

Funciones no hemostáticas de las plaquetas

No hemostatic functions of platelets

Rivera J, Palma-Barqueros V, Vicente V, Lozano ML

*Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia,
IMIB-Arrixaca, CB15/00055-CIBERER, Murcia, España*

jose.rivera@carm.es



IV CURSO EDUCACIONAL
DE LA ISTH - BLOQUE 5
HEMOSTASIA Y CÁNCER

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 299-303
Septiembre 2018

Palabras claves: plaquetas,
cáncer,
inflamación,
inmunidad.

Keywords: platelet function testing,
congenital platelet disorders,
high throughput sequencing.

Objetivos educacionales

- Resaltar el carácter multifuncional de las plaquetas, propiciado por sus características estructurales, metabólicas y bioquímicas singulares.
- Extender el paradigma del papel clave de las plaquetas en la hemostasia y la trombosis a otros procesos biológicos y enfermedades.

Resumen

Décadas de investigación han establecido el paradigma del papel esencial de las plaquetas en la hemostasia y la trombosis.

En la actualidad, la literatura científica está llena también de estudios que evidencian que estas pequeñas y abundantes pseudocélulas son también ac-

tores fundamentales en otros procesos biológicos y en el desarrollo y la progresión de enfermedades no “estrictamente trombóticas”, como la defensa frente a patógenos, la inflamación o el cáncer.

Aún existen, sin embargo, lagunas importantes en el conocimiento del papel de las plaquetas en estas patologías, y son necesarios más estudios básicos y clínicos. Sus resultados podrán potencialmente ayudar a establecer si terapias antiplaquetarias pueden ser útiles en la prevención y/o tratamiento de la inmunotrombosis o del cáncer.

Plaquetas, hemostasia y trombosis

Las plaquetas son pequeños corpúsculos anucleados (2-3 μm) que circulan en la sangre a alta concen-

tración $150-450 \times 10^9/L$. Se originan a partir de los megacariocitos (MKs) por un mecanismo de fragmentación complejo denominado trombopoyesis. Estos MKs derivan a su vez de las células madre hematopoyéticas (HSCs) que residen en la médula ósea, principalmente, a través de otro complejo proceso llamado megacariopoyesis que comprende etapas sucesivas de diferenciación y maduración^(1,2). Aunque no se trate de células propiamente dichas por la falta de núcleo, las plaquetas son estructural, metabólica y funcionalmente muy complejas. Su ultraestructura comprende a) una zona periférica dotada de glicocalix, membrana lipídica y citoesqueleto membranoso, b) un sistema microtubular con un entramado canalicular abierto y un sistema tubular denso y c) un sistema de organelas que engloba gránulos alfa, densos, lisosomas, mitocondrias, gránulos de glucógenos y otras que, conjuntamente, son el reservorio de iones, proteínas, y sustancias bioactivas de distinto tipo, que las plaquetas pueden liberar y usar bajo distintas circunstancias para desempeñar sus múltiples funciones⁽³⁾. Las plaquetas cuentan incluso con toda la maquinaria necesaria para sintetizar proteínas a partir de ARNm⁽⁴⁾.

Desde su descubrimiento por Giulio Bizzozero en 1882, las plaquetas han sido relacionadas con la hemostasia, el proceso fisiológico que evita la pérdida de sangre a través de las zonas de lesión vascular. Consecuentemente, la deficiencia de plaquetas, cuantitativa o funcional, se relaciona directamente con un mayor riesgo de sangrado, y la transfusión de plaquetas a enfermos trombopénicos ha sido una herramienta básica en el desarrollo y avance de la medicina moderna. Por su pequeño tamaño, las plaquetas son desplazadas por las otras células sanguíneas hacia la periferia del flujo sanguíneo, facilitando su contacto con la pared vascular.

Gracias a su amplia batería de receptores adhesivos, las plaquetas identifican fácilmente las zonas de lesión vascular e inician la hemostasia. Su participación comienza con su adhesión a la matriz subendotelial, continúa con su extensión, activación, y agregación sobre la zona de lesión y finaliza proporcionando una superficie celular óptima que activa la coagulación y favorece la formación de un trombo estable que evita el sangrado y facilita la reparación del vaso⁽⁵⁾. La relevancia de esta función hemostática de las plaquetas se refleja muy bien en la tendencia hemorrágica asociada a las deficiencias

cuantitativas o cualitativas de las mismas, ya sean adquiridas o congénitas^(6,7).

