

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Conceptos actuales sobre los mecanismos de la función plaquetaria

Por la Lic.:

ILEANA GONZALEZ CABRERA*

González Cabrera, I. *Conceptos actuales sobre los mecanismos de la función plaquetaria.*

Se hace una revisión de los últimos conceptos incorporados al conocimiento de la fisiología plaquetaria. Se señala que existe una distribución asimétrica de los fosfolípidos (FL) de la membrana plaquetaria. Solo los fosfolípidos de la cara interna de la membrana tienen actividad procoagulante, fundamentalmente la fosfatidil-serina. Cuando las plaquetas se activan se produce un movimiento transmembrana o *flip-flop*, que permite la formación de áreas de mayor contenido de fosfatidil-serina en la superficie celular. Las plaquetas tienen sitios de baja afinidad para el factor VIII: von Willebrand (f VIII:vW). El endotelio enlaza al factor VIII:vW e induce un cambio conformacional en su molécula, que entonces es reconocida por la plaqueta. Se comenta la existencia de tres vías independientes que pueden mediar la agregación plaquetaria: ADP, ácido araquidónico y factor agregante plaquetario. Estas vías pueden ser inhibidas por diferentes agentes sin afectar las restantes, por lo que todas deben ser consideradas en la búsqueda de drogas antiagregantes. Por la acción de la fosfolipasa C y de la digliceridoquinasa se forma el ácido fosfatídico; este es un activador potencial de la agregación, ya que puede movilizar iones calcio de la membrana.

El estudio de los mecanismos que intervienen en la activación y función de las plaquetas se ha convertido en un apasionante campo de investigación que absorbe el interés de numerosos científicos en todo el mundo.

El conocimiento exhaustivo de la fisiología plaquetaria es de gran utilidad, ya que estas pequeñas células están involucradas en diferentes procesos patológicos.

Cuando las plaquetas son activadas se suceden una serie de eventos: la adhesión a los vasos lesionados, la agregación primaria y secundaria, la contracción y la liberación del contenido de los gránulos intraplaquetarios ADP, serotonina, tromboxan (TxA₂), etc. Las sustancias liberadas refuerzan la agregación plaquetaria que conjuntamente con

* Licenciada en bioquímica. Departamento de hemostasia. Instituto de Hematología e -Inmunología.

la deposición de fibrina forman un trombo estable que es capaz de detener el sangramiento.

En 1980, *Almagro* publicó una revisión muy completa sobre la fisiología plaquetaria.¹ Es pues, nuestro objetivo, la revisión de los últimos conceptos incorporados desde entonces al conocimiento sobre los mecanismos de la función plaquetaria.

Para la mejor comprensión de estos mecanismos, hemos dividido nuestra revisión en varios acápites:

- a) *Membrana plaquetaria. Contribución de las plaquetas al mecanismo de la coagulación.*
- b) *Adhesión plaquetaria. Interrelación plaquetas F-VIII von Willebrand.*
- c) *Agregación plaquetaria. Análisis de las tres vías.*
- d) *Ciclo del fosfatidil inositol. Papel del ácido fosfatídico.*

A continuación se analizarán los acápites mencionados anteriormente:

- a) *Membrana plaquetaria. Contribución de las plaquetas al mecanismo de la coagulación:* las plaquetas son células intensamente reactivas que responden a gran variedad de estímulos que son mediados por la superficie celular, de manera que resulta de extraordinaria importancia el estudio de la membrana plaquetaria.

La membrana plaquetaria está formada por una doble capa lipídica dotada de cierta fluidez, pero con una orientación relativa: los grupos polares de los fosfolípidos están orientados hacia el ambiente acuoso intra y extracelularmente, mientras que las cadenas alifáticas se introducen en el interior de la bicapa de carácter eminentemente hidrofóbico. Las proteínas y glicoproteínas se hallan insertadas en la bicapa que puede modular la actividad de las mismas. Las áreas polares de las proteínas interactúan con las cabezas fosfolípicas de la bicapa y las partes apolares interactúan con las cadenas hidrofóbicas lipídicas. Todas estas moléculas están dotadas de libertad de movimiento, es decir, pueden intercambiar con sus vecinos, pero resulta muy difícil una translocación a través de la membrana (*flip-flop*), a menos que ésta pierda su integridad.²

Se ha demostrado que existe una distribución asimétrica de los fosfolípidos (FL) en la membrana plaquetaria similar a la de los hematíes. La fosfatidil serina (FS) se encuentra casi exclusivamente localizada en la capa interna, mientras que la monocapa externa está formada por fosfolípidos neutros como la esfingomielina. La fosfatidil etanolamina y la fosfatidil colina se encuentran indistintamente en las dos capas de la membrana.

