

CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LAS PLAQUETAS

Lic. Milagros García Mesa¹ y Lic. Cristina Coma Alfonso²

RESUMEN: La importante participación de las plaquetas en el proceso de formación del trombo arterial determina el interés que despierta el conocimiento de sus características estructurales y funcionales, ya que esto constituye la base, entre otros aspectos, para el diseño de fármacos y estrategias de tratamiento antitrombótico. En este trabajo se reúne la información existente acerca de la estructura de la plaqueta, los componentes bioquímicos y su importancia para la función celular, los mecanismos de adhesión y activación plaquetaria, así como su interacción con eritrocitos, leucocitos y con el endotelio vascular, los cuales definen la participación de las plaquetas en los procesos de hemostasia y trombosis.

Descriptores DeCS: PLAQUETAS/ultraestructura; PLAQUETAS/fisiología; ACTIVACION PLAQUETARIA; ADHESIVIDAD PLAQUETARIA.

La función de las plaquetas en los procesos de aterogénesis y trombogénesis arterial las han convertido en interés de todos los especialistas relacionados con el diagnóstico, prevención y tratamiento de las enfermedades aterotrombóticas.

Los conocimientos alcanzados acerca de las características estructurales y funcionales de las plaquetas han permitido una mejor comprensión de los mecanismos de trombogénesis y del mecanismo de acción de un fármaco antiagregante plaquetario tan antiguo como la aspirina, así como el desarrollo de nuevos fármacos antiagregantes plaquetarios tales como las tienopiridinas,

ticlopidina y clopidogrel, antagonistas del receptor de ADP en la plaqueta, y los antagonistas de la integrina glicoproteína (GP) IIb/IIIa.¹

Esta revisión bibliográfica tiene el objetivo de reunir los elementos fundamentales que caracterizan a las plaquetas desde los puntos de vista estructural y funcional para así facilitar la comprensión de los principios sobre los cuales se basa la utilización de marcadores plaquetarios en los estudios de estados pretrombóticos y el diseño de fármacos antiagregantes plaquetarios.

¹ Doctora en Ciencias Biológicas. Investigadora Titular. Lic. en Bioquímica.

² Investigadora Agregada. Licenciada en Bioquímica.

Características estructurales de las plaquetas

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados que se producen como consecuencia de la ruptura de los megakariocitos de la médula ósea, las cuales son células extraordinariamente grandes (" 20 μm de diámetro), con un núcleo altamente poliploide y un citoplasma subdividido por capas de membranas onduladas. Se forman a partir de vesículas que se desprenden en grandes cantidades de las membranas externas de los megakariocitos. Circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocitos) de aproximadamente 3 μm^2 de diámetro, 4–7 μm^3 de volumen y 10 pg de peso. Poseen carga eléctrica negativa en su superficie. Su concentración normal en la sangre es de 150 a 350 $\times 10^6/\text{mL}$ y su tiempo de vida media en sangre es de 7 a 10 días. Junto a los eritrocitos y leucocitos constituyen los elementos formes de la sangre.²⁻⁴ Poseen algunos elementos comunes a otras células y otros que las distinguen y caracterizan.

MEMBRANA EXTERNA

La tabla muestra su composición. Constituye una bicapa lipoproteica con glicoproteínas que funcionan como receptores de los agonistas fisiológicos de las plaquetas (ADP, TXA₂, trombina), proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina, laminina, trombospondina, vitronectina, factor de von Willebrand [vWF]) y para ligandos fibrosos como el colágeno, además, posee enzimas importantes para el funcionamiento celular y fosfolípidos.^{3,4} Es responsable de la interacción de la célula con el medio circundante a través de receptores entre las que figuran las integrinas las cuales se caracterizan por enlazarse a proteí-

nas que tienen la secuencia arginina-glicina-aspartato (RGD): fibrinógeno, fibronectina, vitronectina, factor de von Willebrand, colágeno. Las integrinas más estudiadas han sido GPIIb/IIIa y la GPIb/IX.⁵⁻⁸

La GPIIb/IIIa ocupa una gran proporción de la superficie plaquetaria (\approx 15 % de la proteína total de la membrana y 3 % de la célula). Hay de 3 a 8 réplicas en la plaqueta en reposo. Es un heterodímero de 228 kDa, dependiente de calcio, cuyas subunidades a y b son codificadas por genes diferentes. La mayor proporción de esta glicoproteína es extracelular y dispone de 2 segmentos transmembrana y 2 cortos segmentos citoplasmáticos formados por los extremos C terminales. En la plaqueta en reposo se halla en forma de monómero, ya que la asociación de las subunidades requieren calcio extracelular, que se enlaza a la subunidad IIb.^{3,4,9-12}

