

Plaquetas: ainda um alvo terapêutico

Primeira submissão em 24/11/05
Última submissão em 11/08/06
Aceito para publicação em 19/08/06
Publicado em 20/10/06

Platelets: still a therapeutical target

Helena Carla Castro¹; Bruno Leal Alves Ferreira³; Tammy Nagashima³; Ana Schueler³; Carlos Rueff³; Danielle Camisasca³; Gisele Moreira³; Glória Scovino³; Luciana Borges³; Maria Leal³; Marilene Filgueira³; Patrícia Paschoal³; Vagner Bernardo³; Saulo Bourguinhon²; Carlos Rangel Rodrigues⁴; Dilvani Oliveira Santos²

unitermos	resumo
Plaquetas	As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos anucleados presentes no sangue e produzidos na medula óssea a partir dos megacariócitos. O objetivo deste trabalho é rever as bases mecânicas e moleculares das plaquetas, revelando sua participação em síndromes importantes e na trombose arterial, além de seu potencial como alvo terapêutico para o desenho de novos agentes antitrombóticos.
Agonistas	
Receptor	
Trombose arterial	
Aspirina	

abstract

Platelets are cytoplasmatic fragments from bone marrow megakaryocytes present on blood. The aim of this work is to review the basis of platelet mechanisms, their participation in syndromes and in arterial thrombosis, and its potential as a target for design of antithrombotic agents.

key words

Platelets
Agonists
Receptor
Arterial thrombosis
Aspirin

Introdução

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos anucleados presentes no sangue e produzidos a partir de megacariócitos na medula óssea^(45, 55, 96). Do total das plaquetas presentes no organismo humano, 70% estão presentes na circulação e 30% no baço, permanecendo na circulação durante uma média de dez dias, quando são retiradas

pelas células reticuloendoteliais do baço e do fígado^(4, 45, 96). As plaquetas estão diretamente envolvidas em diversas patologias importantes, sejam estas síndromes ou quadros trombóticos graves como a trombose arterial^(27, 35). Neste artigo revisaremos as bases dos mecanismos plaquetários de forma a ressaltar essas células como alvos terapêuticos para o desenho de novos antitrombóticos.

1. Professora-adjunta III do Departamento de Biologia Celular e Molecular do Instituto de Biologia, Centro de Estudos Gerais (CEG) da Universidade Federal Fluminense (UFF); coordenadora do Laboratório de Antibióticos, Bioquímica e Modelagem Molecular (LABioMol) do Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, CEG/UFF.

2. Professores-adjunto IV do Departamento de Biologia Celular e Molecular do Instituto de Biologia, CEG/UFF.

3. Alunos dos cursos de pós-graduação em Patologia e em Neuroimunologia da UFF.

4. Professor-adjunto III da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Plaquetas: como são?

Apesar de sua aparência simples no esfregaço de sangue periférico, onde se mostram como fragmentos citoplasmáticos de aspecto granular, as plaquetas possuem uma estrutura discóide complexa (**Figura 1**)^(4, 37). Sua estrutura interna é dividida em quatro zonas:

1. Zona periférica – Essa região inclui as membranas externa e interna (trilaminar) e estruturas estreitamente associadas, como o sistema de canais conectados à superfície, denominado sistema canicular aberto (SCA) (Figura 1)⁽³⁷⁾. O SCA é responsável pela troca de moléculas com o meio externo, na qual ocorre uma significativa liberação de diversas moléculas após a ativação das plaquetas (secreção plaquetária)⁽³⁷⁾. De acordo com a literatura, tal reação de liberação do conteúdo dos grânulos ocorre sem lise celular e com manutenção da integridade da membrana, apesar de haver mudanças nas suas características^(22, 23). A membrana da plaqueta é rica em glicoproteínas, que servem como alvos para as reações de adesão, ou como receptores, desencadeando a ativação plaquetária^(41, 113). Na zona periférica se encontram também os fosfolipídios de membrana, importantes para a coagulação, visto que proporcionam a superfície sobre a qual agem e/ou serão ativados alguns de seus fatores. Esses fosfolipídios servem também como substrato para produção de ácido araquidônico e consequentemente de tromboxano A₂ (TXA₂), potente agonista da agregação plaquetária e da vasoconstrição. A membrana da plaqueta estimulada por sinais da superfície pode gerar ainda diversos sinais químicos internos^(10, 23, 32).

2. Zona sol-gel – Essa região se encontra abaixo da zona periférica e é composta de: a) citoesqueleto, que fornece a sustentação para a forma discóide da plaqueta; e b) do sistema contrátil, que, sob ativação, permite a mudança da forma discóide, o prolongamento de pseudópodos, a contração interna e a liberação dos constituintes granulares. Os grânulos plaquetários contêm entre 30% e 50% do conteúdo de proteína total da plaqueta⁽³⁷⁾. De forma interessante, o citoesqueleto parece orientar a centralização dos grânulos para a liberação do conteúdo através do sistema canicular aberto na zona periférica. Esse evento difere da exocitose clássica por células nucleadas, que ocorre diretamente via fusão de grânulos com a membrana plasmática^(77, 103). Apesar da mudança de forma das plaquetas, a literatura tem sugerido que a fusão de membrana seria um evento crítico também para elas^(23, 87). Essa fusão ocorreria através da atividade de uma maquinaria formada por proteínas da superfamília denominada proteínas NEM-sensíveis ligadas a receptores protéicos (SNARE)^(22, 41, 37). Além disso, um

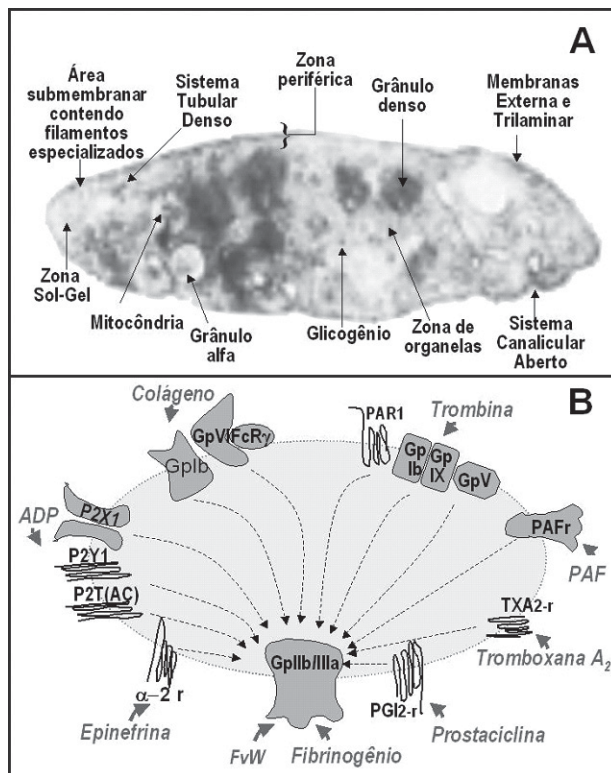


Figura 1 – A plaqueta. A: componentes e organização; B: receptores (preto) e agonistas (cinza)

conjunto de proteínas chaperonas que se ligam e modulam a atividade das proteínas SNARE também atuaria facilitando a fusão membranar^(41, 87).

3. Zona de organelas – Essa região consiste basicamente de: a) grânulos alfa, que contêm proteínas adesivas, fator de von Willebrand (FvW), trombospondina, vitronectina, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator IV plaquetário, fatores da coagulação (ex: fator XI) e inibidor do ativador plasminogênio; b) grânulos densos, que contêm trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP), serotonina, cálcio; e c) componentes celulares, tais como lisossomos e mitocôndria, que além de conter ATP e ADP também participam dos processos metabólicos da plaqueta e armazenam enzimas e outras moléculas críticas para a função plaquetária^(22, 37).

4. Sistema membranar – Essa zona inclui o sistema tubular denso, onde se encontra concentrado o cálcio, importante para desencadear os eventos contráteis, e os sistemas enzimáticos, envolvidos na produção de síntese de prostaglandinas⁽³⁷⁾.

