

FUNÇÃO CLÁSSICA DAS PLAQUETAS NA HEMOSTASIA E SUA PARTICIPAÇÃO EM PROCESSOS DINÂMICOS DO ORGANISMO

Celso França de Lemos

Pós-Graduando no curso de Hematologia Clínica e Banco de Sangue da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP.

RESUMO

A mais conhecida e principal função plaquetária está relacionada ao controle de sangramento após um dano vascular. No entanto, plaquetas estão envolvidas em muitos outros processos, tais como iniciar e amplificar a inflamação, interagir com células da resposta imune, além de participar na progressão tumoral, angiogênese e metástase. Neste sentido, está claro que plaquetas apresentam funções no processo inflamatório e podem influenciar respostas imune, além de desordens plaquetárias autoimune e relacionadas a presença de auto-anticorpos após transfusões, como por exemplo, na lesão pulmonar aguda associada à transfusão. Recentes observações têm estabelecido novos paradigmas relacionando plaquetas à biologia molecular.

A noção geral de que plaquetas funcionais são importantes para o sucesso de processos hematogênicos corroboram com inovações experimentais e também ligam a processos de interação plaquetas-células tumorais e seu microambiente que regula a progressão maligna. Plaquetas contribuem na sobrevivência e disseminação de células tumorais.

Palavras-chave: plaquetas; inflamação; transfusão de sangue; câncer.

INTRODUÇÃO

As plaquetas são células efetoras da hemostasia e altamente especializadas, de origem mieloide, circulam no sangue como citoplastos anucleados em estado de repouso. Em resposta a sinais de ativação, seu fenótipo quiescente muda para uma célula efetora e versátil, desempenhando funções como adesão, agregação, formação do “tampão” hemostático. Além disso, participam de processos adicionais, desempenhando um papel chave em processos inflamatórios, de reparo vascular, tecidual e participam da modulação do sistema imunológico, como reações autoimune e desordens aloimunes.

Há várias descobertas pertinentes às influências das plaquetas em processos considerados como não tradicionais, tais como: capacidade de sintetizar proteínas, mecanismos inesperados de *splicing* (processo que remove os íntrons e junta os éxons depois da transcrição do RNA), processo de morte celular (anuclear) programada, envolvimento de plaquetas na sinalização de células-tronco, reparo vascular, processos tradicionais de interações com células endoteliais e com leucócitos envolvendo mecanismos de adesão, agregação, formação do tampão hemostático e retração do coágulo em sítios de danos vasculares.

Os componentes do *spliceossomo* (estrutura fundamental para clivar essas ligações entre os nucleotídeos) estão presentes no citoplasma de megacariócitos humanos e em pro-plaquetas (extensões dos megacariócitos).

As plaquetas primárias humanas também contêm fatores de *spliceossomo* que incluem pequenos RNAs nucleares (herdados do megacariócito), proteínas de *splicing* e pre-mRNAs endógenos.

ORIGEM DAS PLAQUETAS

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos dos megacariócitos (não possuem núcleo) diferenciados na medula óssea e no pulmão que se estendem multiplamente, com alongamento de suas extremidades. A forma é discoide, com um diâmetro normalmente de 2 a 3 μm , espessura em torno de 1 μm e volume de 7 fL formando as pro-plaquetas (PPs) ou plaquetas reticuladas.

Uma vez formadas as PPs, todo o conteúdo intracelular é transferido dos megacariócitos a essas estruturas, que posteriormente conduzem a migração para suas pontas via trilhas microtubulares, um regulado processo de translocação do seu conteúdo e de mudança conformacional. Desta maneira, podemos afirmar que plaquetas são formadas a partir das pontas das PPs as quais são mais densas e mais ativas no processo de formação do trombo hemostático do que plaquetas maduras, pois contêm um retículo endoplasmático grosseiro e uma carga maior de mRNAs. A determinação do número de PPs é útil para monitorar a trombopoiese e o *turnover* de plaquetas maduras. As plaquetas maduras formadas circulam no sangue por aproximadamente 7 - 10 dias, período esse que pode ser menor, uma vez que essas células anucleadas sejam ativadas e depositadas em sítios de dano vascular, inflamatório, sequestradas pela microvasculatura e/ou, programadas por apoptose/morte programada anuclear.

