

PLAQUETAS: CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES Y SU PAPEL EN LA HEMOSTASIA Y RESPUESTA INFLAMATORIA

Platelets: ultrastructural characteristics and its role in haemostasis and inflammation

Bautista, M.J.; Carrasco, L.; Gómez-Villamandos, J.C.; Martín de Las Mulas, J.; Pérez, J.; Méndez, A. y Sierra, M.A.

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

Recibido: 21 Enero 1995

Aceptado: 3 Marzo 1996

Correspondencia: M.J. Bautista. Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Avda. Medina Azahara s/n. 14071-Córdoba (España).

RESUMEN

Las plaquetas son las células más pequeñas de la sangre en la que circulan como elementos anucleados derivados de los megacariocitos. Estas células juegan un papel muy importante en la hemostasis. Sin embargo, trabajos recientes han revelado que las plaquetas también participan en los procesos inflamatorios y en la respuesta inmune. Las plaquetas pueden interactuar con los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, monocitos y macrófagos, células endoteliales, fibroblastos, microorganismos, proteínas de fase aguda, el sistema del complemento y las inmunoglobulinas. Por su gran importancia pretendemos hacer una revisión actualizada de las funciones de las plaquetas.

Palabras clave: plaquetas, hemostasia, coagulación, inflamación, respuesta inmune.

ABSTRACT

Platelets are the smallest elements in the blood where they circulate as anucleated cells derived from megakaryocytes. Platelets play a critical role in hemostasis. However, current research has revealed that platelets also participate in the inflammatory process and in body defense. Platelets may interact with neutrophils,

monocytes and macrophages, endothelial cells, fibroblasts, microorganisms, and immunoglobulins. Because of great importance of these cells we want to do a review of platelets functions.

Key words: platelets, haemostasis, coagulation, inflammation, immune response.

Las plaquetas proceden de los megacariocitos de la médula ósea y tienen una vida media (dependiendo de las especies) de 5 a 10 días (BURTON y HONOR, 1991) siendo fagocitadas por células del sistema mononuclear fagocítico aquellas plaquetas que no intervienen en la hemostasia (BURTON y HONOR, 1991) (Fig. 6).

Las plaquetas son células anucleadas, de unos 3 μm de diámetro (1,3-4,7 x 0,5), de forma redondeada o discoide, que contienen diferentes tipos de gránulos en su citoplasma, incluyendo gránulos alfa, gránulos densos y lisosomas y que además presentan un citoesqueleto característico compuesto de microtúbulos y filamentos (ZUCKER et al., 1974; WHITE, 1979; WHITE, 1984; SIXMA, 1986) (Fig. 1).

La zona periférica está compuesta por una cubierta externa, la membrana plasmática y un área submembranosa. Esta zona mantiene la integridad de la plaqueta y está relacionada con la recepción y transmisión de los estímulos que la activan (HASLAM, 1973; NURDEN y CAEN, 1975; HOURANI y CUSACK 1991). La cubierta externa es rica en glicoproteínas que sirven como receptores para los agentes activadores de las plaquetas y corresponde al glucocálix. Contiene mucopolisacáridos ácidos y una adenosín-trifosfatasa (ATP-asa) dependiente de magnesio. Se han encontrado proteínas plasmáticas (fibrinógeno, IgG, IgM) y factores de la coagulación (factores dependientes de la vitamina K, factor V y factor VIII) adsorbidos en la cubierta externa y se han identificado por lo menos 7 glicoproteínas en las plaquetas de los mamíferos que sirven como receptores de los factores de la coagulación. La glicoproteína Ib es el receptor del factor de von Willebrand, un componente del factor VIII necesario para que la plaqueta se adhiera al endotelio dañado (JAIN, 1986; GENTRY, 1992).

La membrana plasmática mantiene la integridad de la plaqueta y es rica en fosfolípidos asimétricamente distribuidos. Algunos fosfolípidos participan en los procesos de coagulación (los llamados factores plaquetarios: FP1, FP2, FP3, FP4) y otros son utilizados en el metabolismo del ácido araquidónico durante la coagulación. Además aportan la carga negativa neta, esencial para la interacción de las plaquetas activadas y los factores de la coagulación (CHAP et al., 1987; BEVERS et al., 1991). Los estímulos externos se conducen a través de la membrana plasmática y producen respuestas bioquímicas intracelulares que incluyen el metabolismo del ácido araquidónico, la activación de la proteína G, las reacciones de fosforilación y la movilización de calcio (TEPPERMAN y TEPPERMAN, 1987; KROLL y SCHAFFER, 1989; SIESS, 1989; HOURANI y CUSACK, 1991). La energía requerida para estas reacciones está proporcionada por la actividad mitocondrial y por las inclusiones de glucógeno (HOLMSEN, 1985).

El área submembranosa está constituida por microfilamentos y microtúbulos (Fig. 1) que proporcionan el citoesqueleto necesario para el mantenimiento de la forma discoide de las plaquetas y que está relacionado con el sistema contráctil involucrado en el cambio de forma de éstas, en la emisión de pseudópodos, en la contracción interna y en la secreción del contenido de los gránulos. Los microfilamentos también están relacionados con la retracción del trombo, gracias a la trombostenina, una proteína contráctil asociada al sistema de filamentos (BEHNKE, 1970; NACHMIAS, 1980; FOX y PHILLIPS, 1983; WHITE, 1983).

En el citoplasma se pueden encontrar organelas entre las que se incluyen las mitocondrias, el complejo de Golgi, los lisosomas y peroxiso-

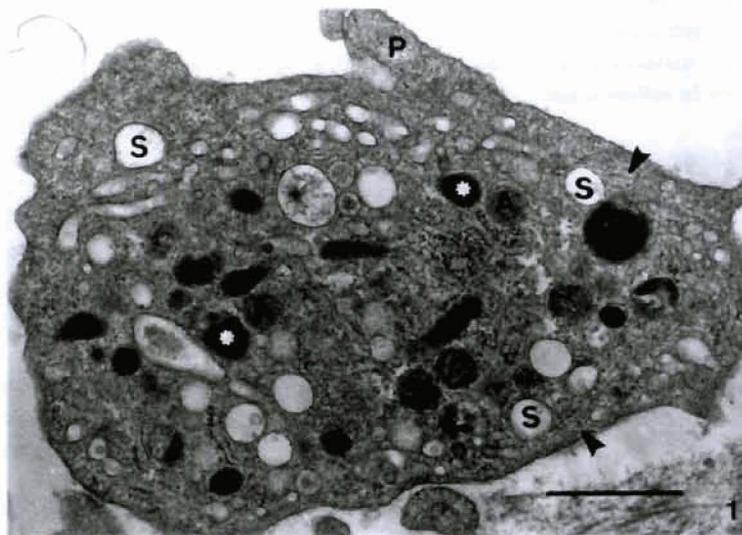


FIGURA 1. Plaqueta en la que pueden distinguirse el S.C.A. (S), gránulos alfa (A) y densos (D), microfilamentos (▶) y pseudópodos (P). Barra: 1 μ m.

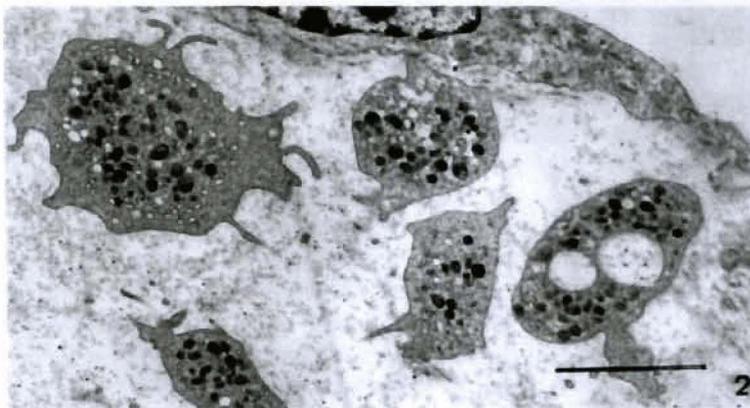


FIGURA 2. Activación plaquetaria con emisión de pseudópodos y dilatación del S.C.A. Barra: 5 μ m.