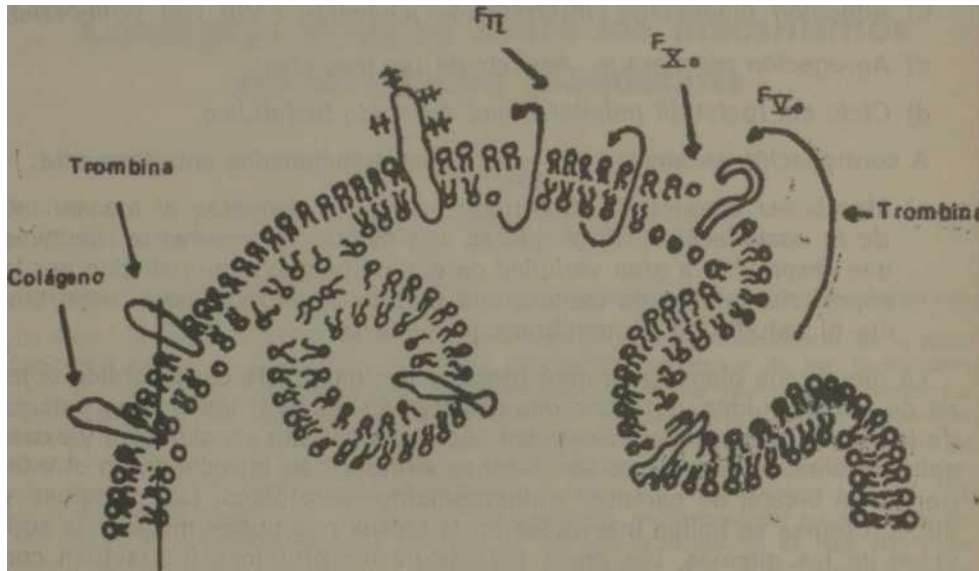
Los primeros informes de la participación de los fosfolípidos en la coagulación, se presentan en la formación del complejo VIII-IXa-FLs para activar el factor X y en la formación del complejo V-Xa-FLs para la activación de la protrombina.

*Zwaal y colaboradores*³ demostraron que sólo los fosfolípidos de la membrana interna tienen actividad procoagulante y plantean la posibilidad de un

mecanismo de translocación de la FS a través de la membrana para proveer una superficie lipídica catalítica para la interacción de los factores de la coagulación.

Se ha postulado un mecanismo de activación plaquetaria por colágeno y trombina, que produce un movimiento transmembrana de los FLs. Se forman áreas de mayor contenido de FS en la superficie celular, que constituyen sitios de enlace potenciales para las enzimas, coenzimas y substratos que intervienen en el mecanismo de la coagulación y que posibilitan la formación del factor Xa y de la trombina.⁴

Por otra parte, el factor V es liberado de la plaqueta e interactúa directamente con los FLs de la membrana activada como se plantea en la figura.



Figura

Participación de las plaquetas en la formación de trombina. Fuente: Tomado de Zwaal, 1982.

En cuanto a las glicoproteínas de la membrana (GP), se han introducido nuevos métodos de aislamiento y sistemas electroforéticos más sensibles y han descrito más de siete glicoproteínas, además de las tres glicoproteínas fundamentales descritas por Phillips en 1972. Se demostró por algunos investigadores la deficiencia de la GP-I en la enfermedad de Bernard Soulier y de las glicoproteínas IIb y III en la tromboastenia de Glanzmann. También en un grupo de enfermedades mieloproliferativas se encontró un patrón anormal de las GPs, disminución de la GP(Ib-Is) y GPU y un incremento de la GP IIIb.

Varios intentos para relacionar las glicoproteínas con proteínas conocidas o con sitios receptores de la adhesión y la agregación plaquetaria han resultado estériles. Se descartó la posibilidad de que la GP III fuera idéntica a la alfaactinina.⁵

Mediante la purificación y caracterización parcial de la GPIb se demostró que no interviene en la agregación plaquetaria dependiente de ristocetina,⁶ ni representa el principal receptor de la trombina sobre la superficie plaquetaria.⁷ Recientemente se le ha atribuido a las GPs un papel regulador de la función plaquetaria,^{6,7} pero esta hipótesis no ha sido demostrada.

b) *Adhesión plaquetaria. Interacción plaquetas F-VIII von Willebrand:*

Se han propuesto varias teorías para la explicación del mecanismo de adhesión de las plaquetas al colágeno.

