

Centro Internacional de Restauración Neurológica

## EL FACTOR DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIA Y SU RELACIÓN CON EL DAÑO OXIDATIVO

Lic. Norma Díez Gómez, Dr. René Macías Betancourt y Dra. Ivonne Pedroso Ibáñez

### RESUMEN

El factor de activación plaquetaria es un fosfolípido de síntesis endógena relacionado directamente con diversos procesos como isquemia, necrosis, trombosis y otros. El principal blanco de sus efectos deletéreos se encuentra en las células endoteliales, leucocitos y plaquetas, donde provoca graves perturbaciones mecánicas, reológicas y bioquímicas en la unidad circulatoria. Se realizó una revisión bibliográfica del factor de activación plaquetaria, su síntesis endógena, sus funciones biológicas, con especial énfasis en su relación con el daño oxidativo, así como los principales antagonistas conocidos. Se enfatizó el efecto de los ginkgólidos contenidos en el EGB 761 (extracto de *Ginkgo biloba*) y su aplicación en la clínica de diversos procesos patológicos relacionados con la circulación cerebral y periférica.

*Descriptores DeCS:* FACTOR DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIO/biosíntesis; FACTOR DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIO/antagonistas & inhibidores; GINKGO BILOBA/uso terapéutico; RADICALES LIBRES; PLANTAS MEDICINALES/uso terapéutico; MEDICINA HERBARIA; CIRCULACIÓN CEREBROVASCULAR/quimioterapia.

Son muchos los mediadores químicos relacionados con procesos inmunoinflamatorios y que desempeñan un papel importante tanto en afecciones locales como sistémicas.

De manera práctica podemos dividirlos en:

- Sustancias vasoactivas: bradiquinina, histamina, serotonina, etc. (Son mediadores preformados).
- Derivados de fosfolípidos de membrana: prostaglandinas, leucotrienos y factor de activación plaquetaria (FAP). Estos son mediadores neoformados.

- Productos de origen lisosomal: proteasas y proteínas catiónicas implicadas en la destrucción celular.
- Radicales libres: anión superóxido y otros relacionados con la destrucción celular.<sup>1</sup>

Como toda molécula presente en los seres vivos, los radicales libres ejercen efectos útiles y efectos nocivos.<sup>2</sup> Su papel de defensa durante la fagocitosis es positivo, la amplificación de estos fenómenos en la inflamación, trombosis o isquemia resulta perjudicial para las propias células y tejidos involucrados.

En la presente revisión se aborda el estudio de un potente mediador químico de naturaleza lipídica implicado en la formación y perpetuación del daño oxidativo.

## DESARROLLO

El *factor de activación plaquetaria* (FAP) es un potente mediador químico de la inflamación,<sup>3</sup> es un derivado fosfolipídico involucrado en múltiples procesos patológicos relacionados con agregación plaquetaria, reacciones inmunoinflamatorias, trastornos vasculares y otros.<sup>4</sup>

La biosíntesis del FAP se produce a partir de los ésteres de glicerilo de las membranas (glicerofosfolípidos). Mediante la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) se elimina el residuo acilo y se esterifica el alcohol en 2 (a menudo se trata de un ácido araquidónico), y queda conformado el liso-FAP. Una enzima del grupo de las transacetilasas, que utiliza la acetil coenzima A (acetil CoA), fija el acetilo en 2, y queda conformado el FAP que resulta muy activo y de vida extremadamente *corta*.<sup>5</sup>

El liso-FAP es a la vez un precursor y un producto de degradación del FAP. No tiene éster acético fijado al alcohol 2 del

glicerol y por lo tanto es inactivo. Parece que el liso -FAP puede circular de una célula a otra; por ejemplo, ir de las plaquetas a los neutrófilos y servir de precursor en la biosíntesis de FAP en estas células.<sup>2</sup>

Estructura química del FAP: estructura lineal:

1 -O-alkil-2 acetil-sn-glicero-<sup>3</sup> -fosfocolina.<sup>6</sup>

Son diversos los estímulos y las células involucradas en la liberación de FAP. En la tabla 1 se intentan resumir los estímulos para la producción y liberación del FAP y sus efectos biológicos sobre los diferentes grupos celulares involucrados.

Desde hace mucho tiempo se conoce de la capacidad de algunas células especializadas de los glóbulos blancos en la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO), con la finalidad de utilizarlas para destruir sustancias extrañas que llegan de forma anormal al organismo. Las células especializadas en la formación de radicales libres son las células fagocitarias (polimorfonucleares y macrófagos). La formación de anión superóxido se efectúa por un sistema enzimático contenido en la membrana plasmática (NADPH oxidasa), que es una flavoenzima.