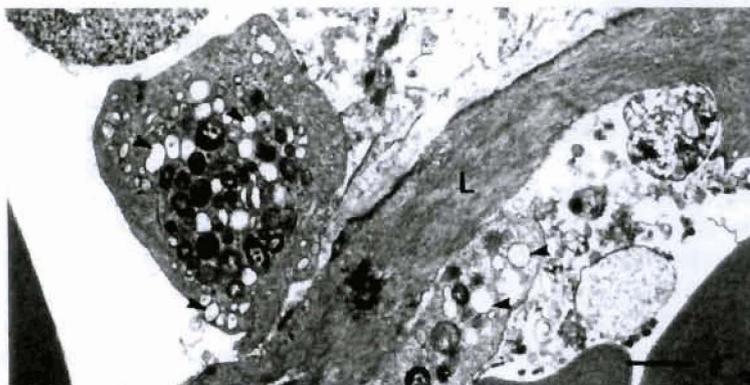


FIGURA 3. Reacción de adhesión frente al colágeno existente en la lámina externa que rodea a la fibra muscular lisa (L). Nótese además la dilatación del S.C.A. (▶). Barra: 1 μ m.

mas, escasas cisternas de retículo endoplásmico rugoso, algunos ribosomas y los gránulos alfa y densos (Fig.1), que contienen las sustancias que participan en la hemostasia y en la inflamación (BURTON y HONOR, 1991).

Los lisosomas contienen hidrolasas como la fosfatasa ácida y la betaglucoronidasa, enzimas proteolíticas y proteínas catiónicas (JAIN, 1986). Aunque sólo se ha descrito la presencia de lisosomas primarios en plaquetas humanas y murinas, mediante estudios ultraestructurales se han observado tanto lisosomas primarios como secundarios en plaquetas bovinas, felinas, aviares y murinas (BENTFELD y BAINTON, 1975; BENTFELD-BAKER y BAINTON, 1982; SIXMA, 1986; MENARD et al., 1990). Se ha demostrado actividad digestiva en lisosomas de plaquetas bovinas, humanas y aviares, sugiriendo que los lisosomas de las plaquetas tienen una función intracelular similar a la que tendrían en otros tipos celulares (MENARD et al., 1990).

Los gránulos azurófilos observados en extensiones de plaquetas teñidas con la técnica de Wright corresponden a los gránulos alfa (Fig.1) vistos con el microscopio electrónico. Los gránulos alfa son estructuras de mediana electrodensidad, ovalados o redondos. Contienen proteínas que han sido clasificadas en tres subgrupos como:

1. homólogas de las proteínas plasmáticas: fibrinógeno, fibronectina, albúmina, factor V, plasminógeno, factor de von Willebrand, IgG;
2. proteínas específicas de las plaquetas, incluyendo el FP4 y la betatromboglobulina y,
3. proteínas mitógenas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP) y el factor de crecimiento transformador (FCT) (HOLT y NIEWIAROWSKI, 1985).

Los gránulos electrodensos, también llamados gránulos delta o cuerpos densos (Fig.1), contienen ATP, ADP, calcio y muchas monoaminas como la serotonina e histamina (BAK et al., 1967; DAVIS y WHITE, 1968; FUKAMI y SALGANIKOFF, 1977). Hay muchas diferencias en los constituyentes de los gránulos den-

sos según las especies (DODDS, 1978). La contracción de los microtúbulos dirige a las organelas al centro de la célula y los gránulos alfa se funden con el sistema canalicular abierto, vertiendo su contenido al exterior (JAIN, 1986).

Las plaquetas tienen dos sistemas de membranas: el sistema canalicular abierto (SCA) (Fig.1) y el sistema canalicular denso (SCD). El sistema canalicular abierto está formado por largas invaginaciones de la membrana plasmática que representan una reserva de membrana que puede ser evaginada durante la activación y contribuir así al cambio de forma y al aumento de tamaño de estas células. No obstante, estos canales se anastomosan unos a otros y forman una red fenestrada que recorre toda la plaqueta y que incluso puede asociarse a elementos del SCD para formar complejos de membrana, sugiriéndose que este sistema juegue un papel más importante. Las plaquetas absorben sustancias del plasma que quedan contenidas en los gránulos alfa a través de este sistema. Además, el SCA es una vía para la secreción de sustancias de las plaquetas al exterior (BEHNKE, 1967; ZUCKER-FRANKLIN et al., 1985; WHITE, 1987; MILLER y RONALD, 1990). Sin embargo, las plaquetas bovinas carecen de SCA, pero secretan el contenido de gránulos alfa y contienen proteínas derivadas del plasma y macromoléculas similares a las encontradas en otras plaquetas de mamíferos (WHITE, 1987; BONDY y GENTRY, 1989). En las plaquetas bovinas estimuladas, los gránulos alfa, al contrario que los del resto de las especies, migran a la periferia de la célula, se funden con la membrana plasmática y liberan su contenido directamente al exterior (WHITE, 1987). Parece ser que las diferencias entre plaquetas humanas y plaquetas bovinas es más superficial que real. Cuando las plaquetas humanas son activadas se forman unas vesículas pequeñas o «micropartículas» en la superficie de la plaqueta (BEVERS et al., 1991; WENCEL-DRAKE, 1991). Estas vesículas contienen glicoproteínas derivadas de la membrana plasmática y de las membranas de los gránulos

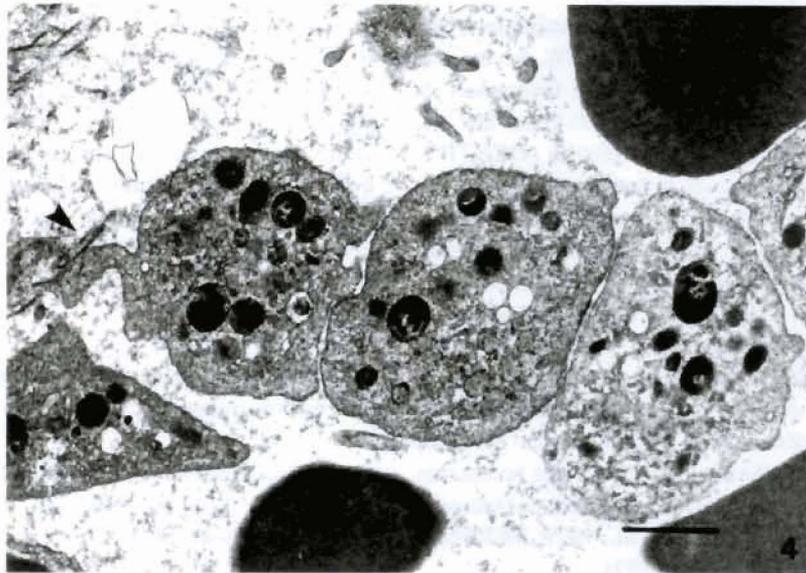


FIGURA 4. Reacción de agregación plaquetaria frente al colágeno junto con la emisión de un pseudópodo por la plaqueta más próxima a las fibras de colágeno (➤). Barra: 1 μ m.

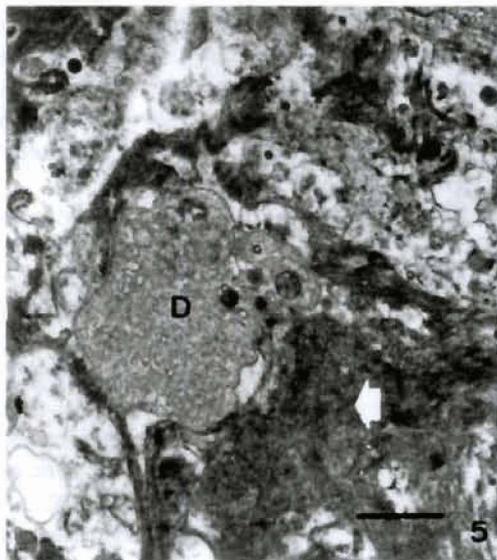


FIGURA 5. Electronografía en la que se observa una plaqueta degranulada (D), tras producirse la reacción de liberación, rodeada por numerosos haces de fibrina (➤). Barra: 1 μ m.



FIGURA 6. Fagocitosis de plaquetas (F) por parte de un macrófago de los cordones esplénicos. Bazo de cerdo. Barra: 2 μ m.

alfa, así como componentes del esqueleto plaquetario (WIEDMER et al., 1990). Se ha propuesto que el calcio inicie esta formación de vesículas (BEVERS et al., 1991). En las plaquetas bovinas ocurre algo similar (GENTRY, 1992). El desarrollo de la reacción de liberación en las plaquetas de mamíferos requiere una intensa investigación de la formación de vesículas como un camino de secreción del contenido de los gránulos como ocurre en las plaquetas humanas (POLASEK et al., 1987; WENCEL-DRAKE, 1991). Además, se han observado vesículas con cubierta en plaquetas humanas, porcinas y murinas, que parecen tomar parte en procesos de endocitosis mediada por receptores similares a las producidas en otras poblaciones celulares (GOLDSTEIN et al., 1979; BERMAN et al., 1986; BEHNKE, 1989).