Estudos *in vitro* de diferenciação dos megacariócitos a partir de células progenitoras hematopoiéticas mostram o processo de formação das plaquetas que é altamente regulado para a transferência dos constituintes intracelulares dos megacariócitos para a formação das pro-plaquetas para finalmente formar a plaqueta madura circulante. Em 2007, utilizando a técnica de microscopia intravital Junt *et al.* observaram a formação de extensões de PPs na medula e em vasos sanguíneos *sinusoidais* de camundongos transgênicos que expressam *trombopoetina* ligada a GFP (*green florescent protein*), onde aparentemente *forças de cisalhamento* aparecem para libertá-las das células mãe. Para corroborar com esses dados, Geddis e Kaushansky identificaram células circulantes com morfologia de PPs no sangue de animais, sugerindo a possibilidade da formação contínua de plaquetas maduras em vasos periféricos.

Achados adicionais dão suporte a essas observações, que datam de 1925, indicando que a contagem de plaquetas é mais alta em vasos pulmonares em comparação com aquela do sangue arterial pulmonar, sugerindo que PPs circulantes são processadas em plaquetas maduras no pulmão.

Como a *trombopoiese* é alterada em doenças inflamatórias pulmonares, e quais as suas consequências, ainda é um processo desconhecido. Além disso, há mecanismos adicionais de geração de plaquetas na circulação periférica, que podem ser influenciados por danos inflamatórios. Há evidências que o pulmão é um reservatório de megacariócitos, além de ser

um local de processamento de PPs. Megacariócitos são descritos como células poliplóides e que se acumulam em pulmões de humanos e roedores.

ESTRUTURAS PLAQUETÁRIAS

Plaquetas estão envolvidas em processos dinâmicos como a hemostasia, inflamação, imunidade e câncer, processos que necessitam de uma série coordenada de eventos que envolvem receptores de membrana, sinais bidirecionais intracelulares com liberação de proteínas e de fatores inflamatórios.

Os receptores plaquetários estão na vanguarda das pesquisas recentes, e grandes avanços foram feitos a fim de compreender suas funções moleculares e o curso de suas vias de sinalização.

Estudos *in vitro* e *in vivo*, principalmente em modelos animais, sobre as funções dos receptores de superfície plaquetária, incluindo a inibição farmacológica por antagonistas específicos, têm ajudado a revelar novos mecanismos de como a propensão trombótica e hemorrágica das plaquetas é controlada em processos fisiopatológicos.

Uma grande variedade de receptores transmembranares cobre a membrana das plaquetas, incluindo muitas integrinas (α IIb β 3, α 2 β 1, α 5 β 1, α 6 β 1, α v β 3), receptores ricos em leucina (LRR) (glicoproteína [GP] Ib/IX/V, receptores Toll-like), receptores acoplados à proteína G com sete domínios transmembrânicos (GPCR) (PAR-1, PAR-3 e PAR-4 receptores ativados por proteases – principalmente trombina, P2Y1 e P2Y12 receptores de ADP, receptores prostanóides – TPA, TPB – e receptores TXA2), proteínas pertencentes à superfamília das imunoglobulinas (GP VI, Fc γ RIIA), receptores do tipo lectina (P-selectina), receptores tirosina-quinase (receptor de trombopoietina, Gas-6, efrinas e quinases Eph) e uma variedade de outros tipos (CD63, CD36, receptor do tipo TNF, entre outros). Muitos destes receptores são encontrados em outros tipos celulares, mas alguns são apenas expressos em plaquetas, como a P-selectina. Neste cenário, está bem estabelecido que os principais receptores plaquetários têm um papel proeminente na função hemostática, permitindo interações específicas e funcionais com proteínas adesivas vasculares e com seus agonistas solúveis. Além disso, é cada vez mais reconhecido que esses receptores estão envolvidos em

outros processos não menos importantes como inflamação, crescimento tumoral, metástase e resposta imune.

