



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ACTIVIDAD PROCOAGULANTE DE LAS PLAQUETAS Y SU REGULACIÓN POR
HIDROQUINONAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA
MÉDICA**

**AUTORES: BENJAMIN MURGA AYALA
STEPHAN VAN DER MEER
PROFESOR GUÍA: DR. TM EDUARDO FUENTES QUINTEROS**

**TALCA-CHILE
2022**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Proyecto ANID-FONDECYT N° 1220339.

Agradezco a todas las personas que me rodearon en esta etapa, quienes fueron pilares fundamentales para el desarrollo de mis competencias, desde lo académico hasta lo personal. A mi familia que me brindó apoyo incondicional, y a mi círculo que estuvo en todo momento. Finalmente, a mi compañero de trabajo, quien fue un camarada tanto en la universidad como también un amigo. -BM

A mi tía Nelly, quien siempre estuvo para mí en los momentos en que mis padres no pudieron y que contribuyó en gran medida a convertirme en la persona que hoy soy. A pesar de que hoy no te encuentres físicamente para celebrar mis éxitos, tengo certeza y confianza de que me cuidas desde otro lugar. Este pequeño logro es para ti. -SV

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Páginas
1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	5
3. OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo general	7
3.2 Objetivos específicos	7
4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA	8
5. MARCO TEÓRICO	9
5.1 Enfermedades cardiovasculares	9
5.2 Hemostasia	12
5.2.1 Anomalías de la coagulación sobre las plaquetas	14
5.3 Plaquetas	15
5.3.1 Membrana plaquetaria	17
5.4 Mecanismos de activación plaquetaria	19
5.4.1 Receptor de Trombina	22
5.5 Agregación plaquetaria	23
5.6 Inhibición plaquetaria	25
5.7 Plaquetas procoagulantes	26
5.8 Funcionamiento mitocondrial plaquetario	31
5.8.1 Catión trifenílfosfonio lipofílico TPP+	35
5.8.2 Radicales libres	37
5.9 Interferencia entre activación plaquetaria y disfunción mitocondrial	37
5.10 Hidroquinonas	41
5.10.1 Hidroquinonas y efecto cardiovascular	43
5.10.2 Derivados de hidroquinonas	47
6. CONCLUSIONES	50
7. REFERENCIAS	55

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Páginas

Figura 1: Fisiología de la hemostasia primaria.....	13
Figura 2: Representación de una plaqueta y de dos de las principales estructuras de los gránulos.....	21
Tabla 1. Resumen de las características de las plaquetas procoagulantes durante la apoptosis y necrosis.....	28
Figura 3: Mecanismos de formación de plaquetas procoagulantes.....	30
Figura 4: Esquemática de Mecanismos por los que la función mitocondrial incide en la supervivencia y muerte celular.....	34
Figura 5: Relación entre activación plaquetaria y disfunción mitocondrial.....	39
Figura 6: Representación esquemática de la conversión de la quinona en semiquinona e hidroquinona.....	43
Figura 7: El efecto de la IL-1β en la expresión de las proteínas COX-2 e IL-8 de las células de la pulpa dental y su regulación por HQ.....	45
Figura 8: El efecto de la hidroquinona (HQ 10-500 μM; 18 h) sobre la viabilidad celular de las células ARPE-19 cebadas con IL-1α, medida utilizando los ensayos LDH (Lactato deshidrogenasa) (A) y MTT (sal de bromuro de difeniltetrazolio) (B).....	46

1. RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Es por ello que los estudios enfocados en medidas útiles para disminuir su incidencia, han adquirido gran relevancia.

Las plaquetas son parte de los elementos formes de la sangre y juegan un rol fundamental en el proceso de coagulación. En condiciones de normalidad, cuando uno de los vasos del cuerpo humano sufre una injuria, éste comienza a sangrar y son ellas las encargadas de “agruparse” para tapar la lesión, detener el sangrado y evitar la hemorragia.