Por otra parte, bajo ciertas condiciones patológicas, como la arterioesclerosis o la diabetes, se produce una activación plaquetaria descompensada y no fisiológica, pueden ocurrir procesos trombóticos patológicos clínicamente graves, como los síndromes coronarios agudos o el infarto cerebral⁽⁸⁾. Las enfermedades cardiovasculares son un problema de salud pública en todo el mundo y una causa principal de muerte, que se combate principalmente con terapia anticoagulante y antiplaquetaria⁽⁹⁻¹¹⁾

Otras funciones de las plaquetas

Aparte de la incontestable relevancia de las plaquetas en la hemostasia y la trombosis, en las últimas décadas se ha obtenido amplia evidencia del papel importante de las plaquetas en otros procesos fisiológicos y patológicos, como la inflamación, la inmunidad o el cáncer. Estas funciones “no hemostáticas de las plaquetas” son el objeto del resto de esta breve revisión.

Plaquetas e inflamación

Al adherirse al endotelio y espacio sub-endotelial en las zonas inflamadas o lesionadas, las plaquetas promueven el reclutamiento de células inflamatorias, como los neutrófilos o los monocitos. Las interacciones adhesivas entre plaquetas y leucocitos tiene lugar mediante la unión de proteínas expuestas en la superficie plaquetaria, como P-selectina (CD62), glicoproteínas (GP) Ib, molécula de adhesión JAM-3, fibrinógeno unido a GP IIb/IIIa, con ligandos en los leucocitos como PSGL-1 o la integrina $\beta 2$ o Mac-1^(12,13).

Aparte de reclutar células inflamatorias, las plaquetas almacenan y liberan tras su activación diferentes quimioquinas proinflamatorias y citoquinas, además de micropartículas con un probado papel en el desarrollo de muchas enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide^(13,14). Entre los distintos tipos de quimioquinas expresadas y liberadas por las plaquetas, CXCL4 (también conocida como PF4) y CXCL7, son las más abundantes y las que se identifican como marcadores del linaje megacariocítico. Adicionalmente, las plaquetas son capaces de inducir una respuesta inflamatoria aguda, produciendo IL1 β , no como molécula almacenada y liberada de los gránulos, sino sintetizándola a partir de

su ARNm presente en el citoplasma. Esta IL1 β se secreta principalmente en las micropartículas y se acumula en los trombos antes de la incorporación de leucocitos, ligando la coagulación a la inflamación endotelial local. La presencia del receptor de IL1 β , IL1R, en la superficie de los megacariocitos y plaquetas permite un efecto activador autocrino⁽¹⁵⁾.

Gracias a este papel proinflamatorio, las plaquetas están implicadas en la patogenia de enfermedades como la aterosclerosis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, vasculitis, glomerulonefritis, sepsis, neuroinflamación, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad pulmonar relacionada con transfusión y otras^(13,14,16,17). En el caso de la neuroinflamación, se ha mostrado la implicación de las plaquetas, junto a la microvasculatura particular del cerebro, células endoteliales y células de microglia, en la inflamación cerebral inducida por TNF. También que la interacción entre plaquetas, leucocitos y el endotelio cerebral puede modular la evolución de enfermedades neuroinflamatorias, como apoplejía, Alzheimer y esclerosis múltiple, cuya característica común es un plegamiento proteico anormal que puede inducir agregación plaquetaria y posterior expresión de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) y la liberación de mediadores proinflamatorios de las plaquetas⁽¹³⁾.