Internamente, as plaquetas contêm um citoesqueleto, um sistema tubular denso, poucas mitocôndrias, grânulos de glicogênio, grânulos de estocagem do tipo alfa e denso, peroxissomos, mRNAs, complexo de spliceossomo, proteassomo e ubiquitina, bem como outras estruturas.

Os grânulos α -mantêm as proteínas relevantes para a função hemostática, como o fator de von Willebrand (vWF), fibrinogênio, P-selectina, PECAM-1, CD40 (CD154), fator 4 plaquetário, β -tromboglobulina, trombospondina, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), Fator V, bem como um estoque de GP IIb/IIIa (α Ib β 3). Porém, quando o estímulo é muito intenso e esse estoque proteico/proteínico é consumido, as plaquetas iniciam um processo de síntese de proteínas através de seus mRNAs herdados da célula de origem, os megacariócitos.

Os grânulos densos, por outro lado, são ricos em nucleotídeos (ADP e ATP), serotonina, histamina, pirofosfato e cálcio. Após a ativação, o conteúdo dos grânulos é liberado lentamente para promover ainda mais a adesão e agregação plaquetária.

Diante dessas estruturas internas plaquetárias, a principal função das plaquetas é a de impedir a perda de sangue após o trauma do tecido e a exposição da matriz subendotelial. No entanto, a fronteira entre o fisiológico (hemostasia) e o patológico (trombose) é muito estreita, já foi reconhecido o papel das plaquetas no desenvolvimento da aterotrombose, a principal causa de morte no mundo, devido ao aumento na expectativa de vida, a problemas relacionados a mudanças socioeconômicas e a urbanização.

A contribuição das plaquetas para o crescimento do trombo é espacial, ou seja, plenamente dependente da sua localização no interior da circulação sanguínea. A participação das plaquetas na hemostasia e trombose têm sido amplamente investigadas nas últimas décadas. As pesquisas tradicionais nesta área utilizam técnicas comuns para o estudo de processos bioquímicos, da biologia celular e molecular plaquetária, e vêm proporcionando uma valiosa visão sobre os elementos e os sinais que regulam a ativação, adesão e agregação plaquetária.

FUNÇÃO CLÁSSICA DAS PLAQUETAS E DESCOBERTAS RECENTES

Plaquetas são células efectoras da hemostasia. Uma função primária das plaquetas, bem conhecida, é limitar a hemorragia após um trauma ou dano vascular, ou seja, a formação do *tampão plaquetário*. Para tanto, as plaquetas devem ser recrutadas e ativadas. Esses processos são iniciados com a adesão à matriz subendotelial exposta em sítios específicos do endotélio lesado via glicoproteína Ib/V/IX de superfície endotelial, que reconhece o vWF e outros ligantes. Uma variedade de integrinas da superfície plaquetária, bem como receptores de colágeno, adere à matriz subendotelial. A ativação das plaquetas via receptores acoplados à proteína G, pode ser iniciada por proteases ou gera endogenamente o tromboxano A₂. Os receptores ativados por proteases (PARs) são clivados por trombina, uma serinoprotease, e os outros receptores, não ativados por proteases, reconhecem ADP.

Outros agonistas rapidamente amplificam e iniciam a adesão, medeiam a agregação e recrutamento de plaquetas adicionais ao sítio da lesão. A ativação celular converte a integrina α IIb β 3 (glicoproteínaIIb/IIIa – a principal integrina célula-específica em megacariócitos e plaquetas) a um estado conformacional adequado para a ligação ao fibrinogênio, fibrina e outros ligantes, mediando uma agregação homotípica e eventos adicionais de adesão. O tempo é fator limitante, neste cenário onde, cada uma dessas respostas ocorre dentro de segundos a minutos após a ativação.