A plaqueta e o sistema hemostático

O sistema hemostático é intrinsecamente responsável pela manutenção do fluxo sanguíneo e da integridade

vascular, visto que é capaz de formar um tampão sobre uma superfície danificada do endotélio vascular quando este sofre uma injúria. Dessa forma, a hemostasia minimiza a perda sanguínea e promove a restauração da arquitetura vascular normal (**Figura 2**)^(7, 18, 99).

A literatura tem demonstrado que a formação desse tampão é um processo multicelular envolvendo não só as plaquetas, mas também outras células sanguíneas, como neutrófilos e o próprio endotélio vascular^(4, 18, 99). O sistema hemostático é constituído por:

- plaquetas – formam um agregado plaquetário sobre o endotélio alterado para iniciar a formação do tampão hemostático;
- fatores de coagulação – pró-enzimas produzidas pelo fígado que através da cascata de coagulação são ativadas e resultam na formação de fibrina. Assim ocorre o depósito dos polímeros de fibrina sobre o agregado plaquetário;
- fatores fibrinolíticos – enzimas que dissolvem o coágulo para controle de sua extensão, após a cobertura da área lesada;
- inibidores protéicos – regulam os fatores da coagulação, ajudando a orientar a formação do tampão para a área injuriada, prevenindo a propagação anormal;
- células endoteliais – revestem os vasos sanguíneos e, no estado normal, contribuem para a manutenção do fluxo sanguíneo. No estado alterado, o endotélio estimula a agregação plaquetária, a coagulação, a ativação dos inibidores e a fibrinólise. Cabe ressaltar que sob condições fisiológicas as plaquetas não interagem com as paredes do vaso, visto que somente mediante uma injúria vascular as propriedades antitrombóticas do endotélio são alteradas e as moléculas adesivas do subendotélio são expostas^(4, 18, 99). A adesão plaquetária à parede do vaso danificado é a primeira etapa da hemostasia que envolve a participação da

plaqueta^(4, 44, 99). Quando a integridade do sistema vascular é rompida, as plaquetas interagem com os componentes da matriz extracelular expostos na parede do vaso sanguíneo. A plaqueta apresenta diversos receptores de adesão, entre eles o complexo glicoprotéico (glicoproteína [Gp]) Ib-IX-V e GpVI, que a liga respectivamente ao fator de von Willebrand (FvW) e ao colágeno, uma proteína importante da matriz extracelular (Figura 1)^(2, 41, 44). Essas moléculas são consideradas responsáveis pela regulação primária da adesão plaquetária⁽⁴⁾.

No contato inicial, sob condições de lesão em artérias e/ou pequenas arteríolas, o complexo plaquetário GpIb/V/IX, ou a integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ em sua conformação ativada, associado ao colágeno da superfície subendotelial, liga-se ao FvW, possibilitando a adesão de outras plaquetas circulantes na superfície vascular. Assim será formada uma monocamada de células que cobrirá o tecido exposto (Figuras 1 e 2)^(2, 10, 19, 27, 32, 51, 72, 92-94, 97).

A ligação do FvW à GpIb/V/IX induz a secreção de ADP, que aumenta a afinidade da integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ pelo FvW. Esses eventos aumentam a adesão plaquetária e contribuem para a formação posterior de um agregado plaquetário pela ligação ao fibrinogênio^(5, 10, 32, 51, 59, 66, 70, 72, 114).

Outro receptor de colágeno é um complexo multiprotéico formado pela GpVI e pelo receptor Fc de cadeia γ (FcR γ) (Figura 1)^(19, 30, 31, 67, 105). Estudos apontam esse complexo como o principal receptor envolvido na ativação plaquetária via colágeno⁽⁵⁴⁾. A exposição de plaquetas ao colágeno resulta no agrupamento da GpVI, que ativa a fosforilação da tirosina do FcR γ ^(30, 31, 41, 83, 105).

A literatura ainda descreve outros receptores de colágeno como o GpIb e o $\alpha_2\beta_1$, este último considerado secundário para adesão plaquetária (Figura 1)^(5, 41, 66). A sua interação com o colágeno ativa a plaqueta, é crítica para o processo de exposição do receptor de fibrinogênio GpIIb/IIIa e para proporcionar o contato das plaquetas circulantes com aquelas já aderidas à superfície endotelial^(24, 27, 68). A integrina $\alpha_2\beta_1$ permite ainda que o colágeno interaja com um segundo receptor de colágeno (GpVI) que pode ativar a sinalização dependente de tirosina quinase⁽³²⁾. Vários estudos sugerem que $\alpha_2\beta_1$ e GpVI têm papéis complementares, onde $\alpha_2\beta_1$ é capaz de se ligar ao colágeno antes da ativação plaquetária; e a GpVI seria necessária para formação do trombo^(41, 54). De forma interessante, a inibição e a depleção da GpVI *in vivo* são bem toleradas em camundongos, o que estimulou o estudo de terapias antitrombóticas direcionadas para o receptor GpVI como novas perspectivas para o tratamento antitrombótico^(32, 54).

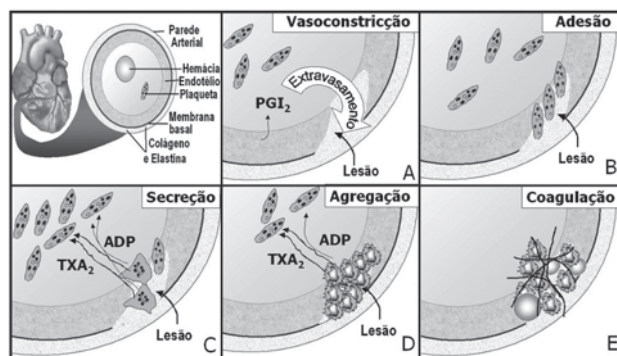


Figura 2 – Participação das plaquetas no processo de hemostasia durante a formação do tampão. A: processo de injúria (lesão) com exposição de agonistas plaquetários; B: adesão das plaquetas ao subendotélio; C: mudança de forma da plaqueta com secreção dos grânulos; D: ligação plaqueta/plaqueta; E: depósito da fibrina sobre o tampão plaquetário

Outros receptores de adesão, incluindo o receptor de fibronectina $\alpha_5\beta_1$ e o receptor de laminina $\alpha_6\beta_1$ também estimulam e sustentam a adesão plaquetária. De forma organizada, a ligação do FvW à Gplb estimula a mobilização de cálcio, a ativação das proteínases C e G, fosfoinositídeo 3-quinase e rearranjos do citoesqueleto^(47, 56, 64, 66, 70, 72, 103, 112, 114).

A adesão plaquetária induz uma rápida transdução de sinal, desencadeando uma série de eventos (ativação plaquetária, mudanças no citoesqueleto associadas à alteração na conformação, expansão de pseudópodos, contração e secreção dos conteúdos granulares e ativação de integritinas) que sustentarão a adesão e a subsequente agregação plaquetária via receptor GpIIb/IIIa (Figuras 1 e 2)^(4, 22, 27, 33, 103). Após a adesão plaquetária, seja induzida pelo colágeno ou por outros agonistas, como trombina, fator ativador de plaquetas (PAF) e ADP, ocorre a secreção dos grânulos e a exposição da glicoproteína IIb/IIIa (GpIIb/IIIa)^(12, 22, 71, 82) (Figura 1). O receptor de fibrinogênio GpIIb/IIIa é particularmente importante na interação plaqueta/plaqueta^(27, 68, 82). Ele viabiliza a ligação de fibrinogênio ou FvW entre as plaquetas, o que permitirá a formação do agregado plaquetário^(26, 33, 41, 82).

Ambas, adesão e agregação plaquetárias, induzem sinalização intracelular que medeia várias respostas, como formação e secreção de serotonina, ADP e TXA_2 , que servem como amplificadores da resposta plaquetária e como agentes pró-trombóticos^(32, 71). Essas moléculas reforçam a vasoconstrição, com a diminuição do fluxo sanguíneo, a ativação plaquetária, que aumenta a afinidade das integritinas $\alpha IIb\beta_3$ e $\alpha_2\beta_1$ facilitando a formação do trombo, e também o aumento da adesão plaqueta/plaqueta e plaqueta/parede vascular^(32, 97).