Los procesos involucrados en la hemostasia ocurren en base a una cadena de eventos favorables que permiten prevenir la pérdida de sangre, los cuales van desde la constricción del vaso hasta la formación del tapón plaquetario. Sin embargo, teniendo en consideración los eventos fisiológicos y fisiopatológicos del organismo; esto no está exento de anomalías. Es por esto que ha sido crucial a lo largo del tiempo, estudiar la estructura de la plaqueta, su membrana, y sus diversos estados, haciendo referencia a la activación e inhibición plaquetaria, el proceso de agregación y las plaquetas procoagulantes.

Las hidroquinonas son elementos que se pueden describir de diversas formas, debido a las diferentes vías en las que se pueden obtener y también, a las múltiples funciones que pueden cumplir. Como compuesto bioactivo tienen características antioxidantes, previenen la polimerización de monómeros susceptibles a radicales libres y de capacidad antiinflamatoria.

El estudio de los derivados de hidroquinonas se ha puesto a la vanguardia para favorecer los tratamientos ante enfermedades cardiovasculares, debido a los beneficios que estos pueden traer, sobre el enfoque específico de las plaquetas procoagulantes como células diana. Por lo que es importante revisar las características de éstos, y relacionar las utilidades que conllevarían, una mejora en el futuro sobre la farmacología implicada en los eventos cardiovasculares.

Palabras claves: Plaqueta procoagulante, hidroquinonas y derivados, enfermedades cardiovasculares, mitocondrias, especies reactivas de oxígeno.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), son una agrupación de enfermedades asociadas a desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos. Configurándose hasta la fecha, como la principal causa de muerte en el mundo. Uno de los problemas que se encuentra directamente relacionado a los vasos sanguíneos, es la generación de eventos trombóticos. Se entiende como evento trombótico a la formación de coágulos, los cuales, tienen la posibilidad de mantenerse en el lugar de formación o bien desplazarse a otro sitio (embolia), pudiendo generar (en ambas instancias) la obstrucción o alteraciones en el flujo sanguíneo (venoso o arterial), dando paso a la producción de infartos e isquemia. Lo anterior, puede conducir a serias secuelas e incluso se puede traducir en la muerte del individuo. Las ECV cuentan con clasificaciones, en donde podemos encontrar la Hipertensión arterial (presión alta), Cardiopatía coronaria (infarto al miocardio), Enfermedad cerebrovascular (apoplejía), Enfermedad vascular periférica, Insuficiencia cardíaca, Cardiopatía reumática, Cardiopatía congénita y Miocardiopatías.

En el proceso de formación de un trombo, se encuentran involucrados dos elementos altamente preponderantes en el proceso de hemostasia: las plaquetas (relacionadas con el proceso de hemostasia primaria) y los factores de la coagulación (implicados en la hemostasia secundaria). En las situaciones en que se produzca algún tipo de daño vascular, las plaquetas que se encuentren circulando; iniciarán interacciones entre proteínas adhesivas localizadas en la pared subendotelial y receptores (ubicados en la membrana plaquetaria), siendo esta etapa conocida como adhesión.

Posteriormente sucede una etapa de activación plaquetaria que se caracteriza por un cambio estructural y de formación, donde también ocurren procesos bioquímicos que conllevan a la etapa de agregación de las plaquetas. Una vez finalizado este proceso de formación del trombo, las plaquetas que se encuentran en estado activo, desarrollan una actividad procoagulante, lo cual va a favorecer la participación de los factores de la coagulación para la formación de fibrina y consolidación de dicho trombo.

Si bien la farmacología actual, cuenta con una amplia gama de fármacos antitrombóticos y que generalmente brindan buenos resultados, estos no se encuentran exentos de la producción de eventos adversos en los pacientes. En base a la importante incidencia y prevalencia que han presentado las ECV en los últimos años a nivel mundial, se hace necesaria la investigación con el fin de encaminarse a nuevas formas de tratamiento, mediante la elaboración de nuevos agentes o fármacos (que idealmente presenten una mejor efectividad y que presenten un menor número de efectos adversos).

En los últimos años, se ha postulado la idea de que las plaquetas podrían ser utilizadas como biomarcadores de un gran número de patologías sistémicas, no relacionadas con la hemostasia, tales como: diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, entre otras que cursan con disfunción mitocondrial.