TABLA 1: *Estímulos para la producción y liberación del factor de activación plaquetaria. Efectos biológicos*

| Estímulos               | Células involucradas                      | Efectos biológicos                                                                                                                                                       |
|-------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Factores Quimiotácticos | Eosinófilos<br>Neutrófilos<br>Neutrófilos | Liberación de radicales libres<br>Liberación de radicales libres, leucotrienos, enzimas lisosomales<br>Liberación de radicales libres, leucotrienos, enzimas lisosomales |
| Fagocitarios            | Monocitos                                 | Liberación de radicales libres, TNF, IL-1                                                                                                                                |
| Complejos inmunes       | Macrófagos                                | Liberación de radicales libres, citocinas                                                                                                                                |
| Trombina                | Plaquetas                                 | Agregación, activación de TXA2 y PDGF                                                                                                                                    |
| Angiotensina II         | Células endoteliales                      | Vacuolización, desendotelización, agregación, hiperpermeabilidad                                                                                                         |
| IL-1                    | Células endoteliales                      | Vacuolización, desendotelización, agregación, hiperpermeabilidad                                                                                                         |
| ¿?                      | Linfocitos                                | Disminución de la proliferación, disminución de la producción de IL-2<br>Aumento de la actividad supresora                                                               |

Este proceso necesita 2 moléculas de oxígeno por cada molécula de coenzima a oxidar, por lo que hay un elevado consumo de oxígeno por las células fagocíticas en relación con la formación de anión superóxido. Este es un fenómeno coordinado y provocado por estímulos muy precisos, en ocasiones diferente para neutrófilos y macrófagos, y que sirve para destruir las moléculas extrañas, ya sea luego de la fagocitosis o por contacto. Los radicales libres son liberados alrededor de las células formadoras. Una parte es transformada por reacción con los halógenos presentes en las membranas, para formar hipocloritos. Estos ácidos son aún más activos que el anión superóxido o que el cloro para degradar las sustancias extrañas.

#### *El factor de activación plaquetaria y la formación del trombo*

Las plaquetas contienen y sintetizan un grupo de sustancias capaces de estimularlas (ADP, calcio y otros). Se conocen 3 vías fundamentales que conducen a la agregación:

- La vía del ADP.
- La vía del tromboxano A<sub>2</sub>.
- La vía del FAP. Sus modalidades de agregación son independientes del ADP y del TXA<sub>2</sub> y solo puede ser bloqueada por los antagonistas específicos del FAP. Los neutrófilos son células tan sensibles como las plaquetas y bajo diversos estímulos son capaces de liberar radicales libres, enzimas lisosomales, leucotrienos y FAP, por lo que evidentemente no solo participan sino que además amplifican los procesos celulares y bioquímicos que conducen a la trombosis.

De manera esquemática y resumida se puede decir que ante el estímulo del FAP se produce retracción de las células endoteliales por vacuolización de su citoplasma y adhesión de plaquetas, cuya morfología se modifica con la emisión de pseudópodos que atraen otras plaquetas hacia la masa en formación; degranulación de factores plaquetarios y en particular liberación de FAP que acelera el proceso y atrae a otras células, los neutrófilos afluyen y se mezclan al trombo; también hay invasión de monocitos que fagocitan los desechos de plaquetas y fibrina y que además liberan radicales libres, leucotrienos y FAP, que atraen a otras células. Alrededor de los eosinófilos se mezcla el trombo en formación al cual se adhieren también eritrocitos, y adquiere su forma definitiva.<sup>1,2</sup>

#### *Papel del FAP en la isquemia tisular*

El FAP influye directamente en la mayoría de los procesos que intervienen en la instauración y permanencia de la isquemia tisular, induce vasoconstricción arteriolar y estimulación de la liberación de mediadores vasoconstrictores (leucotrienos y tromboxano), disminución de la presión de perfusión y activación de los procesos de aterogénesis. En el nivel reológico induce activación y agregación plaquetaria y de neutrófilos y en los tejidos extravasación plasmática facilitada por desendotelización vascular y formación de edema tisular. Pero no sólo participa en la instauración de la isquemia, sino también en su perpetuación de la forma siguiente: Las células endoteliales lesionadas liberan FAP, afluyen y se activan leucocitos, se produce también activación y agregación de plaquetas. Los leucocitos estimulados liberan radicales libres que atacan el endotelio,

y FAP que mantiene el proceso. Las plaquetas activadas liberan TXA2 con las consecuencias vasculares conocidas y factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) que lesiona nuevas células endoteliales. Con todos estos elementos resulta difícil pensar en prevenir o tratar la isquemia sin inhibir los efectos del FAP.<sup>1,7</sup>