La GP Ib/IX es un heterodímero formado por la asociación de las GP Ib y IX. La GPIb consta de una cadena a y una b enlazadas por puentes disulfuro. Tiene regiones extracelulares (" 40 nm), que garantizan la interacción con los ligandos vWF y trombina), submembrana y citoplasmáticos, que actúan como anclaje del complejo a la célula. Esta glicoproteína es rica en leucina. Después de la GPIIb/IIIa es la mayoritaria en la membrana plaquetaria (1–3 $\times 10^4$ moléculas/plaqueta). Las subunidades GP1 a y b y la GPIX son codificadas por genes diferentes, localizados en cromosomas diferentes. La región extracelular posee los dominios de identificación de la trombina y el vWF. Las diferentes porciones de este complejo tienen una función: la región extracelular facilita el acceso al subendotelio y la interacción con trombina y vWF; la región intracitoplasmática une los dominios funcionales extraplaquetarios con el citoesqueleto de actina; la región transmembrana actúa como anclaje de la glicoproteína en la membrana plaquetaria.^{3,4,9-11}

CITOPLASMA

Contiene partículas de glucógeno diseminadas o aglomeradas que constituyen la fuente energética de esta célula en forma similar a las células musculares. Contiene ribosomas en muy pocas cantidades, fundamentalmente en las células jóvenes, lo que concuerda con la casi nula actividad de síntesis proteica. Soporta, además, los microtúbulos que aparecen en forma de circunferencia, ubicados de manera concéntrica y que mantienen la forma discoide de la célula y garantizan su resistencia a la deformación.^{3,4}

CITOESQUELETO

Es un gel viscoelástico que contiene filamentos de actina entrecruzados, conectados a la GPIb por proteínas enlazantes de actina. Tiene como funciones: a) la regulación de las propiedades de la membrana, tales como sus contornos y estabilidad, junto a los microtúbulos propicia el mantenimiento de la forma de la plaqueta en reposo, b) mediación de la distribución lateral de las glicoproteínas receptoras en la membrana, c) constituyen una barrera para la exocitosis. Su alteración puede llevar a la fragmentación del citoplasma formando micropartículas.^{3,4}

GEL CONTRACTIL

Está formado por largos filamentos de actina enrejados, conectados con el citoesqueleto submembranoso y miosina que se encuentra en forma no polimérica en la célula en reposo. Constituye el cuerpo de los organelos celulares, los cuales se desplazan hacia el centro de la célula a consecuencia de la contracción del gel.^{3,4}

SISTEMA CANALICULAR ABIERTO

Está formado por canales ramificados, se conecta a la membrana externa y posee características similares a ella en cuanto a su composición. A través de este sistema se transportan las GPIIb/IIIa y la GPIb hacia los gránulos a.^{3,4}

SISTEMA TUBULAR DENSO

Es un sistema de membranas que aparece en la vecindad de los microtúbulos y rodea los organelos, con apariencia, y funciones similares a las del retículo endoplásmico liso de otras células. Regula la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio, de forma similar a los túbulos del músculo esquelético¹³ y por un mecanismo más rápido que el de las mitocondrias.¹³ También posee ATPasas, enzimas del metabolismo del ácido araquidónico y adenilato ciclasa.^{3,4}

Las plaquetas poseen organelos inespecíficos, como mitocondrias, lisosomas y peroxisomas, que tienen características y funciones similares a los de otras células¹⁴ pero, además, portan organelos específicos, que son los gránulos alfa y los gránulos densos.