En la actualidad, ha sido investigada la actividad biológica presentada por compuestos bioactivos de origen natural y sintético como lo son las quinonas junto a sus derivados. Dentro de la actividad que ha sido descrita para este tipo de compuestos, se encuentran la actividad antiproliferativa, antimicrobiana y anticancerígena. Es así, como también se han realizado estudios con compuestos derivados con base en las quinonas (hidroquinonas) en los cuales se ha encontrado actividad antiplaquetaria, lo que da pie a la generación de una interesante línea investigativa.

Las hidroquinonas son metabolitos de biogénesis mixta, que tienen origen en las ciclaciones y/o reordenamientos intra o intermoleculares, las cuales pueden ser obtenidas por un proceso de reducción de las quinonas.

Hoy en día, estos compuestos están destinados a la fabricación de colorantes y formulaciones cosméticas, pero, también han sido relacionados a citotoxicidad. Estudios recientes sugieren que las hidroquinonas pueden tener efecto antiplaquetario, a través de la inhibición de la producción de tromboxano. Con base en lo anterior, la finalidad de esta revisión, es discutir sobre la actividad procoagulante de las plaquetas y su regulación mediante las hidroquinonas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Examinar los efectos de la regulación de hidroquinonas sobre la actividad procoagulante de las plaquetas.

3.2 Objetivos específicos

- 1.- Describir el origen fisiopatológico de las plaquetas procoagulantes.
- 2.- Identificar los procesos relacionados en la interacción entre las plaquetas procoagulantes y compuestos de hidroquinonas.

4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Se realizó una revisión bibliográfica entre los años 2010 y 2022 (dando prioridad a los artículos más recientes), con el fin de identificar y recopilar información relevante para dar respuesta a la temática dictaminada. Para la búsqueda realizada se consultaron diversas bases de datos internacionales como Scielo, Elsevier, Pubmed, Web of science y Scopus. También, se empleó el motor de búsqueda Google académico.

Los términos empleados en el proceso de búsqueda, se utilizaron en español con su respectiva traducción al inglés y fueron los siguientes: Plaquetas procoagulantes/Procoagulant platelets, Efecto plaquetario de Hidroquinonas/Platelet effects of Hydroquinone, Enfermedades cardiovasculares/Cardiovascular diseases, Disfunción mitocondrial/Mitochondrial dysfunction y Actividad antioxidante de hidroquinonas/Antioxidant activity of hydroquinones.

En cuanto a los criterios de inclusión y exclusión de los documentos, destaca el uso de publicaciones actualizadas en idioma español e inglés, con la finalidad de recopilar la mayor información posible. Preferentemente, que hayan sido citadas en otros estudios previos, relacionados con actividad procoagulante o el uso de hidroquinonas. Las fuentes que se analizaron se encasillan como revisiones bibliográficas, publicaciones en revistas científicas y artículos electrónicos, alcanzando un número de 120 artículos aproximadamente.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares son un problema de salud pública, lo que se fundamenta en su alta prevalencia. De hecho, se posicionan como la principal causa de defunción en el mundo, y según estimaciones cobran 17,9 millones de vidas cada año (1,2). Son consideradas un grupo heterogéneo de trastornos que afectan tanto al sistema circulatorio como al corazón (3). Dentro de este, se incluyen cardiopatías coronarias, enfermedades cerebrovasculares y cardiopatías reumáticas. Más de cuatro de cada cinco defunciones por ECV, se deben a cardiopatías coronarias y accidentes cerebrovasculares, y una tercera parte de esas defunciones ocurren prematuramente en personas menores de 70 años (2).

A nivel país, las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte. Representando 27,1% del total de defunciones en el año 2016, con una tasa de mortalidad por accidente cerebrovascular e infarto de miocardio de 46,4 y 44,8 por 100.000 habitantes, respectivamente. Por otro lado, más del 70% de los casos de ECV se atribuyen a factores de riesgo modificables. Dentro de los factores de riesgo más destacados se encuentran el tabaquismo, consumo de alcohol, calidad de la dieta, actividad física, excreción urinaria de sodio, hipertensión, diabetes, colesterol no HDL, obesidad abdominal, nivel educacional, depresión y contaminación del aire doméstico (uso de queroseno o combustible sólido para cocinar o calefaccionar) (4).