El sistema canalicular denso (SCD) secuestra el calcio (manteniendo niveles bajos en las plaquetas para que no se activen) y en él se encuentran las enzimas necesarias para la síntesis de prostaglandinas (GERRARD et al., 1978; CAREY et al., 1982); se localiza principalmente debajo de los microtúbulos y no se comunica con el exterior. La liberación de calcio de los gránulos densos al citoplasma parece ser el inicio de la agregación (JAIN, 1986).

El ácido araquidónico, formado a partir de los fosfolípidos de membrana por acción de la fosfolipasa A y C, es metabolizado por las plaquetas para producir varios tipos de prostaglandinas. Por la ruta de la ciclooxigenasa se puede formar: TXA_2 (tromboxano), PGI_2 (prostaciclina), PGD_2 (endoperóxido D isomerasa), PGE_2 (endoperóxido E isomerasa) y PGF_2 (endoperóxido F isomerasa). También utilizan la vía de la lipooxigenasa formándose HPETE (ácido hidroperoxyeicosatetranoico) y HETE (ácido hidroxyeicosatetranoico) (MONCADA y HIGGS, 1986). El metabolismo del ácido araquidónico es más pronunciado en las plaquetas humanas, observándose muchas diferencias entre las distintas especies animales (BURTON y HONOR, 1991).

La principal función de las plaquetas es la hemostasia, ya que ayudan a mantener la integridad vascular. La función de las plaquetas en la hemostasia no sólo se reduce al bloqueo mecánico del lugar donde se produce la lesión vascular, sino que también proporcionan una superficie catalítica para que actúe la cascada de la coagulación (JAIN, 1986).

1. HEMOSTASIA

1.1. Actividad procoagulante: formación del tapón primario

En los mamíferos, las plaquetas responden fuertemente a la estimulación por un variado número de sustancias incluyendo el endotelio dañado, el colágeno, las prostaglandinas, el factor activador de las plaquetas (FAP), el ADP y la trombina (SIESS, 1989; HOURANI y CUSACK, 1991). Tras unos segundos de exposición a un activador, se inician una serie de respuestas celulares, entre las que se encuentran la pérdida de la forma discoide, la activación de los receptores de superficie frente al fibrinógeno, la liberación de sustancias de los gránulos y la generación de una actividad procoagulante (GENTRY y DOWNIE, 1983; BEVERS et al., 1987; MEYERS y WARDROP, 1991).

En el mecanismo de la coagulación existen tres reacciones plaquetarias principales: a) la *reacción de adhesión* o unión de las plaquetas a superficies no plaquetarias (Fig.3), b) la *reacción de liberación*, en la que las plaquetas vierten el contenido de sus gránulos al exterior y c) la *reacción de agregación*, o adhesión de las plaquetas entre sí (Fig. 4). Las plaquetas no se agregan ni se adhieren al endotelio en condiciones normales. Esto es atribuible a la PGI_2 , un potente inhibidor de la adhesión y agregación plaquetaria, secretado por el endotelio normal. Durante la activación de las plaquetas, particularmente en respuesta a fuertes agonistas como el colágeno o la trombina, las células cambian de forma, se hacen irregulares y emiten prolon-

gaciones citoplasmáticas a modo de pseudópodos (Fig. 2) (WHITE, 1987). Estos pseudópodos proporcionan receptores de superficie que facilitan la reacción de adhesión y la reacción de agregación (Figs. 3 y 4). Para que se produzca la unión al colágeno las plaquetas necesitan calcio y factor de von Willebrand (este último proviene en primer lugar del endotelio dañado y después lo secretan las plaquetas) (TRIPLETT, 1978). Una vez que se ha producido la reacción de adhesión, las plaquetas liberan un conjunto de potentes sustancias bioquímicas que provocan vasoconstricción y agregación plaquetaria (Fig. 5). Entre estas sustancias destacan el calcio, la serotonina, enzimas proteolíticas, proteínas catiónicas y los nucleótidos ADP y ATP, fibrinógeno plaquetario, cofactores plaquetarios 3 y 4 y el TXA₂ (MCKELLAR et al., 1990). Las organelas se dirigen hacia el centro de la plaqueta y el contenido de los gránulos alfa es vertido al exterior por medio del SCA (WHITE, 1984), que morfológicamente se muestra dilatado y evaginado en la superficie de la célula (fase de liberación) (PHILLIPS et al., 1988; RIBONI et al., 1988; ESCOLAR et al., 1989).

La liberación de ADP cataliza la agregación plaquetaria. El ADP proviene en primer lugar de la pared vascular dañada y después de las propias plaquetas (BORN y CROSS, 1963). El ATP se reduce a ADP por la acción de una ATP-asa; esto provoca una mayor atracción plaquetaria que agranda el tapón hemostático inicial (LUSCHER, 1965). Otra sustancia que cumple un papel esencial en la función plaquetaria es el AMP-cíclico (AMPc). Las sustancias que inhiben la agregación aumentan la concentración de AMPc plaquetario. Las prostaglandinas producidas por las células endoteliales, principalmente la prostaciclina, estimulan la adenilato-ciclasa de la membrana plaquetaria, con lo que aumenta el AMPc en el interior de la plaqueta y se inhibe la agregación. Las prostaglandinas producidas por los trombocitos, entre las que destaca el TXA₂, movilizan el calcio desde los lugares de reserva dentro de la plaqueta. Se

cree que el calcio movilizado inhibe la adenilato-ciclasa y estimula la liberación de las sustancias contenidas en los gránulos densos (ADP, serotonina). El TXA₂ también es uno de los más potentes vasoconstrictores conocidos, pero su corta vida media limita la duración de su efecto. La agregación plaquetaria puede ser inducida «in vitro» por el ADP, la epinefrina, el colágeno, la trombina, la serotonina, el TXA₂, los complejos inmunes, las endotoxinas y los virus (JAIN, 1986). Las agrupaciones de plaquetas se deshacen con relativa rapidez y sólo en una segunda fase experimentan una metamorfosis viscosa, en la que las plaquetas, inducidas por la trombina principalmente (HENKER et al., 1983; BEVERS et al., 1987; DAVIE et al., 1991), se hinchan y se funden formando sobre el área dañada un gran sincitio plaquetario que es irreversible (JAIN, 1986).

1.2. Actividad procoagulante: sistema plasmático y formación de fibrina

Las plaquetas también juegan un papel importante en la formación de fibrina, dentro de las cascadas de la coagulación ya que contienen un conjunto de proteínas y lipoproteínas, designadas como factores plaquetarios (FP1, FP2, FP3, FP4). El mejor conocido es el FP3, que actúa como un acelerador de los procesos de la coagulación. La superficie de las plaquetas inactivadas no muestra afinidad por las reacciones de adhesión ni de agregación y no favorece la formación de trombina. Junto con el cambio de forma tras la activación plaquetaria, hay una pérdida progresiva de los fosfolípidos asimétricamente distribuidos de la membrana plaquetaria y la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina de la monocapa interna se exponen en la monocapa externa (BEVERS et al., 1991). El aumento de esta exposición, especialmente de la fosfatidilserina, potencia la capacidad de la plaqueta para acelerar la formación de trombina (GENTRY, 1992).

La presencia de los fosfolípidos catalíticos

en la superficie de las plaquetas activadas va acompañada por la exposición de receptores de alta afinidad para los factores Va, IX, IXa y VIII de la coagulación (AHMAD et al., 1989; SIMS et al., 1989; RAWALA-SHEIKH et al., 1990). La presencia de receptores para estas proteínas plasmáticas, así como la liberación de factores de la coagulación por las plaquetas como el fibrinógeno, el factor V y el calcio, proporcionan un microambiente en el lugar de la lesión que acelera la formación de fibrina alrededor de los agregados de plaquetas activadas (HOLT y NIEWIAROWSKI, 1985; SCHMAIER, 1985; WALSH, 1985; BEVERS et al., 1987). Así, la liberación del factor V en las plaquetas humanas juega un papel importante como cofactor en la formación del complejo protrombinasa (SIMS et al., 1989; MONKOVIC y TRACY, 1990). Sin embargo, no ha sido establecida la importancia de la liberación de este factor en las plaquetas bovinas, ya que poseen sólo el 2-5% del total de factor V presente en la sangre, mientras que en las plaquetas humanas es del 18-25% (TRACY et al., 1982; SCHMAIER et al., 1985).