GRÁNULOS ALFA

Son organelos esféricos de 140 a 400 nm en diámetro, ricos en macromo-léculas (tabla) con una porción de alta densidad en electrones. Constituyen un 15 % del volumen total de las células. Sus membranas contienen GPIIb/IIIa, pequeñas cantidades de GPIb, GPIX y P selectina. Tienen una importante participación en el funcionamiento celular, al propiciar la interacción entre plaquetas, de ahí que la cantidad de gránulos a (como promedio 35-40) determina el valor funcional de la célula. También participan en la interacción con otras células a través de la liberación de su contenido.^{3,4}

TABLA. Componentes de la membrana externa y de los gránulos plaquetarios

Integrina	Ligando	Gránulos alfa	Gránulos densos
GPIIb/IIIa	fibrinógeno	Factor plaquetario 4 (PF4)	ATP
	vWF	b trombosglobulina (bTG)	ADP
	vitronectina	Factor de crecimiento (PDGF)	Calcio
	trombospondín	Fibrinógeno	Magnesio
GPIb/IX	vWF	vWF	5 HT (Serotonina)
GPIa/IIa	colágeno	Trombospondín	Epinefrina
GPIV	trombospondín	Fibronectina	Norepinefrina
GPVI	colágeno	P Selectina	Dopamina
GPIc/IIa	fibronectina	Colagenasa	
		Elastasa	
		Inhibidores de proteasas	

Receptor	Ligando
Receptor α_2 adrenérgico	Trombina
S_2	Epinefrina
$P_2 Y_1$	Serotonina
T P	ADP
Receptor	tromboxano A_2
Receptor	factor activante de plaquetas
Enzimas	Fragmento Fc de Inmunoglobulinas
Fosfolipasas C y A_2	
Adenil y Guanil ciclasas	
Fosfolípidos	

GRÁNULOS DENSOS

Se caracterizan por su alta densidad electrónica que le confieren el elevado contenido en calcio (50 % del total, en una concentración 2 mol/L) y fósforo inorgánico (tabla).^{3,4}

Características funcionales de las plaquetas

Las plaquetas se caracterizan por un consumo muy extenso de oxígeno, es 6 veces más rápido que en las células muscula-

res en reposo. La fuente de energía es la glucosa que se obtiene a partir del glucógeno y la vía fundamental es la glicolisis anaerobia, que convierte la glucosa en lactato e iones de hidrógeno, los cuales son captados por el acetato, que entra a las mitocondrias para su oxidación en el ciclo del ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs), lo que propicia la síntesis de ATP por la fosforilación oxidativa y la estabilización del pH celular. Incorporan a su interior (por un mecanismo independiente de energía) fragmentos de membrana que contienen GPIIb/IIIa y también fibrinógeno, y (por un mecanismo dependiente de energía), fragmentos de membrana que contienen GPIb, esto permite la regeneración de los receptores de membrana.⁴

Estas células concentran la mayoría de la serotonina de la sangre la cual toman unida a calcio mediante transporte activo.¹⁵ También toman del plasma ligandos como fibrinógeno, colágeno, fibronectina y aminos biógenas.⁴

ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

La participación de las plaquetas en los procesos de hemostasia y trombosis depende de la ocurrencia de 3 eventos: el enlace plaqueta -superficie o adhesión plaquetaria; el cambio de forma y el enlace plaqueta-plaqueta o agregación plaquetaria.

ADHESIÓN PLAQUETARIA

Las plaquetas son capaces de adherirse a superficies artificiales, sobre las cuales se expanden. Utilizan como ligando al fibrinógeno, a través de su unión a GPIIb/IIIa. También se adhieren al colágeno (fundamentalmente de los tipos I y III), vWF, fibronectina, laminina. En condiciones de bajo flujo sanguíneo, este evento es media-

do por la interacción vWF-GPIb, pero en condiciones de alto flujo también se requiere la participación de GPIIb/IIIa. Se forman enlaces firmes que dependen de la estructura fibrilar del colágeno y de la cantidad de subunidades RGD.

La adhesión plaquetaria al colágeno requiere de la interacción del colágeno con vWF del plasma, GPIb, GPIaIIa de la membrana plaquetaria que durante la formación del coágulo establecen enlaces plaqueta-fibrina. Se produce la internalización de las mallas de fibrina o de colágeno, que son rodeados de microfilamentos.^{16,20}

CAMBIO DE FORMA

La primera manifestación física de la activación plaquetaria es el cambio de forma de discocito a esferocito, que se acompaña de un incremento en la superficie desde 8,02 mm² (en la plaqueta en reposo) a 13,0 mm² (en la plaqueta activada). Disminuye la longitud del subesqueleto submembrana cuya evaginación aporta membranas para este proceso. Se produce la redistribución de los microtúbulos, lo que le confiere la característica de deformabilidad celular y la posibilidad de emitir pseudópodos. Los microtúbulos que están en estrecho contacto con el gel contractil, se trasladan hacia el centro de la célula. Se procede a la desintegración del citoesqueleto y se restituye a partir de la internalización de fragmentos de la membrana externa. Es un proceso independiente de calcio (cuando el estímulo es el ADP) y dependiente de energía.⁴