Para abordar el concepto de ECV, es importante tener presente que existen diferencias entre el término arteriosclerosis y aterosclerosis, donde el primero hace referencia al engrosamiento y endurecimiento de las arterias independientemente de su tamaño, mientras que la aterosclerosis, se refiere al proceso que afecta de manera exclusiva a las arterias de mediano y gran calibre (5). Si bien el término ECV, engloba a todos los padecimientos que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos de manera independiente a su causa, éste se

emplea para referirse a las enfermedades del aparato cardiovascular que son consecuencia de aterosclerosis y que comparten características similares respecto a su origen, fisiopatología, pronóstico y tratamiento. Por lo que en la actualidad se prefiere el concepto de enfermedad cardiovascular aterosclerótica (3). Las ECV se clasifican según las características clínicas al momento de su manifestación en: Cardiopatía isquémica o cardiopatía coronaria, Enfermedad cerebrovascular, Enfermedad arterial periférica y Aterosclerosis aórtica.

La enfermedad cardiovascular aterosclerótica, tiene una frecuencia de aproximadamente 50% en personas de 30 años sin enfermedad conocida (3) y su incidencia va en aumento, especialmente en los países industrializados, lo que se relaciona directamente con el envejecimiento y el aumento de la población general (6).

En relación con la fisiopatología, la aterosclerosis es un proceso inflamatorio y crónico que se inicia desde la infancia y se desarrolla a lo largo de los años, siendo asintomática la mayor parte del tiempo. Se distingue por la retención, oxidación y modificación de lípidos en forma de estrías de grasas en las paredes de las arterias, las cuales van a evolucionar a placas fibrosas que producen el engrosamiento de la pared de la arteria afectada, disminuyendo su diámetro de manera crónica. Se debe prestar mucha atención ante la posibilidad de ruptura de estas placas, debido a que si se rompen pueden dar paso a trombosis y oclusión aguda (parcial o total) de la arteria afectada (7).

En el caso de que las concentraciones séricas de colesterol LDL, se encuentren elevadas de manera considerable y permanente en el tiempo. Dicho colesterol, va a penetrar las paredes de las arterias, depositándose y acumulándose entre las células, se va a producir la liberación de radicales libres de oxígeno, generando la oxidación del LDL y liberando partículas proinflamatorias (1). Según Sarre et al. (2018), el engrosamiento natural de las arterias por el estrés hemodinámico, favorece que estos cambios se inicien en los sitios de ramificación; las células endoteliales comienzan a liberar moléculas de adhesión y las células de músculo liso quimiocinas, atrayendo monocitos, linfocitos, mastocitos y neutrófilos al interior de la pared arterial. Además, se secretan proteoglicanos, colágenos y fibras elásticas

hacia la matriz extracelular, los monocitos que se localizan en el tejido vascular se convierten en macrófagos, fagocitan a los lípidos y se van a convertir en células espumosas que se acumularán en la pared arterial. Todo lo anterior, conduce a una cascada inflamatoria que se traduce en la generación del fibroadenoma temprano que se desarrolla entre los primeros 10 y 30 años (3).

El hecho de que los macrófagos proliferen, será la base de la progresión de la lesión (8) y también amplifica la respuesta inflamatoria, estimulando otras células del endotelio y células inflamatorias propiamente tal, lo que va a favorecer la liberación de proteoglicanos y la muerte celular. En consecuencia, a lo anterior, se dará paso a una formación de colecciones de lípidos que poseen un centro necrótico y tejido fibrótico en la periferia, pero debajo del endotelio, con lo que se va a afianzar la lesión. Dicha lesión, comúnmente se denomina placa fibrosa y tiene la característica de continuar toda la vida (7).

Hoy en día, el endotelio vascular es considerado como un órgano y se tiene conocimiento respecto a su capacidad de responder a agresiones externas, mediante la liberación de sustancias vasodilatadoras, antitrombóticas y fibrinolíticas (3). Este conjunto de elementos, va a permitir un funcionamiento óptimo del sistema cardiovascular; sin embargo, en los casos en que el endotelio es dañado estas funciones se ven perjudicadas y como consecuencia se va a producir un efecto contrario, dando paso a la liberación de factores protrombóticos, lo que va a beneficiar la agregación plaquetaria, oxidación de LDL y atracción de monocitos. Lo que se traduce finalmente en la aparición de placas ateroscleróticas (9).