Em resposta ao enlace da integrina às moléculas de adesão e à ativação por agonistas descrita acima, inicia-se o processo de *splicing*. O complexo de *spliceossomo* recrutado nas plaquetas remove precisamente os íntrons do pré-mRNA, e obtém um mRNA maduro que é traduzido em proteína. Esse mecanismo de *splicing*, totalmente dependente de ativação por agonistas, é uma função não tradicional das plaquetas e demonstra a especialização notável destas células anucleadas na regulação do seu próprio conteúdo de mRNAs e posteriormente do seu conteúdo de proteínas. Embora este mecanismo seja único para as plaquetas, sugere também a diversidade anteriormente não reconhecida sobre os papéis funcionais do *spliceossomo* em células eucarióticas.

Interrupções genéticas e farmacológicas dos processos citados causam sangramentos fornecendo clara evidência do crítico papel das plaquetas na fisiologia da hemostasia. Cada passo é um importante alvo para estratégias terapêuticas em doenças trombóticas. Além disso, para a rápida formação da barreira hemostática e o fornecimento de componentes celulares ao

molde do coágulo, as plaquetas também medeiam a retração do coágulo, em um processo prolongado e amplamente explorado *in vitro*, onde a estabilização do coágulo dá início à sua remodelação.

Três sistemas moleculares contribuem para o arsenal antitrombótico do endotélio: o sistema ciclooxigenase/prostaciclina, a síntese do óxido nítrico (NO) a partir da L-arginina e da arginase e o sistema da ecto-adenosina difosfato.

As vias endoteliais que regulam a ativação e desativação, devido a isso, as plaquetas foram designadas como células anucleadas exclusivas de depósitos de estruturas subendoteliais e de sítios primários hemostáticos de formação do coágulo, e conseqüentemente são repelidas a partir da superfície endotelial intacta. A matriz subendotelial exposta é claramente um sítio preferencial de deposição de plaquetas no fluxo sanguíneo.

As plaquetas ativadas que se acumulam em sítios de dano vascular ou na ruptura dos vasos podem transmitir sinais inflamatórios a células endoteliais, um potencial mecanismo de amplificação na hemostasia, trombose e inflamação.

As plaquetas têm atividade relevante na hemostasia, além das tradicionais e bem conhecidas respostas de adesão, agregação e formação do tampão hemostático. Plaquetas ativadas fornecem uma superfície negativa com a exposição do fosfolípídeo de membrana, fosfatidilserina. Essa exposição regula o processo da coagulação, por controlar a formação de trombina, fornecer sítios de ligação para os fatores Xa e Va, alterar alostericamente suas atividades proteolítica e de cofator e finalmente atuar na catálise da via extrínseca da cascata da coagulação pelo complexo fator tissular/fator VIIa. Esse é um passo crítico na propagação e estabilização do coágulo. Há tempos, o sistema da coagulação é discutido como o sistema fisiológico da coagulação, onde as intervenções do sistema da coagulação levam a combinação das anteriormente separadas vias intrínsecas, extrínsecas e via comum. Hoje se sabe que há uma amplificação de sinal e que há a ativação concomitante das vias, uma retroalimentação da catálise da cascata onde o fator limitante é a velocidade de ativação dos fatores da coagulação.

É vasta a literatura que indica a capacidade crescente pró-inflamatória das plaquetas. Neste cenário, surgem as micropartículas de plaquetas, que são vesículas intactas, de 0,2 a 1

µm de diâmetro, que se formam por brotamento da membrana da plaqueta ativada que carregam o fator tissular liberado na propagação do coágulo. Neste contexto inflamatório podemos ainda citar a participação da plaqueta na interação com o endotélio e com leucócitos, onde ocorre a expressão de moléculas de adesão celular (CAM), como a E-selectina, na superfície da parede dos vasos sanguíneos e em leucócitos presentes no fluxo sanguíneo. O primeiro passo do processo de interação é realizado pela PSGL-1 versus P-selectina e/ou E-selectina. Essa interação resulta no rolamento de leucócitos pela superfície da célula endotelial por uma adesão estável e transmigração das células brancas até o interior do tecido inflamado. Após a exposição da P-selectina na plaqueta ao ligante PSGL-1 na superfície de leucócitos, inicia-se a sinalização intercelular justácrina e a expressão gênica de mediadores inflamatórios liberados por leucócitos (células alvo).