AGREGACIÓN PLAQUETARIA

Estímulos fisiológicos para la activación plaquetaria son la trombina, el

colágeno, el ADP, la epinefrina, el tromboxano A2 (TXA2). Los eventos posteriores tienen elementos comunes y otros que lo diferencian. Por ejemplo, ocurren como resultado de la estimulación de receptores específicos (tabla).^{19,21-26} En el caso de la trombina, el ADP y el TXA2, se trata de receptores acoplados a proteínas enlazantes de nucleótidos de guanina (proteínas G). El de trombina es una glicoproteína con 7 dominios transmembrana, de la cual hay de 1 500 a 2 000 copias que se desensibilizan rápidamente al producirse la activación las cuales no son recuperables.²⁵ El receptor del ADP es purinérgico, él se caracteriza por responder con activación frente al ADP y con inhibición frente al ATP. Su estructura no ha sido identificada y por mucho tiempo se ha denominado farmacológicamente como receptor P2T. Sin embargo, algunas evidencias experimentales recientes, sugieren que se trata de 3 receptores, uno P2Y₁, igual al que media la vasodilatación y que es causante del aumento del calcio citoplasmático, el cambio de forma y la agregación plaquetaria, otro P2_{Y1 cyc}, que media la inhibición de la adenilciclase y uno P2X₁ (no acoplado a proteína G) con una menor significación.²²⁻²⁴

Se plantea que al menos una glicoproteína, la GPVI, actúa como receptor para la fase de activación inducida por el colágeno y que su estimulación es una señal para una fosfolipasa C.¹⁹

Un evento que sigue a la activación es el incremento de la concentración de calcio citoplasmático, cuyo mecanismo bioquímico no ha sido determinado totalmente en la mayoría de los casos. Con respecto a la trombina, el colágeno y el TXA2, se ha demostrado la ocurrencia de activación de la fosfolipasa C, que da lugar a la formación de 1,4,5 trifosfato de inositol (que libera calcio del sistema tubular denso y activa una miosina kinasa) y 1,2 diacilglicerol (que

activa la proteína kinasa C, que desencadena una serie de fosforilaciones de proteínas que parecen importantes para el proceso de agregación plaquetaria).^{19,25,27} En el caso del TXA2 se cree que también hay entrada a la célula del calcio extracelular a través de una intensificación del intercambio Na⁺/H⁺ de lo cual depende más de la mitad del incremento del calcio citoplasmático.²⁶

La trombina, el ADP y la epinefrina inducen inhibición de la actividad adenilciclase en la plaqueta, cuya implicación en el resultado final no está bien determinado.^{22,25,28}

Se desconocen los mecanismos bioquímicos que llevan a la activación de la GPIIb/IIIa y el enlace del fibrinógeno, pero hay evidencias de que este último es independiente del calcio.²⁹

La activación plaquetaria por agentes como trombina, colágeno, ADP y epinefrina, puede conducir a la activación de la fosfolipasa A2 citoplasmática, que requiere concentraciones fisiológicas de calcio para activarse, la cual cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos de membrana y da lugar al ácido araquidónico que se metaboliza preferencialmente por la vía de la TXA2 sintetasa para dar lugar al TXA2, producto inestable (sólo 5 s dura su actividad) cuyos precursores, los endoperóxidos cíclicos, son también capaces de activar el receptor. De esta manera el TXA2 constituye un amplificador de la señal de activación plaquetaria.²⁶

Después de un estímulo fuerte los gránulos alfa y densos se alargan y emiten pseudópodos, se aproximan a la membrana plasmática (lo que es posible debido a la disolución del sistema canalicular abierto), se funden con la membrana, aumentan de volumen debido a la entrada de agua y esto propicia la liberación de su contenido al medio exterior, lo que se denomina secreción.⁴

Un elemento que distingue a los agentes inductores de agregación plaquetaria es el peso relativo que tienen la síntesis de TXA₂ y la secreción en el resultado final. Por ejemplo, la agregación inducida por trombina, es resultado fundamentalmente de la señal dada por la activación de su receptor, ya que no es afectada por la inhibición de la síntesis del TXA₂ por aspirina.²³ El ADP produce una primera fase de agregación reversible, de aproximadamente 30 s de duración y que es consecuencia de la señal de activación del receptor, a lo que sigue una segunda fase irreversible y que depende de la síntesis de TXA₂.^{21,22,24} El TXA₂ parece requerir de la liberación de ADP.²⁹