Recientemente se ha logrado identificar el sitio de enlace de las plaquetas sobre el colágeno de los tipos III y I y se ha descrito la secuencia aminoacídica de un nonapéptido, que es capaz de inhibir la adhesión y la agregación plaquetaria. Se ha utilizado un método de separación de diferentes tipos de colágeno a partir de fragmentos de fibronectina, ya que esta proteína tiene sitios de enlace específicos para el colágeno.

El factor VIII con Willebrand (F-VIII:vW) también es necesario para la adhesividad de las plaquetas.⁸

Se ha planteado una teoría que explica la relación endotelio factor vW-plaquetas en la cual el factor vW actúa como un puente entre la superficie del subendotelio y la membrana plaquetaria. Este postulado implica la existencia de sitios de afinidad en las plaquetas y en el subendotelio, o que una de estas dos superficies tenga sitios de afinidad por el factor vW, que logren alterar la configuración de éste, de forma que pueda ser reconocido por la otra superficie.

En estudios con plaquetas humanas se han encontrado sitios de baja afinidad por el FvW, en cambio, la cantidad de FvW enlazado al endotelio se relaciona con la proporción de adhesión plaquetaria, por lo que es lógico pensar que el FvW se enlaza inicialmente al subendotelio y esta interacción produce cambios conformacionales en este factor que es entonces reconocido por los sitios de enlace plaquetario.

La adición de ristocetina a plaquetas agitadas en presencia de FvW causa la aglutinación plaquetaria, por lo que la ristocetina puede alterar la conformación del FvW de forma similar a la que produce el endotelio. En pacientes con la enfermedad de Bernard Soulier está disminuida la adhesividad plaquetaria y sus plaquetas no agregan con ristocetina. Esto es una evidencia de la relación de estos dos procesos en un mismo receptor y se descarta la posibilidad de que este receptor sea la GPIb como se había planteado.⁹

Otro elemento que sirve de evidencia para la hipótesis planteada para el mecanismo de la adhesión, es la demostración de que el FvW purificado es capaz de aumentar significativamente la interacción de las plaquetas con las células endoteliales en cultivo.¹⁰

*Connellan y colaboradores*¹¹ obtuvieron un suero antimembrana plaquetaria y reconocieron tres proteínas de superficie que no se han podido relacionar con las glicoproteínas conocidas. Este antisuero inhibió la aglutinación inducida por ristocetina, por lo que es posible que estas proteínas estén involucradas en el sitio receptor plaquetario.

Recientemente se ha estudiado la acción de la prostaciclina sobre la adhesión de las plaquetas a perlas de vidrio: la prostaciclina inhibe la retención plaquetaria, pero esta inhibición no es proporcional a la concentración de prostaciclina, de manera que parece existir otro mecanismo de la adhesión plaquetaria independiente de la PGI₂. *Mantn* estudió el efecto del ASA sobre la adhesividad plaquetaria al colágeno *in vitro* o *ex vivo* y demostró que éste no es capaz de producir un efecto inhibitorio de este fenómeno.

- c) *Agregación plaquetaria. Análisis de las tres vías:* La agregación plaquetaria es un fenómeno muy complejo que puede ser estimulado por sustancias de características bien diferentes. Todos los agentes inductores de la agregación producen inhibición de la adenil ciclasa y movilización de los iones de Ca del sistema tubular denso del citoplasma.¹³ Actualmente se ha planteado la existencia de tres vías diferentes de la agregación plaquetaria.

— Vía del ADP

Las plaquetas pueden ser estimuladas por el ADP producto de la lisis eritrocitaria, sufren el cambio de forma y los gránulos se concentran en la región central de la plaqueta para su posterior liberación.

La agregación por ADP resulta inhibida por la 5'-flurosulfonyl benzoil adenosina y por el sistema extractor de ADP creatinina fosfato/creatinina fosfato quinasa.¹⁴

Se plantea que el efecto fundamental del ADP es el de actuar como mediador de la agregación producida por otros agentes, tales como el colágeno y la trombina que producen la liberación de ADP para la estabilización del agregado plaquetario.

El ASA y la indometacina inhiben la segunda onda de la agregación bifásica inducida por el ADP y la reacción de liberación.