La cantidad de fibrinógeno liberado por las plaquetas activadas es muy pequeña comparada con la de la sangre circulante y no parece tener un papel importante en la formación de fibrina (SCHMAIER et al., 1985); sin embargo, el fibrinógeno es necesario para la adhesión de la plaqueta, ya que la liberación va acompañada de la exposición de receptores específicos en la superficie plaquetaria (WEISS y ROGERS, 1971). Una función similar desempeña el factor VIII liberado de los gránulos alfa (RUGGERY y ZIMMERMAN, 1985).

Además, dos reacciones importantes en la cascada de la coagulación necesitan de la contribución de las plaquetas activadas (DAVIE et al., 1991). La primera consiste en la conversión de una proteína inactiva, el factor X, en su forma activa Xa por una proteólisis inducida por el factor IXa, en presencia del cofactor VIIIa, de fosfolípidos (membrana plaquetaria) y de cal-

cio. La segunda reacción consiste en la interacción del factor Xa con una proteína no enzimática, el factor Va, también en presencia de fosfolípidos y de calcio para formar el complejo protrombinasa que convierte la protrombina en trombina (HENKER et al., 1983; BEVERS et al., 1987; DAVIE et al., 1991).

Finalmente, las plaquetas favorecen la activación proteolítica del factor XIII por la calicreína y del factor XI (WALSH, 1985) y son necesarias para la retracción del coágulo, gracias a la acción de la trombostenina (GENTRY, 1992).

1.3. Actividad anticoagulante

Uno de los principales mecanismos por el que las plaquetas regulan la formación de fibrina es mediante la vía anticoagulante de la proteína C (PC) (ESMON, 1989). La PC es una glicoproteína que presenta una estructura similar a otras proteínas procoagulantes dependientes de la vitamina K, como el factor X (DAVIE et al., 1991). La superficie de las células endoteliales expresan una proteína, la trombomodulina, que forma un complejo con la trombina y convierte rápidamente la PC en su forma activa (ESMON y OWEN, 1981). La proteína C activada (PCa) es una potente inactivadora proteolítica de los factores VIIIa y Va, particularmente cuando se asocia con los fosfolípidos cargados negativamente de la membrana de las plaquetas activadas (COMP y ESMON, 1979; DAHLBACK y STENFHO, 1980). Esta reacción inhibitoria puede ser acelerada por el acoplamiento de un cofactor plaquetario no enzimático, la proteína S, al complejo PC-fosfolípido (KISIEL et al., 1977; WALKER, 1981; HARRIS y ESMON, 1985; SOLYMOSS et al., 1988). La reacción de inactivación del factor Va es acelerada por la presencia de plaquetas estimuladas; la inactivación del Va impide que se forme la protrombinasa y, consiguientemente, dificulta la generación de trombina. En plaquetas humanas la actividad anticoagulante se

asocia con la formación de microvesículas, de igual manera que ocurría en la actividad procoagulante (TANS et al., 1991).

Las plaquetas también juegan un papel importante en la generación y modulación de la actividad fibrinolítica ya que el plasminógeno es una de las proteínas contenidas en los gránulos alfa y liberada durante la activación de las plaquetas (HOLT y NIEWIAROWSKI, 1985). La formación de plasmina es facilitada por el acoplamiento del activador tisular del plasminógeno en la superficie de la plaqueta activada (MILES y PLOW, 1984; DEGUCHI et al., 1985; ADELMAN et al., 1988; VAUGHAN et al., 1989). Dependiendo de la concentración de plasmina, ésta puede actuar como un activador o un inhibidor de las plaquetas: altas concentraciones activan y bajas concentraciones inhiben la acción de las plaquetas (SCHAFER y ADELMAN, 1985; WINTERS et al., 1990; LU et al., 1991). La agregación plaquetaria inducida por la plasmina conduce a su degranulación y la exposición de los receptores del fibrinógeno en la superficie; estos receptores son resistentes a los efectos proteolíticos de la plasmina formada en el coágulo (LU et al., 1991). Esta degranulación inducida por la plasmina conduce a la liberación por los gránulos alfa de inhibidores de los activadores del plasminógeno, es decir, impide la fibrinólisis (PLOW y COLLEN, 1981). Así pues, el papel de las plaquetas en los procesos anticoagulantes y fibrinolíticos indican claramente que las plaquetas no quedan sólo relegadas a los procesos de coagulación (GENTRY, 1992).

2. INFLAMACIÓN

2.1. Respuesta inflamatoria

Los primeros estudios con plaquetas humanas y del conejo asignan una función en la respuesta inflamatoria a estas células, similar a la de los polimorfonucleares neutrófilos (GENTRY, 1992). A esta conclusión se llegó tras la

observación de la actividad fagocítica y bactericida detectada en estas células y su facultad de liberar sustancias que aumentan la permeabilidad vascular y la fagocitosis de las plaquetas (PACKHAM et al., 1968; NACHMAN et al., 1972). Las plaquetas se pueden activar por un alto número de agentes flogógenos como bacterias, virus y complejos antígeno-anticuerpo y las consecuencias de estas interacciones parecen ser las mismas que las inducidas por otros tipos de agonistas como el colágeno y la trombina (CLAWSON et al., 1975; ZIMMERMAN y SPIELBERG, 1975; KESSLER et al., 1987).

Un mecanismo alternativo por el que algunos organismos pueden influir en la función plaquetaria es por la inducción de la actividad procoagulante en la superficie de la plaqueta. El acoplamiento del complejo protrombinasa aparece en las plaquetas humanas después de la exposición a la toxina alfa, la mayor citolisina del *Staphylococcus aureus* (BHAKDI et al., 1988). Esta toxina facilita el desarrollo de la actividad protrombinasa pues promueve la exocitosis del factor V y del factor plaquetario 4 de los gránulos alfa y la unión del factor Va a la superficie de las plaquetas (ARVAND et al., 1990).

Algunos virus, principalmente los que producen lisis de eritrocitos, como los paramixovirus, (CHERNESKY et al., 1973) y el virus de la peste porcina clásica provocan una reacción de agregación y de liberación plaquetaria similar a la producida en la interacción con bacterias (WEISS et al., 1973).

La activación de las plaquetas y el desarrollo de una actividad procoagulante puede ser en parte responsable de la patogenia de la coagulación intravascular diseminada (CID), que aparece en mamíferos en las bacteriemias de gérmenes GRAM- (GENTRY, 1992).

Las plaquetas también pueden unirse a endotoxinas, posiblemente como un paso intermedio en la destoxicación del plasma (AUSPRUNK y DAS, 1978). Hay muchas diferencias de la intensidad de activación de las plaquetas entre las distintas especies y de la inten-

sidad de la respuesta a las endotoxinas de los diferentes microorganismos (TIMMONS et al., 1986; KESSLER et al., 1987). Cuando la plaqueta se activa por las endotoxinas, éstas interaccionan con los receptores del fibrinógeno y de la fibronectina en la superficie plaquetaria, con la consecuente liberación de ácido araquidónico y generación de TXB₂ (TIMMONS et al., 1986).

En los gránulos alfa se ha observado betalisisina, un componente termoestable bactericida del suero, que es secretado durante la coagulación sanguínea, en procesos inflamatorios, en reacciones antígeno-anticuerpo y en bacteriemias (DONALDSON y TEW, 1977). La betalisisina es bactericida frente a algunas bacterias (*Bacillus subtilis*) y daña otras (*E. coli*) y es capaz de amplificar la destrucción y lisis de GRAM- mediada por complemento y anticuerpos.

Muchos productos liberados por los gránulos alfa son quimiotácticos para monocitos, incluyéndose el FP4, que presenta una estructura similar a otras citoquinas, como los péptidos activadores de tejidos, los péptidos activadores de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y la interleuquina 8 (ZUCKER y KATZ, 1991), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el HETE y posiblemente el factor activador de las plaquetas. Las plaquetas ayudan a los monocitos a la adhesión a distintas superficies celulares en el foco inflamatorio. Los monocitos tienen receptores para la trombospondina y fibronectina, que son proteínas adhesivas liberadas por las plaquetas. La trombospondina ayuda a la adhesión del monocito a la masa de plaquetas (SILVERSTEIN y NACHMAN, 1987), mientras que mediante la fibronectina se adhiere a otras superficies, como las células endoteliales y las bacterias (BURTON y HONOR, 1991).