Es importante destacar, que la interacción de los mecanismos inmunológicos con factores metabólicos, fomenta la propagación y aparición de las lesiones ateroscleróticas (10). Aún no es del todo claro qué es lo que inicia el proceso de aterosclerosis, pero se han logrado identificar diversas situaciones que generan daño y disfunción a nivel de endotelio, como hipercolesterolemia, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus y tabaquismo (3), por lo que junto con la predisposición genética estos últimos, han sido establecidos como factores

de riesgo de aterosclerosis o actualmente designados como factores de riesgo cardiovascular tradicionales.

5.2 Hemostasia

La hemostasia es un proceso complejo que permite prevenir de forma continua, la pérdida espontánea de sangre y detener la hemorragia causada por daños al sistema vascular; implica hemostasia primaria, secundaria (coagulación) y la fibrinólisis (11).

La hemostasia primaria, incluye la fase de vasoconstricción y la fase endotelial - trombocitaria. La fase de vasoconstricción se inicia cuando se produce una herida o incisión en la piel, teniendo una mínima pérdida de sangre aumentando progresivamente, obedeciendo al proceso de vasoconstricción local rápida (11). La fase endotelial – trombocitaria, tiene como resultado la formación de un tapón inestable de plaquetas. En esta etapa, además, tiene lugar una constricción de los vasos por estímulo químico, provocada por sustancias vasoconstrictoras liberadas desde los gránulos plaquetarios, como la serotonina, o sintetizadas por las plaquetas activadas como el tromboxano A₂. (11).

Las plaquetas son participantes esenciales en el proceso de hemostasia primaria. Estas células circulan normalmente como elementos de forma discoide, y en respuesta a un daño vascular sufren cambios de forma, emiten pseudópodos, secretan el contenido de sus gránulos y remodelan su membrana (12). La principal función de estas es evitar, la pérdida de sangre por adhesión a la pared del vaso dañado e interacción con otras plaquetas, formando la base del tapón hemostático. Este proceso, involucra fenómenos de adhesión, secreción y agregación plaquetaria, estrechamente relacionados entre sí. Además, para cerrar el ciclo, es necesaria la activación del sistema de la coagulación, que da lugar a la generación de trombina y a la transformación de fibrinógeno a fibrina, que estabiliza el tapón hemostático (13).

Cuando se produce una brecha vascular, una vasoconstricción refleja de los vasos permite reducir el flujo sanguíneo y limitar la pérdida de sangre. Paralelamente, las plaquetas entran en contacto con el subendotelio (fase de adhesión), en el que se adhieren a través de la interacción entre una glucoproteína de su membrana, la GPIb, y una proteína polimérica de tamaño muy grande, el factor Von Willebrand, muy abundante en el subendotelio y que se asocia al colágeno (Fig. 1). Este último también permite que las plaquetas se adhieran a nivel de una lesión vascular fijándose a otras glicoproteínas plaquetarias (GPIa/IIa) (14).

Las plaquetas se activan rápidamente y liberan en el medio extracelular el contenido de sus gránulos (que son en su mayoría de dos tipos, gránulos α y densos). Además, las glicoproteínas GPIIb/IIIa presentes en gran número en su superficie, cambian de conformación, permitiendo la fijación del fibrinógeno, una proteína abundante en el plasma, y la agregación, de este modo, de las plaquetas entre sí (15). Esta interacción plaqueta-plaqueta, que también está favorecida por el factor Von Willebrand en algunos casos, conduce a la formación de un tapón hemostático (o trombo) plaquetario que inicialmente es inestable, pero que se consolidará mediante la red de fibrina formada durante la coagulación plasmática (16).