*Charo y colaboradores*¹⁵ demostraron que cuando las plaquetas eran estimuladas por altas concentraciones de ADP, la reacción de liberación comenzaba después que había terminado la agregación plaquetaria. Cuando usaron bajas concentraciones de ADP o epinefrina, se observó la agregación bifásica y que la reacción de liberación ocurría simultáneamente a la segunda onda de la agregación. Se plantea que es muy poco probable que la onda de la agregación sea una consecuencia de la reacción de liberación o como se había descrito. Sin embargo, no cabe dudas de que la estimulación por ADP es un mecanismo independiente para la inducción de la agregación plaquetaria, puesto que plaquetas tratadas con trombina que han perdido el contenido de sus gránulos, recobradas en condiciones apropiadas son capaces de ser estimuladas por el ácido araquidónico y el ADP.¹³

Recientemente se han realizado estudios sobre el uso de inhibidores de la AMP cíclico fosfodiesterasa sobre el cambio de forma inducido por el ADP. Estos investigadores demostraron que algunos inhibidores de esta enzima, a concentraciones que bloquean el cambio de forma plaquetaria inducida por ADP, no producen un incremento marcado del AMP cíclico plaquetario. Se plantea la existencia de dos pools del precursor ATP. También se plantea la posibilidad de que estos

inhibidores de la fosfodiesterasa del AMP cíclico actúen a través de un mecanismo que no involucre el AMP cíclico.¹⁸

— Vía del ácido araquidónico (AA)

En 1977 Charo y colaboradores¹⁷ aportaron la primera evidencia de que los endoperóxidos lábiles y el tromboxano A₂(TxA₂) pueden provocar la agregación de plaquetas humanas normales. Por otra parte, Moneada y colaboradores¹⁸ demostraron que a partir de los endoperóxidos lábiles puede formarse la prostaciclina (PGI₂) que es un potente inhibidor de la agregación plaquetaria, con una acción 30 veces mayor que la PGEi. A partir de estos hallazgos, se postuló la hipótesis de que el balance de PGI₂ sintetizado por la pared vascular y el TxA₂ sintetizado por la plaqueta, es decir, entre sustancias agregantes y antiagregantes determina el mantenimiento de la integridad vascular del endotelio y explica la formación del trombo intraarterial en condiciones patológicas.

Recientemente se han realizado con el objetivo de probar el efecto de inhibidores sobre las enzimas tromboxano sintetasa y prostaciclina sintetasa. La inhibición de la formación de PGI₂ provocó un aumento de los agregados plaquetarios inducidos por ADP, este fenómeno se incrementaba con la presencia de AA exógeno.

En cambio el dazoxiben, que inhibe la formación de TxA₂ no mostró influencia en la temprana formación del trombo.

También se ha informado la existencia de una relación PGI₂ liberada con el grado de daño celular *in vitro*.

Resulta muy significativo el estudio de Tremoli y colaboradores¹⁹ realizado en conejos hipercolesterolémicos, cuyas plaquetas eran hiperreactivas al AA y menos sensibles a la actividad inhibitoria de la PGI₂. Sin embargo, la actividad antiagregatoria y la producción de prostaciclina por la pared de los vasos era mayor, y sugería un mecanismo regulatorio en el balance hemostático.

Actualmente se ha concedido importancia a la interrelación entre las diferentes prostaglandinas producidas a partir de los endoperóxidos lábiles. Se conoce que la PGE₀ a bajas concentraciones contrarresta el efecto antiagregante de PGI₂, PGE, y

PGD₂ por inhibición del sistema de la adenil ciclaca. A altanes la PGE₂ tiene efecto antiagregante y puede ser producida por las células endoteliales exactamente como se sintetiza la PGI₂. Por otra parte, algunos autores consideran que existe un mecanismo regulatorio de la sensibilidad plaquetaria a los agentes agre-

gantes, determinado por la relación PGE₂/PGI₂ producida por la pared del vaso.²⁰

El bloqueo de la vía de las prostaglandinas por inhibición de las diferentes enzimas ha sido muy utilizado para tratar de explicar el efecto de los metabolitos de esta vía. Incluso se ha determinado el contenido de ciclo-oxigenasa por plaqueta.

El ASA inhibe irreversiblemente a la ciclo-oxigenasa (CO), en cambio es incapaz de inhibir el incremento de tromboxano B₂ plasmático seguido de una estimulación adrenérgica.

Estos resultados sugieren que el tromboxano B₂ plasmático es de origen extraplaquetario, de manera que en la agregación plaquetaria inducida por TXA₂ este compuesto actúa como un mediador intracelular.¹³

Recientemente *De Gaetano*²¹ ha informado el uso de inhibidores para la evaluación de la vía del ácido araquidónico. Se estudió el efecto del salicilato producto del metabolismo del ASA y se comprobó que aumentando las dosis de salicilato desaparecía el efecto inhibitorio del ASA y que con dosis de 0,45 mg/kg/24 horas era suficiente para bajar la concentración de TXA₂ en suero. El salicilato actúa como un inhibidor competitivo del sitio de enlace de la enzima.