Plaquetas, angiogénesis y cáncer

Algunas quimioquinas liberadas por plaquetas activadas, en particular CXCL12, participan en la reparación vascular y la angiogénesis promocionando el reclutamiento desde la médula ósea de progenitores de células de músculo liso y células endoteliales. El CXCL12 liberado media la adhesión de las células progenitoras endoteliales a las plaquetas a través del receptor CXCR4, promoviendo así su diferenciación en células endoteliales maduras y la regeneración vascular^(13,14,18,19). Pero, además, las plaquetas contienen en sus gránulos otras sustancias proangiogénicas, como VEGF, BFGF, PDGF, EGF, IGF, TGF β o heparinasa, así como, en contraste, quimioquinas anti-angiogénicas como CXCL4, que inhiben la proliferación de células endoteliales⁽¹³⁾. En los α -gránulos también se almacenan varias metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-14), que generalmente están involucradas en la remodelación del tejido, pero que pueden promover una remodelación vascular anormal e inva-

sión en sitios metastásicos secundarios. La quimioquinas almacenadas en los α -gránulos plaquetarios juegan un papel principal en la angiogénesis y en la biología del cáncer regulando la migración celular dentro y fuera del micro ambiente de la neoplasia, la supervivencia celular, la proliferación y la diferenciación⁽²⁰⁾.

La interrelación entre cáncer y plaquetas-trombosis ya fue sospechada hace más de un siglo y se produce en muchos niveles. Resulta llamativo que las células tumorales mimeticen la capacidad de las plaquetas de cicatrización normal de heridas para promover la angiogénesis, el crecimiento celular y la metástasis. Estudios en distintos modelos animales de cáncer han demostrado la implicación de las plaquetas en estas patologías⁽¹⁴⁾, aunque aún no está bien establecido cómo se trasladan los resultados de esos estudios experimentales a la situación en humanos. Una evidencia indirecta ha sido el aparente efecto inhibitorio de la aspirina en la progresión del cáncer de colon, pero no está claro si este efecto está mediado por el bloqueo de la aspirina sobre la ciclooxigenasa 1 (COX-1), mayoritaria en plaquetas que media la síntesis de TxA₂, o la acción de la droga sobre el COX-2 que se expresa en muchos tipos celulares, incluyendo los tumorales.

Las células tumorales interactúan con las plaquetas a través de una variedad de ligandos y receptores. Ello incluye exposición de factor von Willebrand ligado al colágeno y las células endoteliales en la matriz vascular tras la invasión de células tumorales, que interaccionan con el complejo GP Ib/IX de las plaquetas. Esta interacción inicial se estabiliza por la posterior unión del colágeno expuesto por las células tumorales con GP VI en plaquetas, y por la interacción del receptor plaquetario Clec-2 con la podoplanina en las células tumorales. Otros ligandos adhesivos liberados en respuesta a la estimulación por células tumorales son la selectina-P, trombospondina y fibronectina, que pueden favorecer las interacciones adhesivas con el subendotelio y estimular la secreción granular.

Adicionalmente, las células tumorales inducen generación de trombina, bien directamente o vía expresión del factor tisular o acción de metaloproteinasas de la matriz. Esta trombina interacciona con los receptores PAR-1 o PAR-4 y provoca agregación plaquetaria y formación del trombo, lo que explica en parte la asociación entre el cáncer y la trombosis.

Recuentos de plaquetas elevados y un alto grado de activación plaquetaria son hallazgos comunes en pacientes con cáncer metastásico, independientemente del histiotipo (Wiesner et al, 2010). Esta mayor activación plaquetaria puede ser inducida tanto por la hipoxia presente en el microambiente neoplásico, que favorece la producción de factor tisular y la generación de trombina, como por el contacto de las plaquetas con estructuras de matriz subendotelial de los vasos tumorales patológicos en condiciones de flujo sanguíneo no laminar (Buegry et al, 2012).

En vista de su participación relevante en el desarrollo y la progresión del cáncer, una modulación selectiva de la función plaquetaria, potenciando su efecto anti-angiogénico, podría ser una opción terapéutica para frenar la progresión de esta enfermedad^(13,19). Sin embargo, la inhibición de las plaquetas con fármacos como aspirina, clopidogrel, prasugrel y otros medicamentos antiplaquetarios conlleva un mayor riesgo de complicaciones hemorrágicas, y el efecto de estas drogas en enfermedades inflamatorias deben ser más investigado antes de recomendar su uso generalizado en estas patologías.