A síntese do fator tecidual se dá exclusivamente por plaquetas ativadas e é regulada por um processo de *splicing* e de translocação de pré mRNAs. Há evidências de que o fator tecidual pode contribuir para a iniciação e a amplificação do mecanismo da coagulação e, conseqüentemente, ser sintetizado e exposto por plaquetas ativadas em sítios de hemostasia primária. Em paralelo, resultados demonstram que plaquetas ativadas fornecem sinais que induzem a síntese de fator tecidual também por monócitos, os quais também se acumulam em coágulos e em sítios de danos vascular. Desta forma, as plaquetas ativadas possuem novas atividades identificadas, as quais podem influenciar na formação do coágulo via mecanismos que complementam sua rápida deposição ao *tampão* hemostático. Essas atividades ou outras funções inflamatórias das plaquetas podem fornecer novos alvos moleculares no tratamento de trombose venosa e tromboembolismo ou mesmo no dano agudo pulmonar.

A ideia de que plaquetas são conhecidas por suas imediatas atividades hemostáticas, é também uma visão restrita de suas funções fisiopatológicas.

Sendo notavelmente efectoras nos processos inflamatório e imune e respondendo a estímulos externos derivados de outras células, as plaquetas estão envolvidas na inflamação e na hemostasia. Tais propriedades podem ser expressão de uma capacidade evolutiva conservada que foi mantida quando a defesa do hospedeiro era restrita a uma, ou a um número pequeno de atividades, antimicrobianas ou de reparo.

Foram descobertos os receptores Toll-like que modulam a sinalização inflamatória e respostas trombóticas na sepse e em outras condições patológicas, como o câncer. Outros

sistemas de transdução de sinais em plaquetas são os ativados por trombina e/ou PAF (*platelet activating factor*), que também ligam hemostasia e inflamação sob condições fisiopatológicas. As plaquetas também têm outras habilidades no processo inflamatório, elas podem liberar uma variedade de citocinas e quimiocinas, fornecendo mecanismos rápidos na resposta inflamatória aguda. E ainda, as plaquetas rapidamente sintetizam o eicosanóide tromboxano A₂, que modula a resposta imune e a hemostasia.

Plaquetas também sintetizam uma citocina inflamatória reguladora *pleiotrópica* com múltiplas ações de reparo, a interleucina 1 β (IL-1 β). A IL-1 β sintetizada por plaquetas ativadas pode induzir respostas inflamatórias em células endoteliais humanas. Sua síntese em plaquetas se dá pelo processo de *splicing* e translocação do pre-mRNA via sinal dependente, como a ativação por trombina.

Ainda relacionada à resposta imune, as plaquetas também tem a capacidade de alterar direta ou indiretamente a ontogênese, função de macrófagos e células dendríticas. Onde influenciam no espectro inflamatório e nas respostas imune inata e adquirida, através de seus sistemas moleculares e sinalização *justácrina*.

Na resposta imune adaptativa ou em sítios inflamatórios, há a ativação de plaquetas quiescentes na circulação sanguínea, com conseqüente agregação plaquetária, exposição na superfície plaquetária de P-selectina, secreção de quimiocinas, citocinas, fatores de crescimento e ainda há a síntese de mediadores lipídicos como tromboxano A₂ e PAF. E em resposta a esses mediadores lipídicos as plaquetas sintetizam rapidamente IL-1 β por via pós-transcrição, e essa citocina pode permanecer associada a célula ou pode ser liberada em solução ou em associação a microvesículas.

Em sistemas *in vitro*, quando sintetizada por plaquetas ativadas a IL-1 β é direcionada e depositada aos coágulos de fibrina. Se isso ocorre *in vivo*, coágulos e trombos podem agir como reservatórios locais de citocinas, e a IL-1 β pode sinalizar para células endoteliais humanas a síntese de moléculas de adesão, as quais modulam a ativação e o acúmulo de PMN (células polimorfonucleadas). As plaquetas podem também induzir respostas inflamatórias por expor o ligante CD40 a uma proteína do tipo fator de crescimento do tipo TNF- α (fator de necrose tumoral), que é reconhecida pelo receptor CD40 na superfície de células endoteliais.