Este investigador estudió la interrelación del efecto del ASA y la indometacina sobre la CO y llegó a las siguientes conclusiones: el ASA y la indometacina actúan sobre el mismo sitio de enlace de la CO y la acetilación que hace irreversible la inhibición de la CO por el ASA es un mecanismo secundario.

Este mismo autor, utilizó el dazoxiben en un grupo de pacientes para inhibir la tromboxan sintetasa y demostró que en aquellos casos en que no se inhibió la agregación plaquetaria presentaba un aumento de PGE₂ (agregante plaquetario) en comparación con PGD₂ (antiagregante plaquetario). Estos resultados apoyarían la hipótesis de que el balance PGD₂/PGE₂ determina la respuesta de las plaquetas a la droga y que el TXA₂ no es el único responsable de la agregación plaquetaria, ya que usando un inhibidor selectivo de su formación, se producía la agregación.

La importancia de la acción del ASA sobre la CO no reside precisamente en la inhibición de la formación del TXA₂ sino en la inhibición de la formación de los endoperoxidos lábiles y las otras prostaglandinas.

Los estudios de producción de TXA₂ en pacientes con enfermedades mieloproliferativas arrojan resultados contradictorios. Esto es posiblemente una evidencia para la hipótesis de *De Gaetano*.

*Wilson*²² demostró la existencia de una acil CoA específica para el araquidonato que puede controlar el nivel de ácido araquidónico en las plaquetas. Esta enzima limita la síntesis de prostaglandinas por células no estimuladas y captura el araquidonato libre de fuente extracelular.

También se ha informado el efecto de potentes sustancias antiagregantes, propias de las plaquetas que pueden regular la actividad de las mismas.

— Vía del factor agregante plaquetario (PAF)

El PAF tiene una estructura lipídica 1-0-acetil 2-SN-gliceril 3-fosforil colina. Es un compuesto liposoluble que fue descubierto en la respuesta alérgica y un inductor de la permeabilidad vascular que ha sido implicado como mediador del proceso inflamatorio agudo.

El PAF produce agregación plaquetaria bifásica, la segunda onda probablemente está relacionada con la liberación de ADP.²³

La agregación reversible producida por el PAF es independiente de la inhibición de la CO y de la utilización de la vía que convierte el ADP en ATP por el sistema creatinina fosfato/creatinina fosfato quinasa, lo que demuestra que el PAF actúa por una vía independiente del ácido araquidónico y del ADP.

Por otra parte, se demostró que la liberación de PAF por las plaquetas al medio extracelular inducía la agregación de las plaquetas cercanas. Esta liberación era independiente del uso de inhibidores de la vía del ADP y del AA.²⁴

El PAF es capaz de inducir la agregación de plaquetas degranuladas por trombina lo que hace evidente que su acción es independiente del ADP.

Se conoce que el PAF promueve la agregación por inhibición de la adenil ciclasa. El agente liberador más activo del PAF es el ionóforo de Ca A23 187. también el colágeno y la trombina liberan suficientes cantidades de PAF para inducir la agregación.¹³

Recientemente *Vargaftig*²⁵ estudió el sinergismo entre la agregación inducida por PAF y por adrenalina. Para una misma concentración de adrenalina, a medida que se incrementa la concentración de PAF aumenta la agregación. El ASA fue capaz de inhibir este efecto. Este investigador demostró que la presencia de diferentes anticoagulantes afectaban la respuesta de las plaquetas a la acción del PAF. Otros investigadores sin embargo, plantean que la principal acción del PAF es por la vía de la CO.

La agregación plaquetaria se produce por tres vías independientes que pueden ser suprimidas sin afectar las restantes, por lo que todas deben considerarse para el uso de drogas antiagregantes (esquema 1).

Hasta el momento sólo los inhibidores de la fosfolipasa A2 han mostrado efecto inhibitorio simultáneo sobre estas tres vías.

d) *Ciclo de fosfatidil inositol. Papel del ácido fosfatídico:* en 1980 *Vargaftig y colaboradores*²⁶ demostraron que existía en las plaquetas otra fuente de ácido araquidónico (AA) independiente de la fosfolipasa A2. Esta vía es mediada por la fosfolipasa C. Ambas fosfolipasas son activadas por Ca y tienen diferente especificidad.