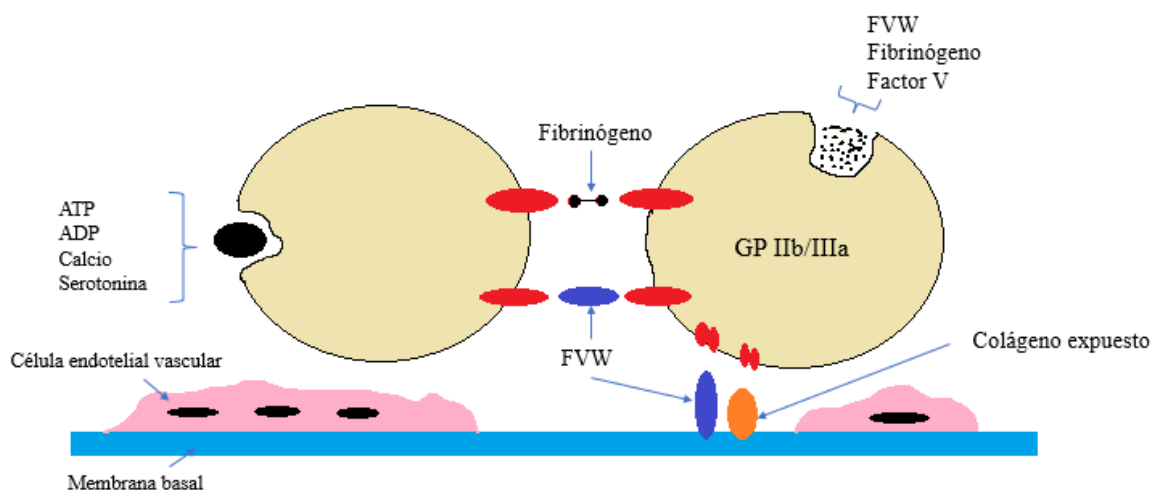


Figura 1: Fisiología de la hemostasia primaria. La hemostasia primaria se desarrolla en cuatro fases. Adhesión de las plaquetas en el subendotelio vascular expuesto en el punto de la lesión, activación de las plaquetas con cambio en la conformación de GPIIb/IIIa, secreción del contenido de los gránulos que permite amplificar la hemostasia y agregación de las

plaquetas con formación de puentes entre GPIIb/IIIa y el fibrinógeno. Elaboración propia Murga Ayala, B. (2022).

5.2.1 Anomalías de la coagulación sobre las plaquetas

Las anomalías de los factores de coagulación plasmáticos pueden generar defectos en la función plaquetaria, a pesar de la presencia de cantidades normales de plaquetas que funcionan adecuadamente (17).

La anomalía más común en esta categoría es la enfermedad de von Willebrand (EVW) (18). La ausencia de plasma y fibrinógeno plaquetario provoca un defecto en la función plaquetaria, puesto que el fibrinógeno es importante en la interacción plaqueta-plaqueta dentro del tapón hemostático primario (18). La afibrinogenemia es un defecto autosómico recesivo poco común. Tanto la EVW como la afibrinogenemia dan lugar a defectos de adhesión en la función plaquetaria: la EVW en la interacción plaqueta-vaso, y la afibrinogenemia en la interacción plaqueta-plaqueta (19).

Dentro de las anomalías de la coagulación, la ETEV (enfermedad tromboembólica venosa) puede verse favorecida por anomalías adquiridas o constitucionales de la hemostasia. Entre estas últimas, cinco son actualmente objeto de búsqueda en algunos casos (20). Se trata de los déficits de inhibidores, AT, PC y PS, por una parte, y de polimorfismos genéticos que afectan el gen del FV, denominado FV Leiden, o el gen del FII (G20210A), por otra. La mutación FV Leiden suprime un punto de escisión del FV por la PC activada, siendo así resistente a la acción anticoagulante de este inhibidor (21). La mutación FII G20210A se asocia a concentraciones circulantes más elevadas de protrombina, con hipercoagulabilidad relativa en los pacientes portadores. Estos dos polimorfismos son frecuentes en estado heterocigótico: se hallan en el 5% y el 2% de los individuos caucásicos, respectivamente. Además de estas anomalías constitucionales de la hemostasia, otras que son adquiridas también pueden aumentar el riesgo trombótico arterial y venoso. Las más frecuentes son los

anticuerpos antifosfolípidos del tipo “*lupus anticoagulante*”, que es esencial buscar en algunos casos de trombosis inexplicable en adultos (14).