Os eventos de vasoconstrição, adesão, secreção e agregação plaquetária são denominados hemostasia primária, enquanto o processo de hemostasia secundária é conhecido como coagulação^(18, 22, 44, 99).

O fator tecidual (FT) é um dos ativadores da coagulação *in vivo* que, ao ser expresso por monócitos ou células endoteliais após injúria, infecção ou exposição a lipopolissacarídeos/citocinas, forma um complexo ativo com o fator VIIa^(9, 61, 76). Esse complexo inicia os eventos de coagulação de ambas as vias, intrínseca (via de ativação do fator IX) e extrínseca (via de ativação do fator X), culminando na conversão da protrombina em trombina. A trombina cliva o fibrinogênio, resultando em polímeros de fibrina que rapidamente formam uma rede estável sobre o trombo plaquetário. De forma interessante, na ausência do fator

VIIa o tampão iniciado pelo FT não ocorre^(68, 76).

A regulação negativa das plaquetas é essencial para prevenir o processo de formação inespecífico de trombo denominado trombose. O papel do óxido nítrico e da prostaciclina no processo de regulação da função plaquetária está bem estabelecido, e sua interação com o endotélio é descrita na literatura como essencial^(8, 49, 85). A ativação plaquetária também pode ser inibida por sinalização, através da molécula de adesão PECAM-1, também conhecida como CD31^(1, 13, 32, 50, 79). Essa molécula estaria relacionada à inibição da sinalização quinase-dependente, também atuando sobre a ativação plaquetária mediada por Gplb e sobre as respostas envolvendo o $Fc\gamma RIIA$ ^(46, 86, 90, 101). Dessa forma, as interações entre PECAM-1 e as plaquetas restringem o crescimento do trombo através de mecanismos do tipo *feedback* negativo^(1, 13, 50).

A resposta pró-coagulante é contrabalançada por quatro principais sistemas anticoagulantes (antitrombina/heparina, trombomodulina/proteína C/proteína S, fibrinolítico e inibidor da via do fator tissular)^(61, 68, 84), alguns envolvendo diretamente a regulação plaquetária. Entre eles podemos citar principalmente o inibidor da via do fator tissular (TFPI), que depende das plaquetas ou as envolve diretamente. O TFPI é uma proteína inibitória do plasma que contém domínios do tipo Kunitz⁽⁸⁴⁾. Na presença do fator Xa, esse inibidor forma um complexo quaternário com o fator tissular e o fator XIIIa, na superfície das plaquetas na célula endotelial. A ativação do TFPI é dependente da geração do fator Xa, ou seja, da iniciação da coagulação. O TFPI pode ser afetado pela elastase liberada de neutrófilos ativados, sempre que houver coagulação e inflamação ocorrendo simultaneamente^(43, 60, 62). As plaquetas e as células endoteliais são as fontes primárias de TFPI e o liberam devido à ativação por trombina ou outros agonistas, ou devido à administração de heparina, quando os níveis de TFPI circulante crescem de duas a quatro vezes⁽⁸⁴⁾.

Síndromes e patologias relacionadas a plaquetas

Exames laboratoriais têm sido usados para identificar e classificar os defeitos na hemostasia e na função plaquetária^(18, 53, 57, 100). Normalmente se utilizam o hemograma e o coagulograma completos com esfregaço do sangue periférico e a verificação da morfologia das plaquetas, analisando também as séries branca e vermelha do sangue. Outros testes são o tempo de sangramento, teste único *in vivo* para acessar função plaquetária; e o teste de agregação

plaquetária, que utiliza uma série de agonistas e o plasma rico em plaquetas (PRP) do paciente. Os agonistas estimulam a agregação, provocando uma mudança de turbidez do PRP, que no agregômetro gera uma curva que indica a transmissão de luz por unidade de tempo (**Figura 3**). O padrão obtido usualmente permite diagnosticar e identificar a respectiva deficiência onde a ausência do perfil de agregação a denota^(53, 57, 100). Uma nova versão do agregômetro recentemente produzida é o Plateletworks (Helena, Beaumont, EUA) criado para determinar o nível de agregação plaquetária (número de plaquetas e atividade) durante procedimentos de intervenção cirúrgica cardíaca⁽⁵³⁾.

O PFA-100 (PFA-100, Dade Behring, Marburg, Alemanha) e o Ultegra (Accumetrics, San Diego, EUA) também têm sido utilizados para a determinação da função plaquetária, visto que eliminam em grande parte os fatores interferentes observados na agregometria convencional, podendo ser realizados de forma fidedigna para identificar corretamente pacientes com resistência a aspirina, clopidogrel e inibidores de Gp IIb/IIIa. O analisador da função plaquetária PFA-100 (Platelet Function Analyzer – PFA-100) é um aparelho que verifica a função plaquetária *in vitro* sob alto fluxo ($5.000-6.000s^{-1}$), simulando as condições de arteríolas. É um modelo para avaliação rápida e simples da função plaquetária que utiliza dois agonistas (geralmente colágeno/ADP ou colágeno/epinefrina) e apresenta grandes sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. O aparelho mede o tempo necessário para a formação de um tampão plaquetário na abertura de uma membrana sintética, permitindo determinar quantitativamente o nível de função plaquetária. Essa metodologia não é afetada pela presença

de heparina, mas varia sob baixos níveis de plaqueta e hematócrito, se aplicando principalmente à detecção de disfunções plaquetárias intrínsecas, doença de von Willebrand e da ação de agentes antiplaquetários⁽⁵³⁾. De forma diferente, o Ultegra é um método turbidimétrico que utiliza o sangue total e micropartículas de poliestireno contendo fibrinogênio para verificação da capacidade das plaquetas ativadas de se ligarem ao fibrinogênio. Sua utilização é específica para a verificação dos efeitos de antagonistas da GpIIb/IIIa (p. ex.: abciximab, tirofiban ou eptifibatide) e para a monitoração de pacientes em unidades de tratamento intensivo. Ele não é aplicável no caso de uso de drogas, como aspirina, clopidogrel e ticlopidina, ou para a detecção de distúrbios plaquetários. Outras metodologias mais caras também podem ser utilizadas para a detecção de patologias plaquetárias: a citometria de fluxo, a microscopia eletrônica e a imunoelektroforese⁽⁵³⁾, por exemplo.

Anormalidades no número ou na composição das plaquetas podem iniciar um desequilíbrio nas fases iniciais do sistema hemostático, resultando numa tendência a sangramento e no comprometimento da função plaquetária^(38, 88). Entre as síndromes e patologias relacionadas às plaquetas podemos citar aquelas envolvendo defeitos nos receptores plaquetários, distúrbios granulares, deficiências de secreção, anormalidades em fatores plasmáticos que afetam o funcionamento plaquetário e anormalidades na interação plaquetária com fatores de coagulação.

Defeitos nos receptores plaquetários

Trombastenia de Glanzmann – Caracterizada pela ausência ou diminuição nos receptores GpIIb-IIIa, mas sem alteração de número, tamanho, forma e tempo de vida de plaquetas. Essa síndrome apresenta caráter autossômico recessivo, com histórico familiar de sangramento geralmente negativo. Homens e mulheres podem ser igualmente afetados, apresentando o tempo de sangramento invariavelmente prolongado, com retração do coágulo em nível fraco ou ausente. Apesar de o processo de adesão às áreas afetadas do endotélio ser aparentemente normal, estudos de função plaquetária revelam a agregação somente perante a ristocetina e mostram deficiência no recrutamento de outras plaquetas para o tampão hemostático primário. O tratamento utilizado é a transfusão de plaquetas, sendo a *aloimunização* plaquetária uma séria consequência desse procedimento^(18, 24, 40, 59, 78, 104, 107).