Plaquetas e inmunidad

Estudios en la última década han dejado claro que las plaquetas juegan un papel clave en la inmunidad innata. Como son las primeras en llegar a las zonas de lesión vascular, las plaquetas son elementos ideales para iniciar una respuesta inmune adecuada frente a potenciales patógenos, secretando sustancias antibacterianas y quimioquinas que ayuden a reclutar otras células inmunes a la zona. Tanto la hemostasia/trombosis, como la respuesta inmune parecen depender en gran medida de la activación plaquetaria⁽²¹⁾.

Sabemos que patologías inmunes como el síndrome hemolítico urémico (SHU) o la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) presentan una tendencia a formar trombos en diversos tejidos, y que el sistema del complemento, parte del sistema inmune innato, tiene un papel importante en la fisiopatología de estas enfermedades, como también en la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI). Además, el complemento media la interacción entre patógenos y plaquetas durante una infección sistémica, influyendo en el curso de la infección y en el desarrollo de la inmunidad protectora⁽²²⁾.

El sistema del complemento y las plaquetas interactúan en diferentes niveles. Receptores de anafiloto-

xinas, como C3a y C5a, y factores del complemento están presentes en la superficie de las plaquetas, y las plaquetas activadas son capaces de desencadenar la cascada del complemento. En condiciones de reposo, las plaquetas están continuamente expuestas a factores del complemento y, por ello, son elementos precisos, como el factor de complemento H o la trombospondina-I, para controlar la activación, agregación o lisis plaquetaria mediada por complemento. Mutaciones o autoanticuerpos que alteran la función de estos elementos llevan a un sistema de complemento desregulado con un exceso de formación y deposición de C3b en el endotelio vascular y la adquisición de estado pro-trombótico. Esto ocurre, por ejemplo, en el SHU, caracterizado clínicamente por trombosis microvascular, trombocitopenia, anemia hemolítica y fallo multiorgánico, y también en la HPN^(13,22).

La implicación de las plaquetas en la inmunidad también está mediada por la expresión de FcγRIIA, un receptor de Fc de baja afinidad para la región constante de inmunoglobulina G (IgG) que reconoce complejos inmunes y células opsonizadas con IgG. FcγRIIA es el único receptor FcγR expresado en plaquetas humanas. Gracias a su presencia las plaquetas son capaces de eliminar complejos solubles de IgG de la circulación (incluidos inmunocomplejos dependientes de drogas). La activación plaquetaria, y subsiguiente agregación, mediada por FcγRIIa, también puede tener lugar en respuesta a patógenos opsonizados con IgG.

Hay muchas infecciones víricas (VIH, dengue, arnavirus y otros) que pueden presentar sagrado severo, incluso de compromiso vital, por inducir una severa trombocitopenia debida a la destrucción de plaquetas a través de la unión de IgG o a la agregación con leucocitos. Las plaquetas pueden unirse e internalizar agentes infecciosos, lo que está facilitado porque muchos virus reconocen receptores plaquetarios. Las interacciones plaquetas-virus pueden tener un papel ambivalente. Así, por un lado, las plaquetas pueden contribuir a la diseminación de la infección y, por otro, favorecer la defensa del huésped^(12,13,22).

Además, las plaquetas humanas contienen en su α-gránulos proteínas antibacterianas, denominadas trombocidinas, que se liberan en la activación. Se trata de variantes truncadas en el extremo C-terminal de quimioquinas como CXCL7, CXCL4 y

CCL5, con un amplio espectro de actividad antimicrobiana y muy potentes, por ejemplo, contra *E. Coli* y *Staphylococcus aureus*.

Las bacterias pueden inducir la activación plaquetaria mediante interacciones directas e indirectas con receptores específicos. Así, *Staphylococcus aureus* activa rápidamente las plaquetas a través de la interacción entre la proteína A de unión a fibronectina bacteriana y la GPIIb/IIIa en las plaquetas, así como a través de la interacción de una IgG específica con FcγRIIIa. Además, en la superficie de las plaquetas hay receptores Toll-like (TLR), de los cuales TLR4 es el más abundante, y sensores de patógenos, como receptores de inmunoglobulina o complemento, que se activan con su interacción con componentes bacterianos.