La fosfolipasa A2 actúa preferiblemente sobre la fosfatidil colina, fosfatidil serina y fosfatidil etanolamina, y la fosfolipasa C actúa sobre el fosfatidil inositol (esquema 2).

A partir de la acción de la fosfolipasa C y de la diglicérido lipasa también se forma AA. La fosfolipasa C requiere menos Ca para su activación, por lo que puede desempeñar una función importante en el metabolismo de los fosfolípidos de la membrana.²⁷

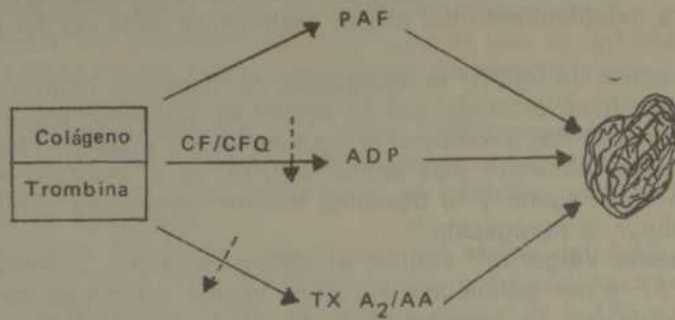
Por la vía de la fosfolipasa C se sintetizan grandes cantidades de ácido fosfatídico que es un activador potencial de la agregación, pues puede movilizar iones Ca de la membrana.

El ácido fosfatídico no puede atravesar la membrana plaquetaria, por lo que no es capaz de inducir la agregación cuando se añade a suspensiones plaquetarias.¹³

Recientemente se ha informado la existencia de una relación estrecha entre la formación de ácido fosfatídico y la liberación de PAF. Se plantea que la liberación de PAF induce la activación del ciclo de fosfatidil inositol.²⁸

Wallace y colaboradores,²⁹ demostraron que la epinefrina actuaba estimulando la síntesis de fosfatidil inositol al inducir la agregación plaquetaria. Este efecto también se ha observado por la estimulación por ADP. Nuevos estudios deben contribuir al conocimiento sobre el metabolismo plaquetario.

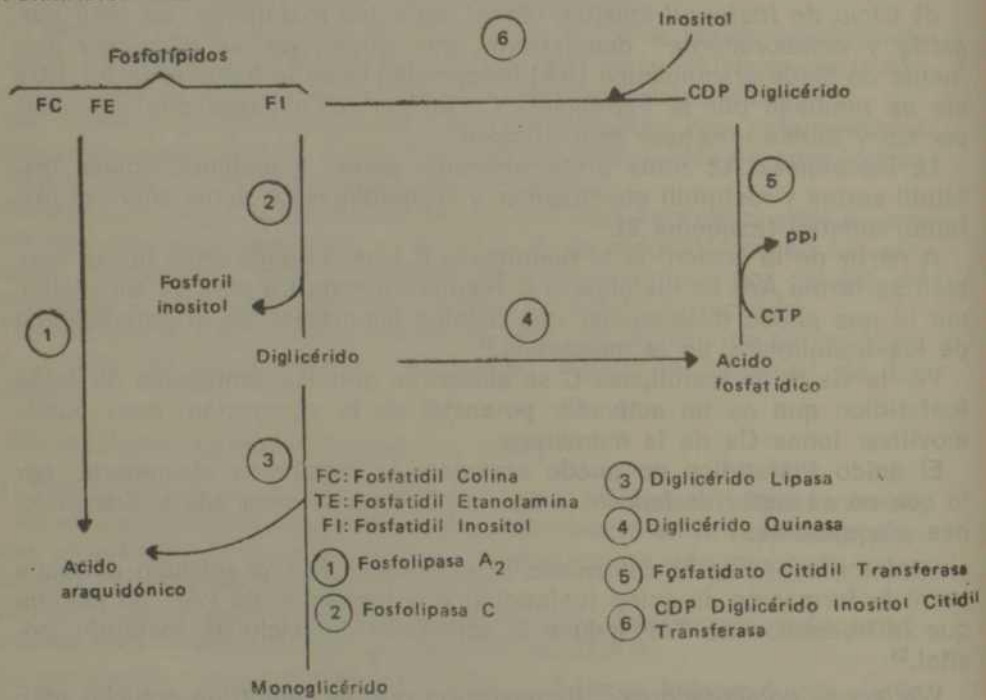
Esquema 1
VIAS DE AGREGACION PLAQUETARIA



CF: Creatinín Fosfato
 CFQ: Creatinín Fosfato Quinasa
 CO: Ciclo-Oxigenasa
 ASA: Acido Acetil Salicílico

Fuente: Tomado de De Gaitano, 1983.