Síndrome de Bernard-Soulier – É caracterizada por plaquetas maiores, mas em menor número, tempo de sangramento prolongado e agregação diante da ristocetina

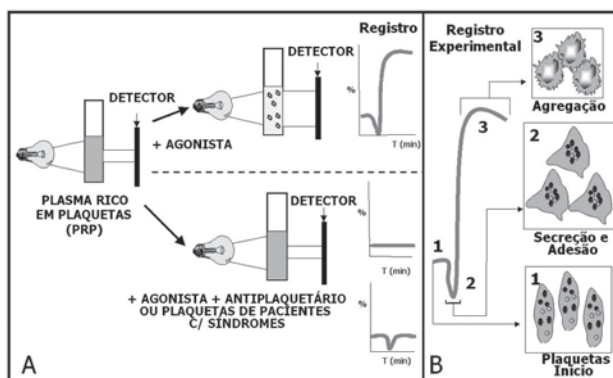


Figura 3 – Ensaio de agregação plaquetária no agregômetro (A) e seu registro experimental (B). A: plaquetas normais (acima), deficientes ou tratadas com antagonistas plaquetários (abaixo) são testadas com agonistas, como ADP, trombina e ácido araquidônico, resultando em diferentes registros; B: registro experimental de um ensaio no agregômetro utilizando plaquetas normais, mostrando o início do experimento (1), após a adição do agonista, quando ocorre a mudança de forma da plaqueta (*shape change*) com posterior secreção dos grânulos (2) e, finalmente, a agregação plaquetária, quando ocorre a ligação plaqueta/plaqueta (3)

anormal. Esse quadro se deve a decréscimo ou ausência de receptores para o FvW (GpIb-IX). A doença é autossômica recessiva, afeta homens e mulheres igualmente e em geral aparece sem histórico familiar de sangramento. Os sintomas são variáveis e por isso o histórico familiar é um guia inadequado para excluir o diagnóstico. O tratamento com transfusão plaquetária é utilizado terapêuticamente, podendo também resultar em *aloimunização*^(18, 29, 102).

Desordens granulares

São desordens relacionadas a um grupo heterogêneo de doenças nas quais existe uma anormalidade na capacidade das plaquetas em estocar moléculas dentro dos grânulos⁽²²⁾. Essas doenças podem ser associadas ou não a desordens sistêmicas. Entre as desordens de estocagem associadas a desordens sistêmicas podemos citar:

Síndrome de Hermansky-Pudlak – Desordem autossômica recessiva, associada ao albinismo oculocutâneo e caracterizada pelo sangramento desordenado por tempo prolongado. Os grânulos densos apresentam anormalidades com ausência de ADP de origem metabólica nas plaquetas. Estudos das funções plaquetárias mostram agregação deficiente diante do colágeno^(48, 106, 110).

Síndrome de Chediak-Higashi – Rara desordem autossômica recessiva caracterizada por grânulos grandes e anormais, mas similares aos encontrados em melanócitos, leucócitos e fibroblastos. Está associada ao albinismo oculocutâneo parcial, com freqüente recorrência de infecções piogênicas e tempo de sangramento prolongado. Nessa deficiência ocorre um decréscimo do número de grânulos densos e agregação anormal associada a uma tendência ao sangramento, mas com manutenção do número normal de plaquetas⁽³⁶⁾.

Síndrome de Wiskott-Aldrich – Rara desordem recessiva relacionada ao cromossomo X e caracterizada por trombocitopenia com presença de plaquetas menores. Há sangramento em associação ao funcionamento anormal e queda do número das plaquetas. Em alguns pacientes essa síndrome é descrita como uma deficiência de estocagem. Pacientes afetados possuem histórico de infecções recorrentes, eczema em exames físicos e testes laboratoriais que revelam a ausência de isoemaglutamina e deficiências imunológicas associadas. O tratamento do sangramento agudo consiste em transfusão de plaquetas, sendo o transplante de medula óssea considerado possível tratamento definitivo para esses pacientes^(15, 63).

Entre as desordens de estocagem não-associadas à desordem sistêmica podemos citar:

Síndrome da plaqueta cinza – Caracterizada pela deficiência de proteínas nos grânulos alfa, que ocorre tanto em plaquetas quanto nos megacariócitos. Entre essas proteínas estão fator IV plaquetário, β -tromboglobulina, fibrinogênio e fator de crescimento derivado da plaqueta. Por causa dessa deficiência, a zona periférica se mostra cinza e larga. Comumente, nos estudos da função plaquetária há uma deficiência na agregação induzida por trombina e a transfusão plaquetária pode ser necessária em sangramentos severos⁽⁷⁵⁾.

Desordem de Quebec – Desordem autossômica dominante que está associada à deficiência da agregação ante a epinefrina. Particularmente, as plaquetas apresentam um defeito na lise do conteúdo protéico dos grânulos alfa e na multimerina α -granular, uma proteína ligada ao fator V dentro do grânulo, conduzindo a um decréscimo do conteúdo desta e de outras proteínas, como o fibrinogênio e o FvW⁽⁷⁵⁾.

Deficiências de secreção

Maior grupo de deficiências do funcionamento das plaquetas, composto de desordens heterogêneas causadas por anormalidades na transdução de sinal de membrana, vias metabólicas, nos mecanismos de secreção ou nas estruturas envolvidas diretamente na secreção do conteúdo granular após a ativação plaquetária⁽²²⁾. Essas deficiências estão associadas ao tempo de sangramento prolongado e a um perfil *in vitro* de agregação anormal diante de ADP, epinefrina e colágeno, com onda secundária ausente ou imperceptível. Nessa síndrome há um significativo comprometimento na liberação do ADP, apesar de os conteúdos granulares serem normais. Muitos pacientes com liberação deficiente podem ser tratados com DDAVP/Stimate®, um análogo sintético da vasopressina⁽⁷⁵⁾.

Anormalidades em fatores plasmáticos que afetam o funcionamento plaquetário

Desordem de von Willebrand – Deficiência na produção do fator de von Willebrand que provoca sangramento mucocutâneo. A desordem possui uma característica dominante autossômica que afeta igualmente ambos os sexos. Entretanto, observa-se que essa patologia pode ser de origem congênita ou adquirida, visto que a estenose aórtica, bem como quaisquer lesões vasculares que aumentem o *shear stress* da parede dos vasos arteriais, pode levar a um distúrbio de von Willebrand por fragmentação da estrutura multimérica dessa molécula. Anormalidades no fator VIII,

nos antígenos e na atividade do FvW são observadas na análise dos fatores da coagulação^(21, 74).

Afibrinogenemia – Rara desordem recessiva autossômica, na qual existem níveis de fibrinogênio extremamente baixos ou ausentes, e que também pode surgir de forma adquirida. Em alguns pacientes, o quadro pode estar associado a tempo de sangramento prolongado, decréscimo do número de plaquetas e perfil anormal de agregação plaquetária. A ausência ou severa deficiência de fibrinogênio no plasma leva ao comprometimento da interação plaqueta/plaqueta⁽⁶⁰⁾.

Anormalidades na interação plaquetária com fatores de coagulação

Síndrome de Scott – Nessa síndrome as plaquetas possuem uma anormalidade na expressão da fosfatidilserina da membrana plasmática. Sem esse fosfolípido há um comprometimento da ligação dos complexos de FVa e X e fatores VIIIa e IXa, resultando em uma ativação deficiente do fator X e da protrombina, bem como uma diminuição da formação de fibrina dependente de plaqueta e da atividade do fator III⁽²¹⁾.

Existem ainda as doenças congênitas envolvendo várias macrotrombocitopenias, como as síndromes de May-Hegglin, de Fechtner, de Sebastian e de Epstein, que envolvem mutações no gene MYH9 e que recentemente foram consideradas uma única doença com espectro clínico heterogêneo, variando de uma leve macrotrombocitopenia e presença de inclusões em leucócitos até formas severas com perda de audição, catarata e/ou micro-hematúria que podem levar a falência renal⁽⁶⁾. Outras síndromes podem envolver anormalidades na expressão de glicoproteínas de membrana como GpIbβ (síndrome velocardiocárdica), GpIV (anomalia GpIV), GpIa, Ic e IIa (síndrome da insuficiência mitral) e a calpaína (síndrome da plaqueta Montreal). Existem ainda a macrotrombocitopenia hereditária e a mediterrânea, que ainda necessitam ter sua patogenia determinada^(3, 53).

Trombose arterial x tratamento

Além das complicações de caráter hereditário, vale ressaltar que as plaquetas desempenham papel importante na aterogênese e no desenvolvimento das complicações ditas isquêmicas, como a trombose coronária arterial e outras doenças cardiovasculares, como síncope, doença vascular periférica e quadros relacionados com diabetes *mellitus*.