La conocida susceptibilidad a la aspirina de la agregación inducida por colágeno, sugiere la importancia de la liberación de TXA₂ en su mecanismo de activación plaquetaria. La epinefrina se considera un agonista débil que amplifica el efecto de otros estímulos a través del incremento de la concentración de calcio intracelular,²⁸ y de la actividad adenilato ciclasa.³⁰

Regulación fisiológica de la adhesión/agregación plaquetaria

Las plaquetas circulantes se encuentran en una interacción dinámica con los componentes del plasma, los demás elementos formes de la sangre y con el endotelio vascular a través de las glicoproteínas de las membranas plaquetarias y de diferentes mediadores químicos.²⁰ Los eritrocitos, que viajan por la parte central de la corriente sanguínea, desplazan a las plaquetas hacia las cercanías de la pared del vaso, lo que puede dar lugar a enlaces reversibles. La adhesión plaquetaria sólo será efectiva

cuando se produzcan enlaces irreversibles.^{16,20} La célula endotelial libera mediadores químicos que impiden que ocurra la adhesión plaquetaria a un endotelio sano. Estos mediadores son la prostaciclina (PGI₂), principal metabolito del ácido araquidónico en la célula endotelial, y el óxido nítrico (NO), producto del metabolismo de los aminoácidos.³² La PGI₂ estimula la adenilciclasa en la plaqueta y aumenta los niveles intracelulares de AMPc, mientras el NO estimula la síntesis de GMPc, que es el más potente inhibidor de la hidrólisis del AMPc. Ambos inhiben la adhesión plaquetaria y además, estimulan la reducción del calcio libre intracelular así modulan la agregación plaquetaria.^{16,26,31,33}

Entre los mecanismos que favorecen la adhesión/agregación están la liberación de ADP de los eritrocitos, que se lisan;³⁴ la liberación del factor activante de plaquetas (potente estimulante de la agregación plaquetaria cuya función fisiológica en el humano no se ha determinado) y TXA₂ de los leucocitos activados,³⁵ la exposición de P selectina en las membranas de células endoteliales y plaquetas, que media la interacción intercelular a través del reconocimiento de estructuras hidrocarbonadas ricas en ácido siálico y fucosa.³⁵ Otro elemento influyente es el “shear stress” del flujo sanguíneo, que induce agregación plaquetaria a través del enlace del vWF con la GPIb y con una fuerte participación del ADP liberado.³⁷

El estímulo para la participación de las plaquetas en los procesos de hemostasis y trombosis es la lesión del endotelio vascular, considerado como tal el daño físico con exposición de la membrana basal rica en colágeno o la disfunción endotelial con desbalance de la producción de mediadores anti y proagregantes.²⁸

Cuando las plaquetas se adhieren al endotelio atraen más plaquetas P selectina positivas. Se reclutan y activan a los leucocitos, los cuales se unen irreversiblemente a la superficie plaquetaria por medio de la molécula de adhesión ICAM-2. La activación del receptor para el fibrinógeno soluble y la participación de los fosfolípidos de la membrana plaquetaria como cofactores para la cascada de reacciones enzimáticas de la coagulación favorece la formación del trombo arterial.³⁶

Por otra parte algunos componentes de los gránulos plaquetarios, que se liberan durante la activación, influyen sobre otras células, uno de ellos es el factor de crecimiento derivado de la plaqueta (PDGF), que estimula la proliferación celular y juega un papel importante en la cicatrización de heridas³⁸ y al parecer también en el proceso de aterogénesis:³⁹ el TXA2 y la 5HT, que son potentes vasoconstrictores³⁹⁻⁴¹ y el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), que tiene acción antifibrinolítica.⁴²

Consideraciones finales

A partir del análisis global de la composición de las plaquetas y los elementos que rigen su funcionamiento queda claro que se trata de una célula compleja y sujeta a la influencia de una gran diversidad de factores. Es evidente la importancia de inhibir la activación plaquetaria para prevenir la trombosis arterial, así como el significado práctico que pudieran tener los estudios de función plaquetaria para el diagnóstico de estados pretrombóticos, lo cual es reforzado por el incremento de la reactividad plaquetaria que ocurre en las horas del día en que son más frecuentes el infarto del miocardio y la muerte súbita cardiaca.⁴³

Saltan a la vista la GPIIb/IIIa, el ADP y el TXA2 como principales blancos para la modulación de la reactividad plaquetaria, conocimiento que ha tenido una gran trascendencia para el desarrollo de fármacos antitrombóticos.