Las plaquetas son el elemento clave cuando hablamos de hemostasia primaria, por lo que, el estudio de estas ha sido clave para determinar y estudiar los sucesos asociados a eventos adversos (18). Los defectos de la función plaquetaria abarcan un grupo grande y heterogéneo de trastornos hemorrágicos cuyas manifestaciones pueden ser de leves a graves. Los pacientes pueden no presentar síntomas; no obstante, la mayoría de los pacientes diagnosticados presentan moretones con facilidad y hemorragias mucocutáneas o hemorragias excesivas posteriores a lesiones o cirugías (18). A medida que se dilucida mejor las complejas vías bioquímicas internas y de transducción de señales, y conforme avancen los análisis estructurales de plaquetas, se comprenderán más mecanismos que provocan defectos de la función plaquetaria (22).

5.3 Plaquetas

Las plaquetas (trombocitos) son elementos celulares anucleados de 1.5-3 μm de diámetro. En reposo presentan una forma discoide y se originan por fragmentación del citoplasma de los megacariocitos, que se acumulan en el lugar donde el endotelio está disfuncional o se encuentra dañado al interior de la pared arterial, lo anterior va a inducir a la formación del trombo (23).

El intervalo fisiológico de las plaquetas fluctúa entre 150-400 $\times 10^9/\text{L}$. Un adulto sano produce cada día una media de alrededor de 1×10^{11} plaquetas. La vida media de éstas es de 7 a 10 días (23).

En condiciones de normalidad, las plaquetas circulan en forma inactiva y expresan en su superficie un número relativamente pequeño de muchas moléculas que, en estado activo, van a facilitar su interacción con otras plaquetas y otras células de su entorno. (23).

Dentro de los elementos que componen las plaquetas, se encuentra la membrana plasmática, los gránulos (cuentan con gránulos densos, gránulos α y lisosomas), citoesqueleto y el sistema de membrana interno (que incluye al sistema canalicular abierto y el sistema tubular denso). Existen también otras estructuras relevantes tales como, gránulos de glicógeno, mitocondrias, y ocasionalmente inclusiones de lípidos (24).

Como se mencionó previamente, las plaquetas cuentan con diferentes tipos de gránulos. Posterior al proceso de activación, desde dichos gránulos ocurrirá la liberación de diferentes factores almacenados en ellos y que, a su vez, estimulan más la actividad de la propia plaqueta. Estos factores tienen también efectos biológicos sobre otras células del entorno plaquetario (23).

Los gránulos densos (también llamados gránulos δ), se caracterizan por ser altamente densos en electrones, segregan ADP, ATP, polifosfatos, cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} , serotonina e histamina, amplificando así la agregación plaquetaria y la coagulación dependiente de las plaquetas. Por otro lado, las plaquetas activadas van a liberar distintas ácido glicohidrolasas, catepsinas y heparinasas desde los lisosomas, que contribuyen a la degradación de la matriz extracelular y a la migración celular. Finalmente, los gránulos α plaquetarios son los más abundantes y están repletos de proteínas y péptidos multifuncionales, sintetizados en los megacariocitos o endocitados desde el plasma. Además de las proteínas de adhesión como el fibrinógeno y el factor von Willebrand, los gránulos α contienen factores con funciones de apoyo o inhibición de la coagulación, la fibrinólisis y la angiogénesis. (25).

Las plaquetas se encuentran involucradas en diversos procesos dentro del entorno en el cual se desenvuelven, estos procesos son mediados por glicoproteínas (GP) de membrana.

Las glicoproteínas GPIa/IIa, GPIV y GPVI, participan en la adhesión plaquetaria al colágeno de la matriz subendotelial. El complejo GPIb-IX-V actúa como receptor del Factor von Willebrand (FVW), la cual sería una interacción esencial en el fenómeno de adhesión de las plaquetas a la pared de vasos dañados, también juega un papel importante en la activación de plaquetas por la trombina. El complejo GPIIb/IIIa es receptor para el fibrinógeno, FVW, fibronectina y vitronectina. Cuando las plaquetas se encuentran activadas, el complejo GPIIb/IIIa sufre un cambio conformacional que permite la exposición de un dominio que reconoce la secuencia RGD presente en fibrinógeno, lo que permite la agregación plaquetaria (26).