Todas essas patologias envolvem a oclusão vascular com participação direta das plaquetas^(25, 65, 73, 92, 95, 98, 108, 109).

Define-se como oclusão arterial aguda o bloqueio da passagem do sangue por uma artéria terminal, ocasionando uma insuficiência sangüínea tissular com perturbações do metabolismo celular nas áreas afetadas. O quadro clínico isquêmico poderá ter maiores ou menores conseqüências, dependendo da artéria ocluída, da intensidade da isquemia, do tempo de evolução do quadro isquêmico e da presença de circulação colateral de suplência. De acordo com a área comprometida serão determinados o déficit circulatório, sua viabilidade e o risco de vida do paciente. Devido a esse risco, a determinação da causa e a desobstrução do vaso deverão ser feitas o mais precocemente possível, para que se obtenha a reversão do quadro e resultados favoráveis nas situações específicas^(27, 35).

No caso da trombose venosa há uma associação tradicional com o *coágulo vermelho* que apresenta hemácias e grande quantidade de fibrina. Esse processo trombótico é geralmente iniciado pela ativação da cascata de coagulação. Em contraste, o trombo arterial, aderido a lesões escleróticas, é rico em plaquetas, tendo aparência de um *trombo branco*. Esse conceito simples tem importantes implicações terapêuticas. O *trombo vermelho* é tradicionalmente tratado com anticoagulantes, como a heparina e a warfarina, devido à relação direta com a coagulação; a inibição plaquetária tem sido o alvo utilizado no tratamento da síndrome coronária aguda causada pelo *trombo branco*^(91, 95).

Atualmente, muitas drogas têm sido utilizadas como agentes antiplaquetários no tratamento da trombose arterial. O medicamento mais comumente utilizado ainda é o ácido acetilsalicílico (aspirina), embora se possa também prescrever outros agentes orais, como ticlopidina, clopidrogel, ou dipiridamol, ou drogas antiplaquetárias intravenosas, como abciximab ou eptifibatibe, enquanto o paciente está sob procedimento angioplástico^(16, 17, 20, 28). Cada agente afeta as plaquetas de modo diferenciado, podendo apresentar efeitos colaterais únicos. Contudo, todos causam redução em ambos os processos (de adesão plaquetária e de formação do trombo)^(35, 57).

As drogas antiplaquetárias são diferentes dos anticoagulantes, como a warfarina ou a heparina. Os anticoagulantes atuam especificamente sobre os fatores da coagulação e sua produção, não afetando diretamente as plaquetas. Portanto, se o paciente estiver tomando um anticoagulante, sua substituição por um outro medicamento com característica antiplaquetária, como é o caso da aspirina, é extremamente discutível⁽⁵⁷⁾.

Os agentes antiplaquetários são utilizados para tratar diversos problemas cardiovasculares. No caso da aspirina, ela pode ser recomendada para prevenir infarto agudo do miocárdio. A aspirina inibe a agregação plaquetária, agindo de forma preventiva nos eventos trombóticos cardiovasculares, tornando-se o medicamento cardiovascular mais utilizado devido tanto à relação risco/benefício quanto à custo/benefício. A aspirina e outros agentes antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) inibem o metabolismo do ácido araquidônico através da inativação da enzima cicloxigenase^(14, 57) (**Figura 4**).

Normalmente, o ácido araquidônico, gerado a partir dos fosfolipídios de membrana, tem acesso ao sítio catalítico da cicloxigenase plaquetária (COX-1), sendo convertido em prostaglandina (PGG₂) (Figura 4). Posteriormente a PGG₂ é catalisada a TXA₂ pela tromboxano sintase, promovendo vasoconstrição e agregação plaquetária (Figura 4). A aspirina age através da acetilação irreversível do resíduo de serina na posição 530 no interior do canal hidrofóbico, bloqueando assim o acesso do ácido araquidônico ao sítio catalítico e evitando o metabolismo do mesmo durante o tempo de vida da plaqueta (Figura 4)^(11, 14). Outros AINES de baixa seletividade são reversíveis, agindo como inibidores competitivos do sítio catalítico da cicloxigenase (COX), inibindo a agregação plaquetária somente durante o intervalo das doses^(7, 14).

O uso da aspirina para prevenção primária em pacientes de baixo risco continua controverso devido ao risco de sangramento gastrointestinal e episódios hemorrágicos, que podem não compensar os benefícios na prevenção de eventos cardiovasculares raros⁽⁸¹⁾. Contudo, em pacientes cujo risco estimado para um evento cardiovascular seja maior do que 1% ao ano, a terapia com aspirina para proteção cardiovascular é uma recomendação indicada^(7, 57, 111). Assim, a utilização da aspirina se tornou rotineira na prática

clínica em trombose arterial (doenças arteriais cardíacas e cerebrais), associada a medicamentos para prevenção da irritação da mucosa gástrica (por exemplo: drogas inibidoras de H₂).

Os inibidores seletivos da COX₂, enzima envolvida diretamente em processos inflamatórios que são rotineiramente utilizados para o tratamento de artrite devido à ausência de toxicidade gástrica, não são substitutos aceitáveis para a aspirina em pacientes necessitando de terapia antiplaquetária para proteção cardíaca⁽⁷⁾. Esses inibidores não atuam sobre a produção de TXA₂ e apresentam riscos cardiovasculares importantes devido a seus efeitos colaterais sobre o endotélio⁽³⁹⁾.

Ao limitar a habilidade das plaquetas de se agregarem, as drogas antiplaquetárias ajudam a prevenir a formação de trombos que podem bloquear os vasos sanguíneos e levar ao infarto agudo do miocárdio ou ao acidente vascular cerebral (AVC). Em pacientes de alto risco, a aspirina diminui o risco do primeiro infarto agudo do miocárdio em até 20%, podendo ainda reduzir o risco de uma recorrência em cerca de 30%. Similarmente, um agente antiplaquetário pode reduzir o risco de AVC recorrente ou acidente isquêmico transitório, podendo ainda prevenir a oclusão de vasos que foram previamente desobstruídos com *stent*. Novas evidências clínicas e experimentais sugerem que agentes antiplaquetários, desprezados no tratamento da embolia pulmonar aguda, podem prevenir a iniciação e a propagação do trombo venoso, minimizando as conseqüências adversas fisiológicas da embolia pulmonar aguda⁽⁹⁵⁾.

A resistência à aspirina tem sido descrita na literatura e pode ser definida, em termos laboratoriais, como uma ineficiência da aspirina em inibir a produção de TXA₂ ou função plaquetária dependente de TXA₂ (p. ex.: agregação plaquetária); ou, em termos clínicos, como a ineficiência da aspirina em prevenir eventos isquêmicos e ateroscleróticos em pacientes usuários de aspirina⁽³⁴⁾. No ambiente hospitalar essa síndrome de não-responsividade à aspirina refere-se principalmente à ineficiência do tratamento utilizando a aspirina, já que, apesar de a aspirina reduzir a trombose arterial (10% a 20%), alguns dos pacientes tratados ainda sofrem pelo menos um evento trombótico arterial recorrente durante tratamentos de longo prazo^(7, 42, 69). Essa resistência está significativamente associada ao aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente cerebrovascular e morte em comparações entre pacientes *resistentes* e aqueles *sensíveis* à aspirina (24% vs. 10%)⁽³⁾.