Las plaquetas activadas por patógenos son capaces de activar neutrófilos, los cuales liberan ADN en forma de trampas extracelulares o NET que, a su vez, se unen e inactivan bacterias^(12,13).

Por último, mencionar que las plaquetas también parecen tener un papel en el curso de la infección por *Plasmodium* (malaria), que podría ser dual: a) beneficioso en la fase temprana de la infección apoyando la eliminación del parásito; b) negativo en etapas posteriores al favorecer el mantenimiento de la inflamación^(12,13).

Agradecimientos

Los proyectos de nuestro grupo de investigación están financiados por las siguientes instituciones de investigación en TPC: Instituto de Salud Carlos III, CIBERER, Fundación Séneca y SETH.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

- Eto K, Kunishima S. Linkage between the mechanisms of thrombocytopenia and thrombopoiesis. *Blood*. 2016 Mar 10;127(10):1234-41.
- Geddis AE. Megakaryopoiesis. *Seminars in Hematology*. 2010 Jul;47(3):212-9.
- Gremmel T, Frelinger AL, 3rd, Michelson AD. Platelet Physiology. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2016 Apr;42(3):191-204.
- Weyrich AS, Schwertz H, Kraiss LW, Zimmerman GA. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2009 Feb;7(2):241-6.
- Rivera J, Lozano ML, Navarro-Nunez L, Vicente V. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica*. 2009 May;94(5):700-11.
- Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *British Journal of Haematology*. 2006 Dec;135(5):603-33.
- Casari C, Bergmeier W. Acquired platelet disorders. *Thrombosis Research*. 2016 May;141 Suppl 2:S73-5.
- Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *The New England Journal of Medicine*. 2007 Dec 13;357(24):2482-94.
- McFadyen JD, Schaff M, Peter K. Current and future antiplatelet therapies: emphasis on preserving haemostasis. *Nature Reviews Cardiology*. 2018 Mar;15(3):181-91.
- Tello-Montoliu A, Jover E, Rivera J, Valdes M, Angiolillo DJ, Marin F. New perspectives in antiplatelet therapy. *Current Medicinal Chemistry*. 2012;19(3):406-27.
- Rivera-Caravaca JM, Esteve-Pastor MA, Roldan V, Marin F, Lip GYH. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: impact of non-adherence and discontinuation. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2017 Sep;16(9):1051-62.
- Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circulation Research*. 2018 Jan 19;122(2):337-51.
- Mancuso ME, Santagostino E. Platelets: much more than bricks in a breached wall. *British Journal of Haematology*. 2017 Apr 17.
- Ware J, Corken A, Khetpal R. Platelet function beyond hemostasis and thrombosis. *Current Opinion in Hematology*. 2013 Sep;20(5):451-6.
- Brown GT, Narayanan P, Li W, Silverstein RL, McIntyre TM. Lipopolysaccharide stimulates platelets through an IL-1beta autocrine loop. *J Immunol*. 2013 Nov 15;191(10):5196-203.
- Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood*. 2015 Jul 30;126(5):582-8.
- Langer HF, Choi EY, Zhou H, Schleicher R, Chung KJ, Tang Z et al. Platelets contribute to the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Circulation Research*. 2012 Apr 27;110(9):1202-10.
- Stellos K, Langer H, Daub K, Schoenberger T, Gaus A, Geisler T et al. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2008 Jan 15;117(2):206-15.
- Riedl J, Pabinger I, Ay C. Platelets in cancer and thrombosis. *Haemostaseologie*. 2014;34(1):54-62.
- Balkwill FR. The chemokine system and cancer. *The Journal of Pathology*. 2012 Jan;226(2):148-57.
- Cox D, Kerrigan SW, Watson SP. Platelets and the innate immune system: mechanisms of bacterial-induced platelet activation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis : JTH*. 2011 Jun;9(6):1097-107.
- Verschoor A, Langer HF. Crosstalk between platelets and the complement system in immune protection and disease. *Thrombosis and Haemostasis*. 2013 Nov;110(5):910-9.