SÍNTESE DE MEDIADORES POR PLAQUETAS ATIVADAS

A ideia de que plaquetas são apenas estocadoras de proteínas e de mediadores bioativos está ultrapassada. Elas contêm uma carga de mRNA herdada dos megacariócitos e são capazes de sintetizar suas próprias proteínas e outras moléculas.

Plaquetas sintetizam tromboxano A₂ de forma rápida e eficaz a partir da via do ácido araquidônico, através da ciclooxigenase e também da via da lipoxigenase para metabolizar o aradonato a 12-hidroxi-eicosanoide. O tromboxano A₂ tem atividade pró-trombótica e pró-inflamatória, e a lipoxigenase plaquetária pode mediar a produção de lipoxinas em interações plaqueta-neutrófilo.

As plaquetas ainda sintetizam PAF, e além de lipídeos, plaquetas ativadas produzem ânion superóxido e outras espécies reativas de oxigênio (ROS – *reactive oxygen species*) via NADPH oxidase. A geração do ânion superóxido, por plaquetas ativadas, leva ao acúmulo de plaquetas no trombo em crescimento e pode prejudicar as atividades inibitórias do NO localmente liberado pelas células endoteliais. A capacidade de sintetizar tromboxano A₂, ROS e lipoxinas fornecem mecanismos pelos quais as plaquetas ativadas podem modificar os eventos vasoativos, inflamatórios e hemostáticos.

Enquanto a síntese de lipídeos biologicamente ativos e a geração de ROS estão estabelecidas como funções de plaquetas ativadas, recentemente se descobriu que plaquetas maduras e circulantes sintetizam proteínas em resposta à ativação por trombina e outros sinais fisiológicos de ativação.

Em resumo, esta nova função plaquetária de sintetizar proteínas ocorre por um repertório pós-transcrição herdado dos megacariócitos, consistente com o fato de que as plaquetas são células anucleadas e não transcrevem mRNAs (com exceção da transcrição mitocondrial).

O diferencial atribuído à síntese de proteínas específicas por plaquetas é que o processo ocorre em plaquetas ativadas e não em plaquetas em repouso, ou seja, a tradução em plaquetas é sinal dependente.

O primeiro exemplo de que esse processo ocorre em plaquetas foi a síntese de BCL-3 (B cell lymphoma-3) por plaquetas humanas ativadas, tal processo atua sobre o controle

especializado de tradução por uma quinase de mamífero mTOR (*mammalian target of Rapamycin*). A síntese da BCl-3 em plaquetas humanas ativadas auxilia na regulação da retração do coágulo. Além disso, é possível que a tradução e a síntese sinal dependente da BCl-3, por plaquetas, podem modificar o depósito de fibrina e o trombo intravascular, principalmente em danos pulmonares. Um importante ponto da síntese da BCl-3 e de outras proteínas chaves é o fato de ser iniciado rapidamente por plaquetas ativadas.

A síntese acelerada de produtos proteicos é uma vantagem biológica de controle da tradução dos mRNA anteriormente transcritos em megacariócitos. Isso é claramente vantajoso às plaquetas, uma vez que estas células são de resposta rápida em ferimentos e na hemostasia. Além disso, a tradução (sinal dependente) de novas proteínas por plaquetas continua por várias horas, indicando que a resposta dessas células anucleadas não está limitada à adesão, à agregação e à degranulação dos primeiros minutos da hemostasia.

Com o advento da análise proteômica em plaquetas, algumas de suas funções no sistema imune, antes desconhecidas, estão cada vez mais em evidência. Por exemplo, a análise proteômica tem demonstrado que plaquetas tem habilidade de secretar mais de 300 diferentes proteínas após a sua ativação por trombina, algumas das quais estão a interleucina-1 (IL-1), receptores Toll-like e CD40L, proteínas envolvidas em outros processos além da coagulação sanguínea. Portanto, a compreensão de toda a gama de funções plaquetárias está se tornando mais complexa e necessária.