A resistência à aspirina pode ser resultante de diversos fatores, incluindo: a) variação na biodisponibilidade da aspi-

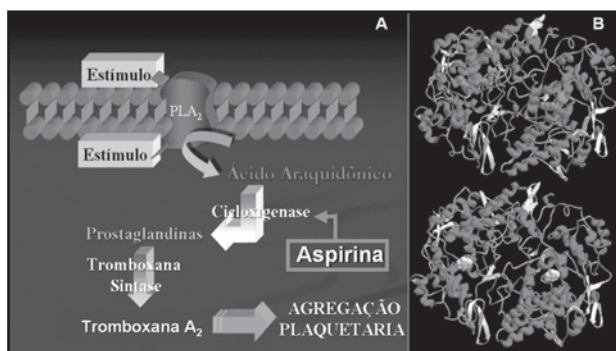


Figura 4 – A aspirina e seu mecanismo. A: produção de ácido araquidônico e tromboxano A₂ via metabólica-alvo da aspirina; B: enzima cicloxigenase ligada ao ácido araquidônico (acima) e à aspirina (abaixo)

rina; b) disfunção plaquetária; c) polimorfismos; d) interação plaquetária com outras células sanguíneas ou moléculas; e) uso de cigarro; f) excesso de adrenalina resultante de exercícios físicos ou estresse mental; h) biossíntese de PGF₂ α ; i) aumento de sensibilidade ao colágeno; e j) interferência de outros AINEs, verificada em alguns doentes que possuem níveis mais altos de tromboxano urinário, apesar de submetidos a altas doses de aspirina^(3, 80). O processo de resistência não é exclusivo da aspirina, sendo também descrito para o clopidogrel, que é uma tienopiridina com mecanismo de ação totalmente diferente da aspirina, e para inibidores de glicoproteína IIb/IIIa.

Similar ao tratamento utilizando anticoagulantes, a terapia antiplaquetária tem requerido monitoramento de testes sanguíneos, devido principalmente à elevada incidência de não-responsividade à aspirina e ao clopidogrel, bem como à resistência a inibidores de glicoproteína IIb/IIIa, que chega a atingir 25% dos pacientes submetidos a angioplastia percutânea intraluminal e que contribui para o *outcome* desses *stents*, participando da gênese

da trombose *intrastent* e do baixo rendimento desses procedimentos⁽⁵⁷⁾. Os pesquisadores ainda trabalham no desenvolvimento de testes e *kits* que avaliem mais facilmente as funções plaquetárias e a resposta individual aos agentes antiplaquetários. Dessa forma, a escolha de um tratamento com maior eficiência e menor efeito colateral para um determinado paciente poderá ser realizada com maior precisão^(3, 42, 52, 58, 73, 80).

Conclusão

Apesar de anucleadas, as plaquetas apresentam um papel importante no processo de hemostasia, estando diretamente envolvidas em diversas síndromes e patologias. Assim, a plaqueta, seus receptores e enzimas se tornam alvos terapêuticos importantes no desenho de novos medicamentos para o tratamento de processos patológicos de alta incidência, como a trombose arterial. Portanto, uma compreensão mais abrangente da plaqueta, suas funções, sistemas e moléculas ainda se faz necessária.

Referências

1. ALBELDA, S. M. et al. Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31): a novel vascular cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol*, v. 114, n. 5, p. 1059-68, 1991.
2. ALEVRIADOU, B. R. et al. Real-time analysis of shear-dependent thrombus formation and its blockade by inhibitors of von Willebrand-factor binding to platelets. *Blood*, v. 81, n.5, p. 1263-66, 1993.
3. ALTMAN, R. et al. The antithrombotic profile of aspirin. Aspirin resistance, or simply failure? *Thromb J*, v. 2, p. 1-8, 2004.
4. ANDREWS, R. K.; BERNDT, M. C. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res*, v. 114, n. 5, p. 447-53, 2004.
5. ASAZUMA, N. et al. Glycoprotein Ib von Willebrand factor interactions activate tyrosine kinases in human platelets. *Blood*, v. 90, n. 12, p. 4789-98, 1997.
6. BALDUINI, C. L.; IOLASCON, A.; SAVOIA, A. Inherited thrombocytopenias from genes to therapy. *Haematologica*, v. 87, n. 8, p. 860-80, 2002.
7. BATES, E. R.; LAU, W. C. Controversies in antiplatelet therapy for patients with cardiovascular disease. *Circulation*, v. 111, n. 7, p. 267-71, 2005.
8. BRYAN, R. M. et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a cousin to nitric oxide and prostacyclin. *Anesthesiology*, v. 102, n. 6, p. 1261-67, 2005.
9. BRYANT, A. E. Biology and pathogenesis of thrombosis and procoagulant activity in invasive infections caused by group A *Streptococci* and *Clostridium perfringens*. *Clin Microbiol Rev*, v. 16, n. 3, p. 451-62, 2003.
10. CANOBBIO, I.; BALDUINI, C.; TORTI, M. Signalling through the platelet glycoprotein Ib-VIX complex. *Cell Signal*, v. 16, n. 12, p. 1329-34, 2004.
11. CATELLA-LAWSON, F. et al. Cyclo-oxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*, v. 345, p. 1809-17, 2001.
12. CICMIL, M. et al. Collagen, convulxin and thrombin stimulate aggregation-independent tyrosine phosphorylation of CD31 in platelets. Evidence for the involvement of Src family kinases. *J Biol Chem*, v. 275, p. 27339-47, 2000.
13. CICMIL, M. et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 signaling inhibits the activation of human platelets. *Blood*, v. 99, n. 1 p. 137-44, 2002.
14. CLELAND, J. G. Preventing atherosclerotic events with aspirin. *Br Med J*, v. 324, n. 7329, p. 103-5, 2002.
15. CUI, S. H. et al. A thiol proteinase inhibitor, E-64-d, corrects the abnormalities in concanavalin A cap formation and the lysosomal enzyme activity in leucocytes from patients with Chediak-Higashi syndrome by reversing the down-regulated protein kinase C activity. *Clin Exp Immunol*, v. 125, n. 2, p. 283-90, 2001.
16. CURTIN, R.; COX, D.; FITZGERALD, D. Clopidogrel and ticlopidine. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
17. EISERT, W. G. Dipyridamole. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
18. ERHARDTSEN, E. To general haemostasis: the evidence-based