Summary: The important participation of blood platelets in the process of formation of the arterial thrombus determines the interest the knowledge of their structural and functional characteristics arises, since it is the basis, among other aspects, for the design of drugs and antithrombotic treatment strategies. All the information existing about the platelet structure, the biochemical components and their significance for the cellular function, the mechanisms of platelets adhesiveness and activation, as well as their interaction with erythrocytes, leukocytes and with the vascular endothelium, which define the participation of platelets in the processes of haemostasis and thrombosis, is gathered in this paper.

Subject headings: BLOOD PLATELETS/ultrastructure; BLOOD PLATELETS/physiology; PLATELETS ACTIVATION; PLATELETS ADHESIVENESS.

Referencias bibliográficas

- 1 Tisdale JE. antiplatelet therapy in coronary artery disease: Review and update of efficacy studies. Am J Health Syst Pharm 1998;55(Supl 1):S8-16.
- 2 Bick RL, Murano G. Physiology of haemostasis. In Bick RL (De). Hematology. Clinical and laboratory practice. Mosby, StLouis 1995;1285-1308.
- 3 Klinger MHF. The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. Ann Hematol 1996;76:103-12.
- 4 Morgorster E. Human platelet morphology/ultrastructure. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). Handbook of experimental

- pharmacology, vol 126. Platelets and their factors. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1997:28-60.
5. Grgalnick HR. Inhibition of von Willebrand factor binding to activated platelets by the tetrapeptide Arg-Gly-Asp-Ser and the dodecapeptide of fibrinogen grammachain. *Clin Res* 1986;34:458-62.
 6. Hynes RD. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987;48:549-54.
 7. Ruoshaht E, Pierschbacher M. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrans. *Science* 1987;238:491-7.
 8. Phillips DR. The platelet membrane glycoprotein IIB-IIIa complex. *Blood* 1988;71:831-47.
 9. Jennings LK, Phillips OR. Purification of glycoproteins Iib and III from human platelet membrane and characterization of calcium-dependent glycoprotein IIB-IIIa complex. *J Biol Chem* 1982;257:10458-66.
 10. Zucker MP. Inhibition o von Willebrand factor-induced platelet agglutination by ADP does not result from reduced binding of total von Willebrand factor or its longer multimers. *J Lab Clin Med* 1990;116:305-16.
 11. González J. Distribución celular y subcelular, estructura y dinámica molecular y función del receptor de fibrinógeno en plaquetas humanas. La integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ o glicoproteína IIB/IIIa. *Rev Iberoamer Thromb Hemost* 1993;6:31-2.
 12. Du X, Ginsberg MH. Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ and platelet function. *Thromb Haemost* 1997; 78:96-100.
 13. Jv W, Haynes DH. Intracellular calcium storage and release in the human platelet Chlortetracycline as a continous monitor. *Cir Res* 1984;55:595-608.
 14. Watson JD. Molecular biology of the cell. Garland Publishing, Inc, 1983. Seuter F, Scriabine A. Platelets and platelet aggregation inhibitors. In Antomaccio M (De). Cardiovascular pharmacology, second edition. Raven Press, New York 1984:475-518.
 15. Adams GA. Platelet adhesion. Past and present. In Largrester G (De) The platelets physiology and pharmacology. Academic Press Inc, 1985:15-37.
 16. Morton LF, Fitzsimmons CM, Rauterberg J, Barnes MJ. Platelet-reactive sites in collagen *Biochem J* 1987;248:413-7.
 17. Sixma JJ. Platelet adhesion in health and disease. In verstraete M, Vermylen Y, Lynen HR, Armont I (Eds). Thrombosis and haemostasis. International Society on thrombosis and haemostasis and Leuven University, Paris, Leuven, 1987:127-47.
 18. Sixma JJ, van Zante GH, Huizinga EG, van der Plas RM, Verkley M, Wu YP, et al. Platelet adhesion to collagen: an update. *Thrombo Haemost* 1997;78:434-8.
 19. van Zanten GH, de Girot PG, Sixma JJ. Platelet adhesion. In von Brunchausen F, Walter U (Eds). Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors. Springer verlag Berlin Heidelberg 1997:61-81.
 20. Mihta J, Mihta P, Krap Y, Lausen D. The primary wave of epinephrine induced platelet aggregation represents alpha 2-adrenoceptor status. *Thromb Res* 1988;49:531-7.
 21. Gachet C, Cazenave JP. Plate4let AD/purinic receptors. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors. Springer verlag Berlin Heidelber 1997:1176-34.
 22. Gachet CL, Hechler B, Leon C, Vial C, Leray C, Ohlman P, et al. ADP receptor and platelet function. *Thromb Haemost* 1997;78:271-5.
 23. Cazenave JP, Gachet CL. The P_2Y_1 receptor is necessary for adenosine 5-diphosphate-induced platelet aggregation. *Blood* 1998;92:152-9.
 24. Brass LF, Molino M. Proteasactivated G protein-coupled receptors on human platelets and endothelial cells. *Thromb Haemost* 1997;78:234-41.
 25. Thromboxane A2 and other eicosanoids. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors. Springer Verlag Berlin Heidelberg 1997: 459-82.
 26. Thromboxane A2 and other eicosanoids. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors. Springer Verlag Berlin Heidelberg 1997:459-82.
 27. Rosembium W. Platelet adhesion and aggregation without endothelial denudation or exposure of basal lamina and/or collagen. *J Vasc Res* 1997;34:409-17.
 28. Puiccinelli FM, Daniel JL. Fibrinogen binding is independent of an increase in intracellular calcium concentration in thrombin degranulated platelets. *Thromb Haemost* 1995;73:304-8.
 29. Ware JA, Smith M, Salzman EW. Synergism of platelet-aggregating agents. Role of elevation of cytoplasmic calcium. *J Clin Invest* 1987;80:267-73.
 30. Radonski M, Palmer R, Moncada S. The antiaggregating properties of vascular endothelium. Interaction between

- prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;92:639-46.
31. Moncada S, Palmer RMY, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
 32. Butt E, Walter U. Platelet phosphodiesterases. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). *Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors*. Springer Verlag Berlin Heidelberg 1997:219-30.
 33. Valles A, Santos MT, Aznar J, Marcus AJ, Martínez-Salas V, et al. Erythrocytes metabolically enhance collagen-induced platelet responsiveness via increased thromboxane production, adenosine diphosphate release and recruitment. *Blood* 1991;78:154-62.
 34. Hernández R, Alemany M, Bozzo J, Buchanan MR, Ordmas A, Bastida E. Platelet adhesivity to subendothelium is influenced by polymorphonuclear leukocytes: Studies with aspirin and salicylate. *Haemostasis* 1993;23:1-7.
 35. Tschöepe D, Schweppert B. Platelet flow cytometry. Adhesive proteins. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). *Handbook of experimental pharmacology vol 126. Platelets and their factors* Springer Verlag Berlin Heidelberg 1997:619-29.
 36. Chow TW, Hellums JD, Moake JL, Kröll MH. Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation. *Blood* 1992;80:113-20.
 37. Clackson-Welsh L. Platelet-derived growth factor receptor signals. *J Biol Chem* 1994;269:32023-6.
 38. Kaul ES, Waack BJ, Padgett RC, Brooks RM, Hestad DP. Altered vascular response to platelets from hypercholesterolemic humans. *Cir Res* 1993;72:237-43.
 39. Douglas WW. Histamina y 5 hidroxitriptamina (serotonina) y sus antagonistas. En Goodman Gilman A, Goodman LS, Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica ER* 1987:604-39.
 40. Moncada S, Flower RJ, Vane JR. Prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano A2. En Goodman Gilman A, Goodman LS, Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica ER* 1987:660-73.
 41. Kruithof EKO, Trans-Thang C, Bachmann F. Studies on the release of plasminogen activator inhibitor in human platelets. *Throm Haemost* 1986;55:201-5.
 42. Tofler GH, Brezinski D, Schafer AY, Czeisler Ch A, Rutherford JD, Willich SN, et al. Concurrent morning increase in platelet aggregability and the risk of myocardial infarction and sudden cardiac death. *N Eng J Med* 1987;316:1514-8.

Recibido: 24 de mayo del 2000. Aprobado: 5 de junio del 2000.

Dra. *Milagros García Mesa*. Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular. Calzada del Cerro No. 1551. Ciudad de La Habana, Cuba.