Esquema 2
FORMACION DEL ACIDO FOSFATIDICO



SUMMARY

González Cabrera, I. *Current concepts about mechanisms of platelet function.*

A review of the latest concepts incorporated to the understanding of platelet physiology is made. Existence of asymmetric distribution of the phospholipids (PL) of platelet membrane

is pointed out. Only phospholipids of the internal layer of membrane has prothrombinase activity, mainly the phosphatidylserine. When platelets are activated a transmembrane movement or flip-flop is produced, allowing the formation of areas with a higher content of phosphatidylserine at the cell surface. Platelets have sites of low affinity for factor VIII: von Willebrand (f VIII_{vW}). The endothelium binds factor VIII_{vW} and induce a conformational change in its molecule, which then is recognized by the platelet. Existence of three independent ways that can mediate platelet aggregation is commented. They are: ADP, arachidonic acid and platelet activating factor. Such ways can be inhibited by different agents without affecting the remainders, thus, all of them must be considered in the searching of antiaggregating drugs. By the action of phospholipase and diglyceride kinase, phosphatidic acid is formed, being it an aggregation potential activator, since can move calcium ions of the membrane.

RÉSUMÉ

González Cabrera, I. *Concepts actuels sur les mécanismes de la fonction plaquettaire.*

Une revue est faite des concepts les plus récemment incorporés à la connaissance de la physiologie plaquettaire. Il est signalé qu'il existe une distribution asymétrique des phospholipides de la membrane plaquettaire. Seulement les phospholipides de la face interne de la membrane ont une activité procoagulante, notamment la phosphatidylsérine. Quand les plaquettes sont activées, il se produit un mouvement transmembrane ou *flip-flop*, qui permet la formation d'aires d'un plus grand contenu de phosphatidylsérine dans la surface cellulaire. Les plaquettes ont des zones à faible affinité pour le facteur VIII: von Willebrand (f VIII_{vW}). L'endothélium relie le facteur VIII_{vW} et induit un changement dans la conformation de sa molécule, qui est alors reconnue par la plaquette. On commente l'existence de trois voies indépendantes qui peuvent intervenir dans l'agrégation plaquettaire: l'ADP, l'acide arachidonique et le facteur agrégant plaquettaire. Ces voies peuvent être inhibées par différents agents sans toucher les autres, donc elles doivent être prises en considération lors de la recherche de drogues antiagrégantes. L'acide phosphatidique est formé à partir de l'action de la phospholipase C et de la diglycéride-kinase; cet acide est un activateur potentiel de l'agrégation, car il peut mobiliser des ions calcium de la membrane.

BIBLIOGRAFIA

1. *Almagro, D.: Fisiología plaquetaria. Hematología e Inmunología 14 (1): 1980.*
2. *Singer, S. J.; G. L. Nicolson: The fluid model of the structure of cell membranes. Sci 175: 720-731, 1972.*
3. *Zwals, R. F. A.; P. Comfurius; L. L. Van Deenen: Membrane Asymmetry and blood coagulation. Nature 268: 358-360, 1977.*
4. *Zwaal, R. F. A.; H. C. Hemker: Blood cell membranes and haemostasis. Haemostasis 11: 12-39. 1982.*
5. *Sixma, J. J.; M. E. Schiphorst; C. Verhoeckx; B. M. Jockusch: Peripheral and integral proteins of human blood platelet membranes alpha actinin is not identical to glyco- protein III. Biochim, Biophys, Acta 704: 333-344, 1982.*
6. *Judson, P. A.; D. J. Anstee; J. R. Clamp; Isolation and characterization of the major oligosaccharide of human platelet membrane glycoprotein GPIb. Biochem J 205: 81- 90, 1982.*
7. *Hagen, I.; F. Brosstad; G. O. Gogstad; R. Korsmo; N. O. Solum: Further studies on the interaction between thrombin and GPIb using crossed immunoelectrophoresis effect of thrombin inhibitors. Thromb Res 27: 549-554, 1982.*
8. *Legrand, Y. T.; F. Fauvel; N. Gutman, J. P. Muh; G. Tobelem; H. Souhom; A. Karnigulan; J. P. Caen: Microfibrils (MF1) platelet interaction: Requirement of von and the demonstration of platelet-Factor V antigen in congenital Factor V deficiency.*
9. *Berndt, M. C.; D. R. Phillips: Platelet membrane proteins: Composition and receptor function. In: Platelets in Biology and pathology. Research monographs in cell and tissue physiology. Cap. 3 J. I. Gordon Editor, 1982. P. 67.*
10. *Booyse, F. M.; A. J. Quarfoot; S. Feder: Culture-Produced subendothelium. I. Platelet Interaction and properties. Haemostasis 11: 49-61, 1982.*