Además, los macrófagos y las plaquetas producen galactosiltransferasa, una enzima que digiere los componentes de la matriz extracelular, facilitando el movimiento de células y de me-

diadores en el foco inflamatorio (HOPPER et al., 1986).

Asimismo, las plaquetas interaccionan con los polimorfonucleares neutrófilos por la liberación de mediadores como el FP4, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP), el HETE y la activación del factor C5 del complemento (DEUEL et al., 1981; BEBAYWAY et al., 1986). La mayoría de estos mediadores son rápidamente inactivados en el plasma, y la producción plaquetaria tiene la ventaja de prolongar la actividad quimiotáctica por la protección que le confiere el coágulo (BURTON y HONOR, 1991).

Algunos otros productos procedentes de las plaquetas también influyen en la función del polimorfonuclear neutrófilo. La serotonina (BOOGAERTS et al., 1982) y el TXA₂ (SPAGNOULO et al., 1980) aumentan significativamente la adhesión del leucocito polimorfonuclear neutrófilo a las células endoteliales «in vitro», mientras que el FP4 potencia la capacidad de los neutrófilos humanos para degradar la elastina (LONKY y WHOOL, 1981).

Asimismo, los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos pueden utilizar metabolitos del ácido araquidónico liberados por las plaquetas para producir nuevos productos. Por ejemplo, el derivado plaquetario 12-HPETE es metabolizado a 12, 20-diHETE, una quimiotaxina moderada de los neutrófilos (MARCUS, 1990).

Aunque muchos productos derivados de las plaquetas potencian la función de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, también se ha sugerido que existen efectos antiinflamatorios de las plaquetas. Así, se observó una respuesta inflamatoria en ratas trombocitopénicas significativamente mayor que en ratas normales (SMITH y BOLAM, 1979). Además, las plaquetas pueden inhibir la lisis de glóbulos rojos por los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos «in vitro» (DALLEGRI et al., 1989); la adenosina liberada por las plaquetas y otras células inhiben la adhesión a los neutrófilos y la liberación de superóxido y peróxido de hidrógeno, el 12-

HETE, liberado por las plaquetas, actúa como un activador y un depresor de los neutrófilos; estimula la quimiotaxis de los neutrófilos y el metabolismo oxidativo pero también estimula a las células endoteliales para producir prostaciclina (un inhibidor de la adhesión de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y plaquetas) (BURTON y HONOR, 1991).

Además, los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos activados en el foco inflamatorio pueden promover la reacción de liberación de las plaquetas (CLARK y KLEBANOFF, 1979, MENCIA-HUERTA y BENEVISSTE, 1979). Se ha encontrado factor activador de las plaquetas elaborado por los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos que inducen agregación y liberación plaquetaria. Sin embargo, los polimorfonucleares neutrófilos también inhiben la reactividad de las plaquetas (MARCUS, 1990).

2.2. Fagocitosis

Se ha observado en distintos estudios que los trombocitos aviares pueden fagocitar y degradar bacterias y pequeñas partículas (CHANG y HAMILTON, 1976; AWADHIYA, 1980) y que las plaquetas humanas pueden captar bacterias y partículas de látex (CLAWSON y WHITE, 1980; WHITE, 1981; ZUCKERFRANKLIN, 1981). Asimismo, AXTHELM y KRAKOWKA (1987) detectaron antígenos del virus del moquillo canino en el SCA de plaquetas. Estas partículas son introducidas en la plaqueta mediante el SCA y no tras la emisión de pseudópodos como ocurre en los leucocitos (JAIN, 1986). El proceso no se acompaña de degranulación (BURTON y HONOR, 1991), aunque CLAWSON et al. (1975) indican que la interacción de las plaquetas y las bacterias produce una intensa reacción de liberación, comparable a la que produciría el colágeno, la trombina o la epinefrina.

Las plaquetas son incapaces de destruir las bacterias intracelulares pero las secuestran y a

su vez son fagocitadas por células del sistema mononuclear fagocítico (SMF) (CLAWSON y WHITE, 1971). Además, pueden agregarse en torno a bacterias y ser fagocitadas (CLAWSON y WHITE, 1971) aunque este fenómeno tiene desventajas ya que impide la actuación de antibióticos (CALVERT y DOW, 1990).

2.3. Plaquetas, inmunoglobulinas y complemento

Las plaquetas pueden adsorber IgG de forma inespecífica y también tienen receptores para la fracción Fc de las inmunoglobulinas (HENSON y GINSBERG, 1979). El acoplamiento de la IgG es un fuerte estímulo para la agregación plaquetaria, para la quimiotaxis de los leucocitos y para la producción de factor activador de las plaquetas (FAP) por éstos, aumentando de esta manera la respuesta inflamatoria local (VARGAFTIG et al., 1981).

Las plaquetas opsonizadas con IgG son susceptibles de ser fagocitadas por el SMF que las destruyen (trombocitopenia inmunomediada) (SHEBANI y JAIN, 1989).

En infecciones víricas, como la peste porcina africana, se ha descrito una destrucción inmunomediada de plaquetas (EDWARDS et al., 1985). La destrucción de plaquetas se produce mediante fagocitosis por células del SMF (MCMILLAN, 1977). Las células implicadas en la destrucción de plaquetas opsonizadas son los macrófagos y monocitos y también los polimorfonucleares neutrófilos según han demostrado «in vivo» SHEBANI y JAIN en 1987.

También están involucradas en la activación del factor C5 del complemento por una vía alternativa mediante la liberación de los factores D y H, presentes en los gránulos alfa. Las plaquetas tienen receptores para los factores (C5-C9) y se estimulan fuertemente por esta unión ya que aumentan los fenómenos de agregación y de liberación de TXA2 y serotonina (POLLEY y NACHMAN, 1979).

2.4. Reparación del tejido lesionado

Además de su función en la hemostasia y en la inflamación, las plaquetas pueden intervenir en procesos de reparación de tejidos por la liberación de citoquinas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP), el factor de crecimiento epidérmico (FCE) y el factor del crecimiento transformador (FCT), que influyen en diversas funciones de muchos tipos celulares (ANTONIADES y OWEN, 1982; HILL, 1989). Por ejemplo, el FCDP es liberado por los gránulos alfa después de la agregación y estimulan la proliferación de tejido conectivo, de las fibras musculares lisas y de los fibroblastos (SENIOR et al., 1983; STILES, 1983; ASSOIAN et al., 1984; DEUEL y HUANG, 1984; HELDIN y WESTERMARK, 1990). El FCE también es liberado en el proceso de degranulación (PERSONEN et al., 1989) y estimula tanto la migración y proliferación de células endoteliales «in vitro» como las mitosis y migración de fibroblastos (BUCKLEY-STURROCK et al., 1989). El FCT, a diferencia de las dos citoquinas antes mencionadas, actúa predominantemente como un inhibidor de la actividad celular. El FCT es liberado de plaquetas humanas y de otras células en cultivo en su forma inactiva, siendo activado por la plasmina (ASSOIAN et al., 1983). El FCT puede modular su propia activación al estimular la síntesis del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (SLIKVA y LOSKUTOFF, 1991). Así pues, el FCT puede ser un mediador de la fibrinólisis y ser el responsable de que algunos trombos de plaquetas sean relativamente resistentes a la fibrinólisis (JAIN, 1986).