Mediadores bioativos parácrinos e a expressão de moléculas de adesão por plaquetas ativadas facilitam tanto interações homotípicas (*plaqueta-plaqueta*) como interações heterotípicas (plaquetas-populações celulares do sistema imune) e iniciam assim respostas funcionais espacialmente localizadas, na forma *justácrina*. Por exemplo, plaquetas ativadas medeiam a adesão de neutrófilos ao endotélio e também regulam suas funções pró-inflamatórias. Outro exemplo é a interação de plaquetas ativadas com células dentríticas estimulando a liberação de citocinas inflamatórias em sítios de lesão tecidual. Com base nessas novas facetas das funções das plaquetas bem como seus papéis tradicionais na hemostasia, estas células anucleadas são cruciais mediadores na comunicação celular em processos inflamatórios.

Além disso, embora as plaquetas expressem poucas moléculas integrais de membrana do tipo MHC (major histocompatibility complex), elas podem adsorver (reter a superfície)

moléculas solúveis do tipo MHC de classe I derivados do plasma, implicando por exemplo em reações pós transfusionais.

Doenças inflamatórias e algumas desordens pulmonares causam acúmulo de plaquetas no pulmão, e remotas lesões teciduais e condições sistêmicas como a sepse podem ativar plaquetas na circulação.

LESÃO PULMONAR AGUDA ASSOCIADA À TRANSFUSÃO

Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI) é definida como uma síndrome de edema pulmonar não cardiogênica e relatada temporariamente, após transfusão de produtos do sangue, e que usualmente ocorre entre 30 minutos e 6 horas após a transfusão de hemocomponentes que contêm plasma, incluindo transfusões de plaquetas são relacionadas à TRALI. Estudos clínicos e experimentais indicam que a TRALI é causada pela infusão de anticorpos anti-neutrófilos e de lipídeos biologicamente ativos, em plasma para transfusão ou em concentrado de plaquetas, atuando juntamente com os primeiros PMNs aderidos.

O significado da TRALI na medicina transfusional ressurgiu recentemente, por ter sido classificada como uma das principais causas de mortes relacionadas à transfusão.

Estudos sobre o papel das plaquetas na TRALI mostram a ligação com os receptores Toll-like que podem levar à liberação de CD40 solúvel.

Uma vez ativadas, as plaquetas participam diretamente no dano pulmonar, e se houver a ativação de PMNs por anticorpos anti-neutrófilos e/ou por mediadores lipídicos derivados de plaquetas, essas células contribuem para o dano na membrana do capilar alveolar.

PLAQUETAS E O CÂNCER

A hipótese de que as células tumorais podem manipular a habilidade das plaquetas a regularem a angiogênese por causarem um “*sequestro*” plaquetário à sítios secundários tumorais é amplamente discutida. Além da sua participação na angiogênese há evidências que plaquetas dão suporte à metástase tumoral.

A ativação plaquetária e a ativação do sistema de coagulação têm papéis cruciais na progressão do câncer. No sistema circulatório, as plaquetas atuam como “guardiãs” das células tumorais evitando sua identificação e eliminação pelo sistema imune. Neste sentido, as plaquetas promovem o transporte, parada e aderência das células tumorais ao endotélio, dando suporte ao estabelecimento de sítios tumorais secundários.

Pacientes com câncer apresentam frequentemente sinais de trombose, e esses sinais se tornam mais severos de acordo com a progressão da doença e estágios de metástase. Diversas formas de trombooses incluem *coagulação intravascular disseminada*, *tromboflebite migratória* e *embolismo pulmonar* indicando ativação plaquetária aberrante. Desta maneira, se esses eventos trombóticos não são detectados, podem-se identificar anomalias nos parâmetros da coagulação que estão aumentados em pacientes com câncer, bem como está aumentada a renovação de plaquetas.

A metástase a órgãos distantes do sítio primário do tumor depende de interações entre as células tumorais e o microambiente do hospedeiro, como a circulação, vasos linfáticos e tecidos alvo.

Para que as células tumorais alcancem outros sítios há o envolvimento de células do sangue, componentes do sistema da coagulação, células estromais e a matriz extracelular. Dentre as células do sangue que contribuem para a metástase estão as células endoteliais, plaquetas, linfócitos, macrófagos, mastócitos e células progenitoras derivadas da medula óssea.