- route. *Pathophysiol Haemost Thromb*, v. 32, n. 1, p. 47-52, 2002.
19. FARNDALE, R.W. et al. The role of collagen in thrombosis and haemostasis. *J Thromb Haemost*, v. 2, n. 1, p. 561-73, 2004.
 20. FARRÉ, A. L.; CAMELO, C.; CASADO, S. Nuevos mecanismos antiagregantes y vasodilatadores inducidos por la aspirina. *Nefrología*, v. 16, n. 4, p. 315-8, 1995.
 21. FAVALORO, E. J. et al. Von Willebrand disease: laboratory aspects of diagnosis and treatment. *Haemophilia*, v. 10, n. 4, p. 164-8, 2004.
 22. FLAUMENHAFT, R. Molecular basis of platelet granule secretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 23, n. 7, p. 1152-60, 2003.
 23. FURIE, B. C.; FLAUMENHAFT, R. A journey with platelet P-selectin: the molecular basis of granule secretion, signaling and cell adhesion. *Thromb Haemost*, v. 86, n. 1, p. 214-21, 2001.
 24. FURMAN, M. I. et al. Release of soluble CD40L from platelets is regulated by glycoprotein IIb/IIIa and actin polymerization. *J Am Col Card*, v. 43, n. 12, p. 2319-25, 2004.
 25. FUSTER, V. et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, v. 26, n. 4, p. 242-50, 1992.
 26. GAWAZ, M. et al. Ligand binding mediates integrin α IIb β 3 (platelet GP IIb/IIIa) dependent homotypic and heterotypic cell-cell interactions. *J Clin Invest*, v. 8, p. 1128-34, 1991.
 27. GAWAZ, M.; NEUMAN, F. J.; SCHÖMIG, A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease. Consequences for diagnosis and therapy. *Circulation*, v. 99, n. 1, p. 1-11, 1999.
 28. GEIGER, J. Inhibitors of platelet signal transduction as anti-aggregatory drugs. *Expert Opin Investig Drugs*, v. 10, p. 865-90, 2001.
 29. GHOSH, K. et al. Co-existence of Bernard Soulier syndrome and factor XI deficiency in a family: a unified pathology? *Platelets*, v. 16, n. 2, p. 85-9, 2005.
 30. GIBBINS, J. et al. Tyrosine phosphorylation of the Fc receptor gamma-chain in collagen-stimulated platelets. *J Biol Chem*, v. 271, n. 30, p. 18095-99, 1996.
 31. GIBBINS, J. M. et al. Glycoprotein VI is the collagen receptor in platelets, which underlies tyrosine phosphorylation of the Fc receptor γ -chain. *FEBS Letters*, v. 413, p. 255-59, 1997.
 32. GIBBINS, J. M. Platelet adhesion signaling and the regulation of thrombus formation. *J Cells Sci*, v. 117, p. 3415-25, 2004.
 33. GINSBERG, M. H.; LOFTUS, J. C. Platelets integrins. *Thromb Haemost*, v. 74, p. 352-9, 1995.
 34. GRAEME, J.; HANKEY, J.; EIKELBOOM, W. Aspirin resistance. *Lancet*, v. 367, 606-17, 2006.
 35. GREGG, D.; GLODSCHIMIDT-CLERMONT, P. Platelets and cardiovascular disease. *Circulation*, v. 108, p. 88-90, 2003.
 36. GUNAY-AYGUN, M.; HUIZING, M.; GAHL, W. A. Molecular defects that affect platelet dense granules. *Sem Thromb Haemost*, v. 30, n. 5, p. 537-47, 2004.
 37. HARTWIG, J. H. Platelet structure. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
 38. HATHAWAY, W. E.; GOODNIGHT, S. H. Hereditary platelet function defects. In: HATHAWAY, W. E.; GOODNIGHT, S. H. (Ed.) *Disorders of haemostasis and thrombosis: a clinical guide*. New York: Mc Graw-Hill, Inc. p. 94-102, 1993.
 39. HAYDEN, M. et al. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: a summary of the evidence for the U. S. Preventive Services Task Force. *Ann Int Med*, v. 136, p. 161-72, 2002.
 40. HE, S.; EKMAN, G. J.; HEDNER, U. The effect of platelets on fibrin gel structure formed in the presence of recombinant factor VIIIa in hemophilia plasma and in plasma from a patient with Glanzmann thrombasthenia. *J Thromb Haemost*, v. 3, n. 2, p. 272-9, 2005.
 41. HEEMSKERK, J. W. et al. Platelet collagen receptors and coagulation. A characteristic platelet response as possible target for antithrombotic treatment. *Trends Cardiovasc Med*, v. 15, n. 3, p. 86-92, 2005.
 42. HENNECKENS, C. H. et al. Terms and conditions: semantic complexity and aspirin resistance. *Circulation*, v. 110, p. 1706-8, 2004.
 43. HIGUCHI, D. T. et al. The effect of leukocyte elastase on tissue factor pathway inhibitor. *Blood*, v. 79, n. 7, p. 1712-19, 1992.
 44. ISRAELS, S. J. Platelet function in newborn. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
 45. ITALIANO, J. E.; HARTWIG, J. H. Megakaryocyte development and platelet formation. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
 46. JACKSON, D. E. et al. The protein-tyrosine phosphatase SHP-2 binds platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and forms a distinct signaling complex during platelet aggregation. *J Biol Chem*, v. 272, n. 11, p. 6986-93, 1997.
 47. JACKSON, S. P. et al. Adhesion receptor activation of phosphatidylinositol 3-kinase: Von-Willebrand-factor stimulates the cytoskeletal association and activation of phosphatidylinositol 3-kinase and Pp60(C-Src) in human platelets. *J Bio Chem*, v. 269, p. 27093-99, 1994.
 48. JELENSKA, M.; KOPEC, M.; BREDDIN, K. On the retraction of collagen and fibrin induced by normal, defective and modified platelets. *Haemostasis*, v. 15, n. 3, p. 169-75, 1985.
 49. JIN, R. C.; VOETSCH, B.; LOSCALZO, J. Endogenous mechanisms of inhibition of platelet function. *Microcirculation*, v. 12, n. 3, p. 247-58, 2005.
 50. JONES, K. L. et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 is a negative regulator of platelet-collagen interactions. *Blood*, v. 98, n. 5, p. 1456-63, 2001.
 51. KASIRER-FRIEDE, A. et al. Signaling through GP Ib-IX-V activates α IIb β 3 independently of other receptors. *Blood*, v. 103, n. 9, p. 3403-11, 2004.
 52. KNOEPP, S. M.; LAPOSATA, M. Aspirin resistance: moving forward with multiple definitions, different assays, and a clinical imperative. *Am J Clin Pathol*, v. 123, p. 125-32, 2005.
 53. KOTTKE-MARCHANT, K.; CORCORAN, G. Laboratory diagnosis of platelet disorder. *Arch Pathol Lab Med*, v. 126, n. 1, p. 133-46, 2002.
 54. KUIJPERS, M. J. E. et al. Complementary roles of platelets glycoprotein VI and integrin α 2 β 1 in collagen-induced thrombus formation in flowing whole blood *ex vivo*. *FASEB J*, v. 17, p. 372-94, 2003.
 55. LEVIN, J. The evolution of mammalian platelets. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.

56. LI, Z. Y. et al. A stimulatory role for cGMP-dependent protein kinase in platelet activation. *Cell*, v. 112, p. 77-86, 2003.
57. LIND, S. E. The bleeding time. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
58. LINDEN, M. D. et al. Application of flow cytometry to platelet disorders. *Sem Thromb Hemost*, v. 30, n. 5, p. 501-11, 2004.
59. LISMAN, T. et al. Recombinant factor VIIa enhances deposition of platelets with congenital or acquired alpha IIb beta 3 deficiency to endothelial cell matrix and collagen under conditions of flow via tissue factor-independent thrombin generation. *Blood*, v. 101, n. 5, p. 1864-70, 2003.
60. LOPEZ, J. A.; DEL CONDE, I.; SHRIMPSON, C. N. Receptors, rafts, and microvesicles in thrombosis and inflammation. *J Thromb Haemost*, v. 3, n. 8, p. 1737-44, 2005.
61. LOSCHE, W. Platelets and tissue factor. *Platelets*, v. 16, n. 6, p. 313-19, 2005.
62. LOUNES, K. C. et al. Fibrinogen A α : a homozygous case of dysfibrinogenemia (gamma-Asp(330) \rightarrow Val) characterized by a defective fibrin polymerization site «a». *Blood*, v. 96, n. 10, p. 3473-79, 2000.
63. MARONE, G. et al. The Wiskott-Aldrich syndrome: studies of platelets, basophils and polymorphonuclear leucocytes. *Br J Haematol*, v. 62, n. 4, p. 737-45, 1986.
64. MAZZUCATO, M. et al. Sequential cytoplasmic calcium signals in a 2-stage platelet activation process induced by the glycoprotein Ib alpha mechanoreceptor. *Blood*, v. 100, p. 2793-800, 2002.
65. MICHELSON, A. D. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation*, v. 110, p. 489-93, 2004.
66. MILNER, E. P.; ZHENG, Q.; KERMODE, J. C. Ristocetin-mediated interaction of human von Willebrand factor with platelet glycoprotein Ib evokes a transient calcium signal: observations with Fura-PE3. *J Lab Clin Med*, v. 131, n. 2, p. 49-62, 1998.
67. MOROI, M.; JUNG, S. M. Platelet glycoprotein VI: its structure and function (FC). *Thromb Res*, v. 114, n. 4, p. 221-33, 2004.
68. MOSESSON, M. W. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost*, v. 3, n. 8, p. 1894-04, 2005.
69. MUKHERJEE, D.; NISSEN, S. E.; TOPOL, E. J. Cardiovascular events and COX-2 inhibitors. *JAMA*, v. 286, p. 2808-13, 2001.
70. MUNDAY, A. D.; BERNDT, M. C.; MITCHELL, C. A. Phosphoinositide 3-kinase forms a complex with platelet membrane glycoprotein Ib-IX-V complex and I4-3-3 zeta. *Blood*, v. 96, n. 2, p. 577-84, 2000.
71. MURUGAPPAN, S.; SHANKAR, H.; KUNAPULI, S. P. Platelet receptors for adenine nucleotides and thromboxane A $_2$. *Sem Thromb Hemost*, v. 30, n. 4, p. 411-18, 2004.
72. NESBIT, W. S. et al. Distinct glycoprotein Ib/VI and integrin alpha (Ib) beta (3)-dependent calcium signals cooperatively regulate platelet adhesion under flow. *J Biol Chem*, v. 277, n. 4, p. 2965-72, 2002.
73. NIESWANDT, B.; AKTAS, B.; MOERS, A. Platelets in atherothrombosis: lessons from mouse models. *J Thromb Haemost*, v. 3, n. 8, p. 1725-36, 2005.
74. NURDEN, A. T.; NURDEN, P. Inherited disorders of platelet function. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
75. ORANGE, J. S. et al. The Wiskott-Aldrich syndrome. *CMLS*, v. 61, n. 18, p. 2361-85, 2004.
76. OSTERUD, B.; BJORKKLID, E. The tissue factor pathway in disseminated intravascular coagulation. *Sem Thromb Haemost*, v. 27, n. 6, p. 605-17, 2001.
77. PAINTER, R. G.; GINSBERG, M. H. Centripetal myosin redistribution in thrombin-stimulated platelets: relationship to platelet factor 4 secretion. *Exp Cell Res*, v. 155, n. 1, p. 198-12, 1984.
78. PATEL, D. et al. Dynamics of GPIIb/IIIa-mediated platelet-platelet interactions in platelet adhesion/thrombus formation on collagen *in vitro* as revealed by videomicroscopy. *Blood*, v. 101, n. 3, p. 929-36, 2003.
79. PATIL, S.; NEWMAN, D. K.; NEWMAN, P. J. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 serves as an inhibitory receptor that modulates platelet responses to collagen. *Blood*, v. 97, n. 6, p. 1727-32, 2001.
80. PATRONO, C. et al. Drug therapy: low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med*, v. 353, p. 2373-83, 2005.
81. PEDERSEN, A. K.; FITZGERALD, G. A. Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med*, v. 311, p. 1206-11, 1984.
82. PLOW, E. F.; D'SOUZA, S. E.; GINSBERG, M. H. Ligand binding to GP IIb/IIIa: a status report. *Sem Thromb Hemost*, v. 18, p. 324-32, 1992.
83. POOLE, A. et al. The Fc receptor gamma-chain and the tyrosine kinase Syk are essential for activation of mouse platelets by collagen. *Eur Mol Biol Org J*, v. 16, p. 2333-41, 1997.
84. PRICE, G. C.; THOMPSON, S. A.; KAM, P. C. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesthesia*, v. 59, n. 5, p. 483-92, 2004.
85. RADMOSKI, M. W.; PALMER, R. M. J.; MONCADA, S. Endogenous nitric oxide inhibits human-platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, v. 2, n. 8567, p. 1057-58, 1987.
86. RATHORE, V. et al. PECAM-1 negatively regulates GPIb/VI signaling in murine platelets. *Blood*, v. 102, n. 10, p. 3658-64, 2003.
87. REED, G. L. Platelet secretory mechanisms. *Semin Thromb Hemost*, v. 30, n. 4, p. 441-50, 2004.
88. REFFAI, M. A.; LAPOSATA, M. Platelet aggregation. In: MICHELSON, A. D. *Platelets*. California: Academic Press, 2002.
89. REGNAULT, V. et al. Phenotyping the haemostatic system by thrombography – potential for the estimation of thrombotic risk. *Thromb Res*, v. 114, n. 5, p. 539-45, 2004.
90. RELOU, I. A. M. et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) inhibits low density lipoprotein-induced signaling in platelets. *J Bio Chem*, v. 278, n. 35, p. 32638-44, 2003.
91. ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature*, v. 362, p. 801-9, 1993.
92. RUGGERI, Z. M. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost*, v. 78, n. 1, p. 611-16, 1997.
93. RUGGERI, Z. M. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*, v. 8, n. 11, p. 1227-34, 2002.
94. SAVAGE, B.; SALDIVAR, E.; RUGGERI, Z. M. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell*, v. 84, n. 2, p. 289-97, 1996.