BIBLIOGRAFÍA

- ADELMAN, B.; RIZK, A. y HANNERS E. 1988: Plasminogen interactions with platelets in plasma. *Blood*, 72:1530-1535.
- AHMAD, S.S.; RAWALA-SHEIKH, R. y WALSH, P.N. 1989: Comparative interactions of factor IX and factor XIa with human platelets. *J. Biol. Chem.*, 264:3244-3251.
- ANTONIADES, H.N. y OWEN, A.J. 1982: Growth factors and regulation of cell growth. *An. Rev. Med.*, 33:445-463.
- ARVAND, M.; BHAKDI, S.; DAHLBACK, B. y PREISSNER, K.T. 1990: *Staphylococcus aureus* alpha-toxin attack on human platelets promotes assembly of the prothrombinase complex. *J. Biol. Chem.*, 265:14377-14381.
- ASSOIAN, R.K.; GROTEENDORST, G.R.; MILLER, D.M. y SPORN, M.B. 1984: Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets. *Nature*, 309:804-806.
- ASSOIAN, R.K.; KOMORIYA, A.; MEYERS, C.A.; MILLER, D.M. y SPORN, M.B. 1983: Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification and characterization. *J. Biol. Chem.*, 258:7155-7160.
- AUSPRUNK, D.H. y DAS, J. 1978: Endotoxin-induced changes in human platelet membranes: morphologic evidence. *Blood*, 51:487.
- AWADHIYA, R.P. 1980: Demonstration of the phagocytic activity of chicken thrombocytes using colloidal carbon. *Res. Vet. Sci.*, 29:120.
- AXTHELM, M.K. y KRAKOWKA, S. 1987: Canine distemper virus-induced thrombocytopenia. *Am. J. Vet. Res.*, 48:1269-1275.
- BAK, I.J.; HASSLER, R.; MAY, B. y WESTERMAN, E. 1967: Morphological and biochemical studies on the storage of serotonin and histamine in blood platelets of the rabbit. *Life Sciences*, 6:1133-1146.
- BEBAWAY, S.T.; GORKA, J.; HYERS, T.M. y WEBSTER, R.O. 1986: In vitro effects of platelet factor 4 on normal human neutrophil functions. *J. Leukocyte Biol.*, 39:423-434.
- BEHNKE, O. 1967: Electron microscopic observations on the membrane systems of the rat blood platelet. *Anat. Rec.*, 158:121-137.
- BEHNKE, O. 1970: Microtubules in disc blood cells. *International Review of Experimental Pathology*, 9:1-92.
- BEHNKE, O. 1989: Coated pits and vesicles transfer plasma components to platelet granules. *Thrombosis and Haemostasis*, 6:718-722.
- BENTFELD, M.E. y BAINTON, D.F. 1975:

- Cytochemical localization of lysosomal enzymes in rat megakaryocytes and platelets. *J. Clin. Invest.*, 56:1635-1649.
- BENTFELD-BARKER, M.E. y BAINTON, D.F. 1982: Identification of primary lysosomes in human megakaryocytes and platelets. *Blood*, 59:472-481.
- BERMAN, C.L.; YEO, E.L.; WENCEL-DRAKE, J.D.; FURIE, B.C.; GINSBERG, M.H. y FURIE, B. 1986: A platelet alpha-granule membrane protein that is associated with the plasma membrane after activation. *J. Clin. Invest.*, 78:130-137.
- BEVERS, E.M.; ROSING, J. y ZWAAL, R.F.A. 1991: Platelet procoagulant activity: physiological significance and mechanisms of exposure. *Blood Reviews*, 5:146-154.
- BEVERS, E.M.; ROSING, J. y ZWAAL, R.F.A. 1987: Platelets and coagulation. En *Platelets and Pathology and Biology III*. Eds.: D.E. MACINTYRE y J.L. GORDON, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 127-159.
- BHAKDI, S.; MUHLY, M.; MANNHARDT, U.; HUGO, F.; KLAPETTEK, K.; MUERLLER-ECKHARDT, C. y ROKA, L. 1988: Staphylococcal alpha toxin promotes blood coagulation via attack on human platelets. *J. Exp. Med.*, 165:527-542.
- BONDY, G.S. y GENTRY, P.A. 1989: Characterization of the normal bovine platelet aggregation response. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 92C:67-72.
- BOOGAERTS, M.A.; YAMADA, O.; JACOB, H.S. y MOLDOW, C.F. 1982: Enhancement of granulocyte-endothelial cell adherence and granulocyte-induced cytotoxicity by platelet release products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79:7019-7023.
- BORN, G.V.R. y CROSS, M.J. 1963: The aggregation of blood platelets. *J. Physiol.*, 168:178.
- BUCKLEY-STURROCK, A.; WOODWARD, S.C.; SENIOR, R.M.; GRIFFIN, G.L.; KLAGSBRUN, M. y DAVIDSON, J.M. 1989: Differential stimulation of collagenase and chemotactic activity in fibroblasts derived from rat wound tissue and human skin by growth factors. *J. Cell. Physiol.*, 138:70-78.
- BURTON, S.A. y HONOR, D.J. 1991: The role of platelets in inflammation and body defense. *The Compendium Small Animal*, 13:1129-1137.
- CALVERT, C.A. y DOW, S.A. 1990: Cardiovascular infections-bacteremia and endocarditis. En *Infectious diseases of the dog and cat*. Ed.: C.E. GREENE, Philadelphia, WB Saunders Co, pp. 97-113.
- CAREY, F.; MENASHI, S. y CRAWFORD, N. 1982: Localization of cyclo-oxygenase and thromboxane synthetase in human platelet intracellular membranes. *Biochem. J.*, 204:847-851.
- CHANG, C.F. y HAMILTON, P.B. 1976: Phagocytic properties of chicken thrombocytes. *Poultry Sci.*, 55:2018.
- CHAP, H.; PERRET, B.; PLANTAVID, M.; LACHACHI, H. y DOUSTE-BLAZY, L. 1987: Topography of platelet membrane phospholipids. En *Platelets in Biology and Pathology III*. Eds.: D.E. MACINTYRE y J.L. GORDON, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 191-204.
- CHERNESKY, M.A.; LARKE, R.P.B. y TURPIE, A.G.G. 1973: Interaction between viruses and platelets: requirement of haemolytic activity for platelet aggregation induced by paramyxoviruses. *J. Gen. Virol.*, 21:203-213.
- CLARK, R.A. y KLEBANOFF, S.J. 1979: Myeloperoxidase-mediated platelet release reaction. *J. Clin. Invest.*, 63:177.
- CLAWSON, C.C. y WHITE J.G. 1971: Platelet interaction with bacteria. II. Fate of the bacteria. *Am. J. Pathol.*, 65:381-398.
- CLAWSON, C.C. y WHITE, J.G. 1980: Platelet interaction with bacteria: ultrastructure of congenital afibrinogenemic platelets. *Amer. J. Pathol.*, 98:197.
- CLAWSON, C.C.; RAO, G.H. y WHITE, J.G. 1975: Platelet interaction with bacteria. IV. Stimulation of the release reaction. *Am. J. Pathol.*, 81:411-420.
- COMP, P.C. y ESMON, C.T. 1979: Activated protein C inhibits platelet prothrombin-converting activity. *Blood*, 54:1272-1281.
- DAHLBACK, B. y STENFHO, J. 1980: Inhibitory effect of activated protein C on activation of Prothrombin by platelet bound factor Xa. *Eur. J. Biochem.*, 107:331-335.
- DALLEGRI, F.; BALLESTERO, A.; OTTONELLO, L. y PATRONE, F. 1989: Platelets as inhibitory cells in neutrophils-mediated cytolysis. *J. Lab. Clin. Med.*, 114:502-509.
- DAVIE, E.W.; FUJIKAWA, K. y KISIEL, W. 1991:

