcona L, Modrego J, Mahillo E, Bernardo E, et al. Different expression of proteins in platelets from aspirin-resistant and aspirin-sensitive patients. *Thromb Haemost*. 2010;103:160-70.
44. Horstman LL, Ahn YS. Platelet microparticles: a wide-angle perspective. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1999;30:111-42.
45. Flaumenhaft R. Formation and fate of platelet microparticles. *Blood Cells Mol Dis*. 2006;36:182-7.
46. López-Farré AJ, Zamorano-Leon JJ, Azcona L, Modrego J, Mateos-Cáceres PJ, González-Armengol J, et al. Proteomic changes related to "bewildered" circulating platelets in the acute coronary syndrome. *Proteomics*. 2011;11:3335-48.
47. CURRENT-OASIS 3 Investigators, Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, Diaz R, Eikelboom JW, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2010;363:930-42.
48. Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, Meisel S, Dalby AJ, Verheugt FW, et al. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38. *Circulation*. 2008;118:1626-36.
49. Montalescot G, Wiviott SD, Braunwald E, Murphy SA, Gibson CM, McCabe CH, et al. Prasugrel compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (TRITON-TIMI 38): double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2009;373:723-31.
50. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009;361:1045-57.
51. Harrington RA, Stone GN, McNulty S, White HD, Lincoff AM, Gibson M, et al. Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med*. 2009;361:2318-29.
52. Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, Stone GN, McNulty S, Montalescot G. Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med*. 2009;361:2330-41.
53. Leonardi S, Rao SV, Harrington RA, Bhatt DL, Gibson CM, Roe MT, et al. Rationale and design of the randomized double-blind trial testing INTravenous and Oral administration of elinogrel, a selective and reversible P2Y₁₂-receptor inhibitor versus clopidogrel to evaluate tolerability and efficacy in nonurgent percutaneous coronary interventions patients (INNOVATE-PCI). *Am Heart J*. 2010;160:65-72.