Para que ocorra a expansão de tumores e metastases, ocorre o recrutamento de novos vasos para garantir nutrientes e oxigênio para o futuro crescimento da lesão. Contribuindo para esse processo estão as plaquetas ativadas que liberam fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), promovendo assim a angiogênese.

Muitas das funções não hemostáticas das plaquetas podem resultar a partir da sua capacidade de estocar numerosos fatores bioativos em seus grânulos intracelulares.

A ativação de plaquetas pode ocorrer localmente dentro do ambiente vascular tumoral, ou de forma sistêmica, como é observado em pacientes com câncer de próstata, mama, pulmão, colon e tumores gástricos. A vascularização do tumor com vazamento pode expor proteínas de matriz como o colágeno, um potente ativador plaquetário.

As plaquetas também têm sido citadas por atuarem localmente em vasos sanguíneos através da liberação de seus fatores bioativos.

O interessante nesse processo é que os fatores a serem liberados e a intensidade com que isso acontece depende do estímulo dado pelo ambiente à plaqueta. Como por exemplo, grânulos plaquetários carregados com VEGF são seletivamente liberados após a ativação de receptores ativados por proteases (PAR-1) e grânulos contendo endostatina (fator anti-angiogênico) são liberados após a ativação de PAR-4. Esses achados não só explicam uma função importante das plaquetas na hemostasia, mas também sugerem que as células tumorais podem usar as plaquetas como balanço no ambiente angiogênico.

CONCLUSÕES

Há cinquenta anos, as plaquetas eram consideradas como o “pó de células vermelhas” e passaram de fragmentos celulares a células anucleadas, e são vistas como participantes integrais dos processos tradicionais da hemostasia e não tradicionais como os processos inflamatórios, imunes e no desenvolvimento e progressão tumoral.

O estudo da função plaquetária nos oferece uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares que as associam aos processos dinâmicos do organismo, e como consequência, podem-se identificar novas e promissoras abordagens clínicas.

BIBLIOGRAFIA

1. BERGER, Markus et al. HEMOSTASIA: UMA BREVE REVISÃO. **Caderno Pedagógico**, v. 11, n. 1, 2014.
2. DA SILVA, Leonardo Lorenzo; D'AMICO, Elbio Antonio. Estudo comparativo entre agregação plaquetária por turbidimetria e impedância elétrica em pacientes sob terapia antiplaquetária à base de ácido acetilsalicílico. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 6, p. 463-468, 2010.
3. DE ANDRADE CARDOSO, Fernanda et al. Endotélio vascular: Parte I: função e propriedade. **Revista de Ciências Médicas**, v. 3, n. 3, 2012.
4. HORTELÃO, Dina Guiomar Quinteiro. Ativação plaquetária e outros fatores condicionantes da resposta à transfusão de plaquetas. 2012.
5. MACIEL, Priscilla Maria Pereira. Padronização da determinação da presença de óxido nítrico em plaquetas humanas por citometria de fluxo. 2014.
6. OLIVEIRA, Ingrid et al. Plaquetas: Papéis tradicionais e não tradicionais na hemostasia, na inflamação e no câncer. **ABCS health sci**, v. 38, n. 3, 2013.
7. RODRIGUES, Evandra Straza; CASTILHO-FERNANDES, Andrielle; FONTES, Aparecida Maria. Novos conceitos sobre a fisiologia da hemostasia doi: [http://dx. doi. org/10.5892/ruvrv. 2012.101. 218233](http://dx.doi.org/10.5892/ruvrv.2012.101.218233). **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 1, p. 218-233, 2012.
8. VILLACORTA, Aline Sterque; VILLACORTA JR, Humberto. Antiagregantes Plaquetários e Testes de Função Plaquetária na Era dos Stents Coronarianos. **Rev Bras Cardiol**, v. 25, n. 4, p. 340-349, 2012.
9. WEBER, Simone Schneider. Abordagens proteômicas e suas aplicações no campo da hematologia.