- The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*, 30:10363-10370.
- DAVIS, R.B. y WHITE J.G. 1968: Localization of 5-hydroxytryptamine in blood platelets: a radioautographic and ultrastructural study. *British Journal of Haematology*, 15:93-99.
- DEGUCHI, K.; MURASHIMA, S.; SHIRAKAWA, S.; SORIA, C.; SORIA, J.; DUNN, F. y TOBELEM, G. 1985: The potentiating effect of platelets on plasminogen activation by tissue plasminogen activator. *Thrombosis Research*, 40:853-861.
- DEUEL, T.F. y HUANG, J.S. 1984: Platelet-derived growth factor: Structure, functions, and roles in normal and transformed cells. *J. Clin. Invest.*, 74:669-676.
- DEUEL, T.F.; SENIOR, R.M.; CHANG, D.; GRIFFIN, G.L.; HEINRIKSON, R.L. y KAISER, E.T. 1981: Platelet factor 4 is chemotactic for neutrophils and monocytes. *Proc. Nat. Academy Sci. United States America*, 78:4584-4587.
- DODDS, W.J. 1978: Platelet function in animals: species specific. En *Platelets: A multidisciplinary approach*. Eds.: G. DE GAETANO y S. GARATTINI, Raven Press, New York, p. 45.
- DONALDSON, D.M. y TEW, J.G. 1977: Beta-lysin of platelet origin. *Bacteriol Rev.*, 41:501-513.
- EDWARDS, J.F.; DODDS, J. y SLAUSON, D.O. 1985: Mechanism of thrombocytopenia in African swine fever virus. *Am. J. Vet. Res.*, 46(10):2058-2063.
- ESCOLAR, G.; LEISTIKOW, E. y WHITE, J.G. 1989: The fate of the open canalicular system in surface and suspension-activated platelets. *Blood*, 74:1983-1988.
- ESMON, C.T. 1989: The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *Journal of Biological Chemistry*, 264:4743-4746.
- ESMON, C.T. y OWEN, W.G. 1981: Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 78:2249-2252.
- FOX, J.E.B. y PHILLIPS, D.R. 1983: Polymerization and organization of actin filaments within platelets. *Seminars in Hematology*, 20:243-260.
- FUKAMI, M.H. y SALGANIKOFF, L. 1977: Human platelet storage organelles. *A review. Thrombosis and Haemostasis*, 38:963-970.
- GENTRY, P.A. 1992: The mammalian blood platelet: its role in haemostasis, inflammation and tissue repair. *J. Comp. Path.*, 107:243-270.
- GENTRY, P.A. y DOWNIE, H.G. 1983: Blood Coagulation. In *Dukes Physiology of domestic Animals*. Ed.: M.J. SWENSON, Cornell University Press, Ithaca, New York, pp. 41-50.
- GERRARD, J.M.; WHITE, J.G. y PETERSON, D.A. 1978: The platelet dense tubular system: its relationship to prostaglandin synthesis and calcium flux. *Thrombosis and Haemostasis*, 40:224-231.
- GOLDSTEIN, J.L.; ANDERSON, R.G. y BROWN, M.S. 1979: Coated pits, coated vesicles, and receptors mediated endocytosis. *Nature*, 279:679-685.
- HARRIS, K.W. y ESMON, C.T. 1985: Protein S is required for bovine platelets to support activated protein C binding a activity. *J. Biol. Chem.*, 260:2007-2010.
- HASLAM, R.J. 1973: Interactions of the pharmacological receptors of blood platelets with adenylate cyclase. *Series Hematology*, 6:333-350.
- HELDIN, C.H. y WESTERMARK, B. 1990: Platelet growth factor: mechanism of action and possible in vivo function. *Cell Regulation*, 1:555-556.
- HENKER, H.C.; VAN RIJN, J.L.M.L.; ROSING, J.; VAN DIERIJEN, G.; BEVERS, E.M. y ZWAAL, R.F.A. 1983: Platelet membrane involvement in blood coagulation. *Blood Cells*, 9:303-317.
- HENSON, P.M. y GINSBERG, M.H. 1979: Immunologic reactions of platelets, En *Platelets in Biology and Pathology*, Ed.: J.L. GORDON, Elsevier Science Publishing Co, New York, vol. II, pp. 265-308.
- HOLMSEN, H. 1985: Platelet metabolism and activation. *Seminars in Hematology*, 22:219-240.
- HOLT, J.C. y NIEWIAROWSKI, S. 1985: Biochemistry of alpha granule proteins. *Seminars in Hematology*, 22:151-163.
- HOPPER, K.E.; SEMLER, A.D.; CHAPMAN, G.V. y DAVEY, R.A. 1986: Release of galactosyl-transferase from human platelets and a subset of monocytes in culture. *Blood*, 68:167-172.
- HOURANI, S.M.O. y CUSACK, N.J. 1991: Pharmacological receptors on blood platelets. *Pharmacological Reviews*, 42:243-298.

- JAIN, N.C. 1986: The platelets: Structural, biochemical, and functional aspects, En *Schalm's Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 58-178.
- KESSLER, C.M.; NUSSBAUM, E. y TUAZON, C.U. 1987: In vitro correlation of platelet aggregation with occurrence of disseminated intravascular coagulation and subacute bacterial endocarditis. *J. Lab. Clin. Med.*, 109:647-652.
- KISIEL, W.; CANFIELD, W.M.; ERICSON, L.H. y DAVIE, E.W. 1977: Anticoagulant properties of bovine plasma protein C following activation by thrombin. *Biochemistry*, 16:5824-5831.
- KROLL, M.H. y SCHAFER, A.I. 1989: Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood*, 74:1181-1195.
- LONKY, S.A. y WOHOL, H. 1981: Stimulation of human leukocyte elastase by platelet factor 4. Physiologic, morphologic, and biochemical effects on hamster lungs in vitro. *J. Clin. Invest.*, 67:817-826.
- LU, H.; SORIA, C.; LI, H.; SORIA, J.; LIJNEN, H.R.; PERROT, J.Y. y CAEN, J.P. 1991: Role of active center and lysine binding sites of plasmin in plasmin-induced platelet activation and disaggregation. *Thrombosis and Haemostasis*, 65:66-72.
- LUSCHER, E.F. 1965: Biochemistry of blood platelets and thrombus formation. *Ser. Haematol.*, 10:76-.
- MARCUS, A.J. 1990: Thrombosis and inflammation as multicellular processes: pathophysiologic significance of transcellular metabolims. *Blood*, 76:1903-1907.
- MCKELLAR, Q.A.; NOLAN, A.M. y GALBRAITH, E.A. 1990: Serum thromboxane generation by platelets in several domestic animal species. *British Vet. J.*, 164:398-404.
- MENARD, M.; MEYERS, K.M. y PRIEUR, D.J. 1990: Demonstration of secondary lysosomes in bovine megakaryocytes and platelets using acid phosphatase cytochemistry with cerium as a trapping agent. *Thrombosis and Haemostasis*, 63:127-132.
- MENCIA-HUERTA, J.M. y BENVENISTE, J. 1979: Platelet-activating factor and macrophages, I. Evidence for the release from rat and mouse peritoneal macrophages and not from mastocytes. *Eur. J. Immunol.*, 9:409.
- MEYERS, K.M. y WARDROP, K.J. 1991: Platelets and coagulation. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 36:129-133.
- MILES, L.A. y PLOW, E.F. 1984: Platelets bind plasminogen and potentiate its activation. *Haemostasis*, 14:48.
- MILLER, J.A. y RONALD, K. 1990: Ultrastructural aspects of captive hooded seal (*Cystophora cristata*) platelets. *Aquatic Mammals*, 16:129-133.
- MONCADA, S. y HIGGS E.A. 1986: Arachidonate metabolism in blood cells and the vessel wall. *Clinics in Haematology*, 15:273-292.
- MONKOVIC, D.D. y TRACY, P.B. 1990: Functional characterization of human platelet-released Factor V and its activation by Factor Xa and thrombin. *J. Biol. Chem.*, 265:17132-17140.
- NACHMAN, R.L. y WEKSLER, B. 1972: The platelet as an inflammatory cell. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 201:131-137.
- NACHMIAS, V.T. 1980: Cytoskeleton of human platelets at rest and after spreading. *J. Cel. Biol.*, 86:795-802.
- NURDEN, A.T. y CAEN, J.P. 1975: Specific roles for platelets surface glycoproteins in platelet function. *Nature*, 255:720-722.
- PACHAM, M.A.; NISHIZAWA, E.E. y MUSTARD, J.F. 1968: Response of platelets to tissue injury. *Biochem. Pharmacol.*, 17:171-184.
- PERSONEN, K.; VINIKKA, L.; MYLLYLÄ, G.; KIURU, J. y PERHEENTUA, J. 1989: Characterization of material with epidermal growth factor immunoreactivity in human serum and platelets. *J. Clin. Endocrinology Metabolism*, 68:486-491.
- PHILLIPS, D.R.; CHARO, I.F.; PARISE, L.V. y FITZGERALD, L.A. 1988: The platelet membrane glycoprotein II-IIIa complex. *Blood*, 71:831-843.
- PLOW, E.F. y COLLEN, D. 1981: The presence and release of alpha-antiplasmin from human platelets. *Blood*, 58:1069-1074.
- POLASEK, J.; RICHARDSON, M.; MOORE, MA. y BLAJCHMAN, MA. 1987: Evidence for an alternative mechanism of human platelet secretion and formation of membrane-associated multivesicular structures. *Thrombosis Research*, 45:771-782.
- POLLEY, M.J. y NACHMAN, R.L. 1979: Human complement in thrombin-mediated platelet