### *Papel del FAP en los procesos inflamatorios*

La reacción inflamatoria es un proceso natural de células y tejidos frente a agresiones de muy variada naturaleza. Las diferentes fases de este proceso están influenciadas por mecanismos complejos inducidos por numerosas células y mediadores, que en sucesivas salvas amplifican las reacciones de defensa pudiendo desembocar en lesiones tisulares irreversibles.<sup>1,2</sup>

Entre los mediadores de la inflamación, el FAP está presente desde la primera fase, lo que favorece el aflujo, la agregación y la activación de las plaquetas hacia la lesión inicial; vuelve a aparecer con la degranulación de mastocitos, que representa la primera fase de amplificación y se liberan mediadores preformados como histamina, bradiquinina y neoformados como leucotrienos y FAP.<sup>8</sup> En la fase de quimiotactismo el FAP es el principal responsable; se asiste a un aflujo de basófilos, eosinófilos y neutrófilos quienes liberan importantes cantidades de radicales libres. Una vez que aparecen los macrófagos, llegan a su mayor intensidad en la reacción inflamatoria, y después de fagocitar y eliminar los desechos celulares, liberan IL-1, TNF y FAP, los que a su vez tienen la propiedad de autoestimularse y amplifican sus efectos proinflamatorios. El FAP estimulará eosinófilos y neutrófilos y su quimiotactismo y sus secreciones de leucotrienos y de radicales libres. La liberación de TNF por el macrófago o IL-1 estimulará la liberación de FAP por las célu-

las endoteliales. El FAP liberado estimulará por sí mismo la liberación de TNF, de IL-1, leucotrienos y radicales libres por los macrófagos y así sucesivamente.<sup>1,9</sup>

### *Los antagonistas del factor de activación plaquetaria*

El conocimiento de los efectos biológicos del FAP y sus implicaciones patológicas se deben en gran medida al descubrimiento de sus antagonistas.

Se conocen 2 tipos de receptores específicos del FAP: uno utiliza el ciclo del fosfatidilinositol como relevo en el interior de la membrana y otro que inhibe la actividad de la adenil ciclase, e impide la formación de AMP cíclico intracitosólico.<sup>10</sup>

La literatura recoge una gran cantidad de productos con propiedad de antagonizar los receptores para el FAP. En la tabla 2 se recogen algunos estudios recientes de estos antagonistas.

El BN 52021 (Gingkólido B) es el más potente antagonista natural del FAP (tabla 3), es el más activo de los 4 presentes en la fracción terpena del *Ginkgo biloba* (árbol de la familia Ginkgoaceae, una de las plantas más antiguas del planeta, considerada un verdadero fósil viviente y es la segunda planta medicinal más consumida en EE.UU, después del ajo). Su caracterización química mostró los productos siguientes: Gingkólido A (BN 52020), B (52021), C (BN 52022) y J (52024). Los 4 presentan una estructura química muy particular que incorpora un grupo d. butil y 6 ciclos de 5 carbonos (sistema spiro-4-4-nonano, un tetrahidrofuran y 3 lactonas).

El Gingkólido B como antagonista específico del FAP ha demostrado que es capaz de:

1. Inhibir la fijación del FAP sobre sus receptores plaquetarios.
2. Inhibir la movilización del calcio intracitosólico plaquetario inducido por el FAP.

TABLA 2. Algunos estudios que reportaron productos antagonistas de los receptores para el factor de activación plaquetaria (FAP)

| Antagonista del FAP | Autor              | Comentario                                                                                         |
|---------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WE 2086             | Chen J, 1997       | Actúa en el nivel de receptores para el FAP en bronquios                                           |
|                     | Kagoshima, 1997    | Suprime la respuesta asmática inmediata inducida por antígenos                                     |
|                     | Iwahisa, 1996      | Disminuye la exudación plasmática inducida por antígenos en vías respiratorias                     |
|                     | Noel AA, 1996      | Atenúa la extravasación macromolecular durante la isquemia o iniciada la reperfusión               |
| BN 52021            | Giral M, 1996      | Efecto beneficioso en el <i>shock</i> endotóxico                                                   |
|                     | Enger RA, 1996     | Inhibe la migración eosinofílica inducida por el FAP                                               |
|                     | Rodríguez BA, 1997 | Protege del daño renal inducido por gentamicina en ratas                                           |
|                     | Packard, 1995      | Interfiere en procesos de memoria dependiente del estriado en ratas                                |
|                     | Scholtysset, 1998  | Propiedades antioxidantes                                                                          |
|                     | Liu XH, 1996       | Disminuye la frecuencia y severidad del daño cerebral perinatal relacionado con hipoxia e isquemia |
|                     | Xiao J, 1995       | Mejora el flujo de sangre a la médula espinal comprometida por trauma medular                      |
| We 2170             | Huang YH, 1996     | Inhibe la actividad de células inmunocompetentes inducidas por el FAP                              |
| Rupatadine          | Merlos M, 1997     | Inhibe el FAP y la histamina                                                                       |