11. Connellan, J. M.; B. Barlow; B. I. Smith. P. A. Castaldi: The role of platelet surface protein reactin with heterologous antibodies. *Haemostasis* 11: 109-118, 1982.
12. Mant, M. J.: Platelet adherence to collagen. The influence of acetyl salicylic acid. *Haemostasis* 12: 262-267, 1982.
13. Vargafing, B. B.; M. Chignard; J. Benveniste: Present concepts on the mechanisms of platelet aggregation. *Biochem Pharmacol* 30 : 263-271, 1981.
14. Born, G. V. R.; F. J. Haslam; M. Goldman; R. O. Lowe: Comparative effectiveness of adenosine analogues as inhibitors of blood-platelet aggregation and as vasodilators in man. *Nature* 205: 678-680, 1965.
15. Charo. I. F.; R. D. Feinman; T. C. Detwiler: Interrelations of platelet aggregation and secretion. *J Clin Invest* 60: 866-873, 1977.
16. Lam, S. C-T; M. A. Guccione; M. A. Packham; J. F. Mustard: Effect of c AMP phosphodiesterase inhibitors on ADP induced shape change, c AMP and nucleoside diphosphokinase activity of rabbit platelets. *Thromb Haemost (Stuttgart)* 47: 90-95, 1982.
17. Charo, I. F.; R. D. Feinman; T. C. Detwiler: Prostaglandin endoperoxides: And thromboxane A₂ can induce platelet aggregation in the absence of secretion. *Nature* 269: 66-69, 1977.
18. Moneada, S.; R. Gryglewski; S. Bunting; J. R. Vane: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263: 663-665, 1976.
19. Tremoli, S.; A. Petroni; C. Gall: Increased platelet aggregability is associated with increased prostacyclin production by vessel. *Prostaglandins* 24: 397-404, 1982.
20. Bonne, C.; B. Martin; M. Watada; R. Regnault: The antagonism of Prostaglandins I₂ E₁ and D₂ by prostaglandin E₂ in human platelets. *Thromb Res* 21: 13-22, 1981.
21. De Gaetano, G.: Use of inhibitors for evaluation of the arachidonic acid pathway. *Febs advanced course No. 82/06 Role of lipids in blood platelet activation*. 10-21, May 1983.
22. Wilson, D. B.; S. M. Prescott; P. W. Majerus: Discovery of an arachidonic coenzyme A Synthetase in human platelets. *J Biol Chem* 257: 3510-3515, 1982.
23. Benveniste, J.; J. P. Le Covedic; P. Kamoun: Aggregation of human platelets by platelet-activating factor. *Lancet* 1: 344-345, 1975.
24. Chignard, M.; J. P. Covedic; M. Tence; B. B. Vargafing; J. Benveniste: The role of platelet-activating factor in platelet aggregation. *Nature* 279-799, 1979.
25. Vargafing, B. B.; Mode of action of platelet activating factor. *Febs advanced course No. 82/06. Role of lipids in blood platelet activation*. 10-01, may, 1983.
26. Vargafing, B. B.; F. Fouque; M. Chignard: Interference of Bromophenacyl bromide with platelet phospholipase A₂ activity induced by thrombin and ionophore A 23187 *Thromb Res* 17: 91-102, 1980.
27. Lapetina, R. G.; C. G. Schnitges; K. Chandrasekhar: Cuatrecasas P. c Amp and P_gX inhibit membrane phospholipase activity in platelets. *Biochim Biophys Res Commun* 76 : 828-835, 1974.
28. Lapetina, E. G.: Platelet Activating Factor Stimulates the Phosphatidylinositol cycle Appearance of phosphatidic acid is associated with the release of serotonin in horse platelets. *J Biol Chem* 257: 7314-7317, 1982.
29. Wallace M. A.; K. C. Agarwal; J. A. Garcia Zains; J. N. Fain: Alpha-Adrenergic stimulation of phosphatidyl inositol Synthesis in human platelets as an alpha-2 Effect secondary to Platelet aggregation. *J Cell Biochem* 18: 213-220, 1982.

Recibido: 18 de enero de 1984

Aprobado: 15 de abril de 1984

Ileana González Cabrera

Instituto de Hematología e Inmunología

Apartado 8070

Zona Postal 8

Ciudad de La Habana.