- function. Uptake of the C5b-9 complex. *J. Exp. Med.*, 150:633-645.
- RAWALA-SHEIKH, R.; AHMAD, S.S.; ASHBY, B. y WALSH, P.N. 1990: Kinetics of coagulation factor X activation by platelet-bound factor IXa. *Biochem.*, 29:2606-2611.
- RIBONI, L.; UBALDO, E. y NÚÑEZ-DURÁN, H. 1988: Morphometric and three-dimensional study of platelets during activation in the rat. *Acta Anat.*, 132:28-34.
- RUGGERI, Z.M. y ZIMMERMAN, T.S. 1985: Platelets and von Willebrand disease. *Seminars in hematology*, 22:203-218.
- SCHAFFER, A.I. y ADELMAN, B. 1985: Plasmin inhibition of platelet function and of arachidonic acid metabolism. *J. Clin. Invest.*, 75:456-461.
- SCHMAIER, A.H. 1985: Platelet forms of plasma proteins: plasma cofactor/substrates and inhibitors contained within platelets. *Seminars in Hematology*, 22:187-202.
- SENIOR, P.M.; GRIFFIN, G.L. y HUANG, J.L. 1983: Chemotactic activity of platelet alpha granule proteins for fibroblasts. *J. Cell. Biol.*, 96:382-385.
- SHEBANI, L. y JAIN, N. 1989: Mechanisms of platelet destruction in immune-mediated thrombocytopenia: in vitro studies with canine platelets exposed to heterologous and isologous antiplatelet antibodies. *Res. Vet. Sci.*, 47:288-293.
- SISS, W. 1989: Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiological Reviews*, 69:58-178.
- SILVERSTEIN, R.L. y NACHMAN, R.L. 1987: Thrombospondin Binds to monocytes-macrophages and mediates platelet-monocyte adhesion. *J. Clin. Invest.*, 79:867-874.
- SIMS, P.J.; WIEDMER, T.; ESMON, C.T.; WEISS, H.J. y SHATTIL, S.J. 1989: Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. *J. Biol. Chem.*, 264:17049-17057.
- SIXMA, J.J. 1986: Morphology. En *Platelet Responses and Metabolism, Responses*. Eds.: H. HOLMSEN, CRC Press, Boca Ratón, Florida, vol. I, pp. 33-61.
- SLIKVA, S.R. y LOSKUTOFF, D.J. 1991: Platelets stimulate endothelial cells to synthesize type I plasminogen activator inhibitor. Evaluation of the role of transforming growth factor beta. *Blood*, 77:1013-1019.
- SMITH, M.J.H. y BOLAM, J.P. 1979: Antiinflammatory effects of blood platelets in the rat. *J. Pathol.*, 129:65-71.
- SOLYMOSS, S.; TUCKER, M.M. y TRACY, P.B. 1988: Kinetics of inactivation of membrane-bound factor Va by activated protein C. Protein S modulates factor Xa protection. *J. Biol. Chem.*, 263:14884-14890.
- SPAGNOULO, P.J.; ELLNER, J.J. y HASSID, A. 1980: Thromboxane A2 mediates augmented polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *J. Clin. Invest.*, 66:406-414.
- STILES, C.D. 1983: The molecular biology of platelet-derived growth factor. *Cell*, 33:653-655.
- TANS, G.; ROSING, J.; THOMASSEN, L.G.D.; HEEB, M.J.; ZWAAL, R.F.A. y GRIFFIN, J.H. 1991: Comparison of anticoagulant and procoagulant activities of stimulated platelets and platelet-derived microparticles. *Blood*, 77:2641-2648.
- TEPPERMAN, J. y TEPPERMAN, H.M. 1987: *Metabolic and endocrine physiology*, Year Book Medical Publishers, Chicago, pp. 29-53.
- TIMMONS, S.; HUZOOR-AKBAR; GRABAREK, J.; KLOCZEWIAK, M. y HAWIGER, J. 1986: Mechanism of human platelet activation by endotoxic glycolipid-bearing mutant Re595 of Salmonella minnesota. *Blood*, 68:1015-1023.
- TRACY, P.B.; EIDE, L.L.; BOWIE, E.J. y MANN, K.G. 1982: Radioimmunoassay of factor V in human plasma and platelets. *Blood*, 60:59-63.
- TRIPLETT, D.A. 1978: Platelet function: laboratory evaluation and clinical application. *Amer. Soc. Clin. Pathologists*, Chicago.
- VARGATIG, B.B.; CHIGNARD, M.; LEFORT, J. y BENVENISTER, J. 1981: Platelet-tissue interaction: Role of PAF. *Agents Action*, 10:502-505.
- VAUGHAN, D.E.; MENDELSON, M.E.; DECLERK, P.J.; VAN HOUTTE, E.; COLLEN, D. y LOSCALZO, J. 1989: Characterization of the binding of human tissue-type plasminogen activator to platelets. *J. Biol. Chem.*, 264:15869-15874.
- WALKER, F.J. 1981: Regulation of activated protein C by S. The role of phospholipid in factor Va inactivation. *J. Biol. Chem.*, 256:11128-11131.
- WALSH, P.N. 1985: Platelet-mediated coagulation protein interactions in hemostasis. *Seminars in hematology*, 22:178-186.

- WEISS, E.; TERESDESAL, R.; HOFFMANN, R. y HOFFMANN-FEZER, G. 1973: Volume distribution and ultrastructure of platelets in acute hog cholera. *Thrombosis et diatesis haemorrhagica*, 30:271-280.
- WEISS, H.J. y ROGERS, L. 1971: Fibrinogen and platelets in the primary arrest of bleeding. Studies in two patients with congenital afibrinogenemia. *New Eng. J. Med.*, 285:369-374.
- WEKSLER, B.B. 1988: Platelets. En *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Ed.: J.L. GALLIN y R. Snyderman, Raven Press, New York, pp. 543-557.
- WEKSLER, B.B. y NACHMAN, R. 1971: Rabbit platelet bactericidal protein. *J. Experiment. Med.*, 134:1114-1130.
- WEKSLER, B.B. y GOLDSTEIN, I.M. 1980: Prostaglandins: interactions with platelets and polymorphonuclear leukocytes in hemostasis and inflammation. *Am. J. Med.*, 68:419-.
- WENCEL-DRAKE, J.D. 1991: Platelet secretion and receptor cycling. *Blood Cells*, 17:467-485.
- WHITE, J.G. 1984: The ultrastructure and regulatory mechanisms of blood platelets. En *Blood Platelet Function and Medicinal Chemistry*. Ed.: A. LASSLO, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 15-59.
- WHITE, J.G. 1979: Current concepts of platelet structure. *Am. J. Clin. Path.*, 71:363-378.
- WHITE, J.G. 1981: Ultrastructural lesions of stored platelets. *Vox sanguinis*, 40:62-68.
- WHITE, J.G. 1983: Ultrastructural modifications in platelets membranes and cytoskeleton following activation. *Blood Cells*, 9:237-261.
- WHITE, J.G. 1987: The secretory pathway of bovine platelets. *Blood*, 69:878-885.
- WHITE, J.G. y CLAWSON, C.C. 1980: The surface connected canalicular system of blood platelets - a fenestrated membrane system. *Am. J. Pathol.*, 101:353-359.
- WIEDMER, T.; SHATTIL, S.J.; CUNNINGHAM, M. y SIMS, P.J. 1990: Role of calcium and calpain in complement-induced vesiculation of platelet plasma membrane in the exposure of the platelet factor Va receptor. *Biochem.*, 29:623-632.
- WINTERS, K.J.; EISENBERG, P.R.; JAFFE, A.S. y SANTORO, S.A. 1990: Dependence of plasmin-mediated degradation of platelet adhesive receptors on temperature and Ca. *Blood*, 76:1546-1557.
- ZIMMERMAN, T.S. y SPIEGELBERG, H.L. 1975: Pneumococcus-induced serotonin release from human platelets. Identification of the participating plasma/serum factor as immunoglobulin. *J. Clin. Invest.*, 56:828-834.
- ZUCKER, M.B. y KATZ, I.R. 1991: Platelet factor 4: production, structure and physiologic and immunologic action. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 198:693-702.
- ZUCKER, W.H.; SHERMER, R.W. y MASON, R.G. 1974: Ultrastructural comparison of human platelets separated from blood by various means. *Am. J. Pathol.*, 77:255-267.
- ZUCKER-FRANKLIN, D. 1981: Endocytosis by human platelets: metabolic and freeze-fracture studies. *J. Cell. Biol.*, 91:706-715.
- ZUCKER-FRANKLIN, D.; BENSON, K.A. y MEYERS, K.M. 1985: Absence surface-connected canalicular system in bovine platelets. *Blood*, 65:241-244.