TABLA 3. Acciones celulares que se han comprobado *in vitro* e *in vivo* con el uso del *Ginkgólido B* (BN 52021)

| Células              | Acción del BN 52021                                                                                                                                                             |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Plaquetas            | Inhibe la agregación plaquetaria inducida por el FAP<br>Se opone a la activación de las plaquetas y a la liberación de los factores plaquetarios                                |
| Neutrófilos          | Antagoniza la migración, activación y degranulación, lo que impide su adhesión y agregación a las células endoteliales                                                          |
| Eosinófilos          | Antagoniza la infiltración y la citotoxicidad de estas células                                                                                                                  |
| Macrófagos           | Antagoniza la movilización del calcio intracitosólico y la apertura de los canales de potasio de las membranas e impide su activación                                           |
| Células endoteliales | Oposición a la vacuolización y su destrucción<br>Interrumpe el círculo vicioso plaqueta-leucocito-pared arterial que mantiene la isquemia e inicia los procesos de aterogénesis |

3. Antagonizar la agregación plaquetaria inducida por el FAP sin influir en la inducida por otros agentes como el ADP, colágeno, adrenalina y otros.<sup>1</sup>

Acciones celulares que se han comprobado *in vitro* e *in vivo* con el uso del *Ginkgólido B* (BN 52021).

Hoy día se encuentra en el mercado una gran variedad de productos que contienen EGB-761 (extracto de *Ginkgo biloba*), en prácticamente todas las formas de presentación de un producto; la mayoría como suplemento nutricional, en combinación con otros principios activos. Otras formas incluyen sólo al ginkgo y encuentran múltiples indicaciones en la práctica médica habitual, desde vértigos de origen vestibular, síndromes premenstruales, hasta el tratamiento de trastornos de memoria asociados con la edad.

## SUMMARY

The platelet activating factor is an endogenous synthesis phospholipid directly linked to a series of processes such as ischemia, necrosis, thrombosis and others. The main target of its deleterious effects is found in endothelial cells, leukocytes and platelets whereas it causes serious mechanical, reologic and biochemical disturbances in the

circulation unit. A literature review was made on platelet-activating factor, its endogenous synthesis, biological functions with special emphasis on the relation of this factor with oxidative damage and the main known antagonists. The effect of ginkgolides contained in EGB 761 (*Ginkgo biloba* extract) and their application for treating several pathological processes related to brain and peripheral circulation were emphasized.

*Subject headings:* PLATELET ACTIVATING FACTOR/biosynthesis; PLATELET ACTIVATING FACTOR/antagonists & inhibitors; GINKGO BILOBA/therapeutic use; FREE RADICALS; PLANTS, MEDICAL/therapeutic use; HERBAL, MEDICINE; CEREBRO VASCULAR CIRCULATION/drug therapy.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Braquet P. The ginkgolides: potent platelet activating factor antagonists isolated from ginkgo biloba. *L Drugs Future* 1987;12:643-99.
2. Borel JP. *Bioquímica dinámica*. Editora Médica Panamericana, Buenos Aires: Argentina, 1989:441-6.
3. Huang YH. Induction of IL-4 by platelet activating factor. *Clin Exp Immunol* 1996;106(1):143-8.
4. Miqueles R. Antiinflammatory effects of a PAF receptor antagonist in a new molecule with antiproteinase activity in an experiment model of acute crystal arthritis. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1996;13(1):35-49.
5. Sato S. Up-regulation on the intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling and mRNA expression of platelet activating factor receptor by estradiol in human uterine endometrial cells. *Adv Exp Med Biol* 1996;416:95-100.
6. Le Solleu H. Determination of a PAF antagonists pharmacophore using combined molecular electrostatic potential and molecular lipophilicity potential. *Drug Des Discov* 1994;12(2):149-67.
7. Bazan NG. Platelet activating factor in the modulation of excitatory aminoacid neurotransmitter release and of gene expression. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1996;14(1-3):321-30.
8. Im SY. A protective role of platelet activating factor in murine candidiasis. *Infect Immunol* 1997;65(4):1321-6.
9. Camussi G. Release of platelet activating factor and histamine. II. The cellular origin of human PAF: Monocyte polymorphonuclear neutrophils and basophils. *Immunology* 1981;42:191.
10. Wikham NW. Neutrophils are primed to release toxic oxidants by contact with thrombin-stimulated endothelium: role of endothelial cell-generated platelet activating factor. *Clin Pharmacol* 1987;35:603-4.

Recibido: 10 de febrero del 2000. Aprobado: 18 de febrero del 2000.

Lic. *Norma Díez Gómez*. Centro Internacional de Restauración Neurológica. Avenida 25. No. 15805, municipio Playa, Ciudad de La Habana.