95. SCHAFER, A.; EIGENTHALER, M.; BAUERSACHS, J. Platelet activation in heart failure. *Clin Lab*, v. 50, n. 10, p. 559-66, 2004.
96. SCHULZE, H.; SHIVDASANI, R.A. Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost*, v. 3, n. 8, p. 1717-24, 2005.
97. SIXMA, J.J. et al. Platelet adhesion to collagen: an update. *Thromb Haemost*, v. 78, n. 1, p. 434-38, 1997.
98. SOBIESZCZYK, P.; FISHBEN, M. C.; GOLDHABER, S. Z. Acute pulmonary embolism: don't ignore the platelet. *Circulation*, v. 106, p. 1748-49, 2002.
99. STASSEN, J. M.; ARNOU, J.; DECKMYN, H. The hemostatic system. *Curr Med Chem*, v. 11, n. 17, p. 2245-60, 2004.
100. STRUKOVA, S. Blood coagulation-dependent inflammation. Coagulation-dependent inflammation and inflammation-dependent thrombosis. *Front Biosci*, v. 11, n. 1, p. 59-80, 2006.
101. THAI, L. M. et al. Physical proximity and functional interplay of PECAM-1 with the Fc receptor Fc gamma RIIa on the platelet plasma membrane. *Blood*, v. 102, n. 10, p. 3637-45, 2003.
102. THOLOULI, E. et al. Acquired Glanzmann's thrombasthenia without thrombocytopenia: a severe acquired autoimmune bleeding disorder. *Br J Haematol*, v. 127, n. 2, p. 209-13, 2004.
103. TORTI, M. et al. Rap1B and Rap2B translocation to the cytoskeleton by von Willebrand factor involves Fc gamma II receptor-mediated protein tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*, v. 274, n. 19, p. 13690-97, 1999.
104. TRUMEL, C. et al. Platelet aggregation induced by the C-terminal peptide of thrombospondin-1 requires the docking protein LAT but is largely independent of alphaIIb/beta3. *J Thromb Haemost*, v. 1, n. 2, p. 320-9, 2003.
105. TSUJI, M. et al. A novel association of Fc receptor g-chain with glycoprotein VI and their coexpression as a collagen receptor in human platelets. *J Biol Chem*, v. 272, p. 23528-31, 1997.
106. VANHOORELBEKE, K. et al. Occurrence of the Asn45Ser mutation in the GPIX gene in a Belgian patient with Bernard Soulier syndrome. *Platelets*, v. 12, n. 2, p. 114-20, 2001.
107. WARE, J. Dysfunctional platelet membrane receptors: from humans to mice. *Thromb Haemost*, v. 92, n. 3, p. 478-85, 2004.
108. WARRIER, I.; LUSHER, J. M. Congenital thrombocytopenias. *Curr Opin Hematol*, v. 2, n. 5, p. 395-401, 1995.
109. WATALA, C. Blood platelet reactivity and its pharmacological modulation in (people with) diabetes mellitus. *Curr Pharm Des*, v. 11, n. 18, p. 2331-65, 2005.
110. WHITE, B. N.; COX, A. C.; TAYLOR, F. B. J. The procoagulant effect of platelets on conversion of prothrombin to thrombin in nonanticoagulated plasma. *J Lab Clin Med*, v. 95, n. 6, p. 827-41, 1980.
111. WU, K. K.; MATIJEVIC-ALEKSIC, N. Molecular aspects of thrombosis and antithrombotic drugs. *Crit Rev Clin Lab Sci*, v. 42, n. 3, p. 249-77, 2005.
112. YAP, C. L. et al. Synergistic adhesive interactions and signaling mechanisms operating between platelet glycoprotein Ib/IX and integrin alpha (IIb) beta (3). Studies in human platelets and transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*, v. 275, p. 41377-88, 2000.
113. YIP, J. et al. Primary platelet adhesion receptors. *IUBMB Life*, v. 57, n. 2, p. 103-8, 2005.
114. YUAN, Y. P. et al. The von Willebrand factor-glycoprotein Ib/VIIX interaction induces actin polymerization and cytoskeletal reorganization in rolling platelets and glycoprotein Ib/VIIX-transfected cells. *J Biol Chem*, v. 274, n. 51, p. 36241-51, 1999.

Endereço para correspondência

Helena Carla Castro
 Laboratório de Antibióticos, Bioquímica e
 Modelagem Molecular (LABioMol)
 Departamento de Biologia Celular e Molecular,
 Instituto de Biologia
 CEG - Universidade Federal Fluminense (UFF)
 CEP 24001-970 - Niterói-RJ
 Tel.: (21) 2629-2294
 e-mail: hcastrorangel@vm.uff.br