5.3.1 Membrana plaquetaria

La membrana plasmática de las plaquetas es considerada de importancia crítica en la fisiología de la hemostasia. Posee una serie de receptores funcionales específicos y además durante la agregación y transformación plaquetaria, provee de una superficie esencial para la aceleración de la coagulación sanguínea (fosfolípidos de membrana) (27). Esta media en las interacciones con el medio externo y contiene las estructuras que permiten la transmisión de señales bioquímicas (activantes o inhibidoras) al interior de la célula. Durante el proceso de secreción, se produce la fusión de las membranas de los gránulos intraplaquetarios con la membrana plasmática a través del sistema canalicular abierto, lo que permite la exposición de antígenos internos en la superficie de la plaqueta (27). Por ejemplo, la P-selectina de los gránulos alfa o la GP53 de la membrana de los lisosomas, haciendo que la membrana de la plaqueta dependa del grado de activación de la célula. Este aspecto se pone también de manifiesto en lo que se refiere a la composición de los fosfolípidos. En las plaquetas, al igual que las membranas plasmáticas de otras células, la membrana plaquetaria está formada por una doble capa fosfolípídica con una distribución asimétrica que se transforma por la activación celular (26).

La plaqueta en reposo se divide en tres zonas: (a) zona periférica: responsable de la adhesión y la agregación, consta de una capa de glicocáliz esponjosa, una membrana

plaquetaria y un citoesqueleto; puede contener factores de coagulación I, V, VIII, XI y XII absorbidos, receptores para el difosfato de adenosina (ADP), trombina, factor de von Willebrand (vWF), colágeno, fibrinógeno, fibrina, fibronectina, epinefrina, factor de activación plaquetaria, trombospondina (TSP), tromboxano A₂ (TXA₂), prostaciclina, epinefrina, serotonina y glucosiltransferasa (28); (b) zona sol-gel: responsable de la contracción y soporte del sistema de microtúbulos; contiene el sistema de conexión llamado sistema canalicular abierto y el sistema tubular denso; y (c) zona de organelos: contiene el sistema tubular denso, el ADP no metabólico, la serotonina, las catecolaminas, el calcio, los α -gránulos, el factor plaquetario 4 (PF4), los factores mitógenos (como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas [PDGF]), fibrinógeno, β -tromboglobulina, gránulos lisosomales, mitocondrias y gránulos de glucógeno (29).

Existen tres poblaciones específicas de gránulos (gránulos densos, lisosomas y α -gránulos) que almacenan diferentes tipos de componentes, algunos de los cuales se encuentran en altas concentraciones. Cada población de gránulos tiene propiedades específicas tanto en lo que respecta a la estructura como a la función que desempeñan los constituyentes liberados (29). Los gránulos densos contienen pequeñas moléculas no proteicas que se secretan tras la activación de las plaquetas. Los gránulos α son los más abundantes, y comprenden aproximadamente el 10% del volumen de las plaquetas, 10 veces más que los gránulos densos. Contienen grandes proteínas adhesivas y cicatrizantes, como factores hemostáticos (por ejemplo, factor V, FvW, fibrinógeno), factores angiogénicos (por ejemplo, angiogenina, factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF]), factores antiangiogénicos (por ejemplo, angiostatina, PF4), factores de crecimiento (p. ej., factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento básico para fibroblastos (bFGF), factor derivado del estroma (SDF1 α)), proteasas (p. ej., MMP2, MMP9), factores necróticos (p. ej., TNF α , TNF β) y otras citoquinas. Entre las proteínas específicas de las plaquetas hay varios péptidos que modulan el crecimiento celular. De ellos, el PDGF es uno de los más estudiados (30).

5.4 Mecanismos de activación plaquetaria

El proceso de activación plaquetaria se basa en mecanismos de señalización los cuales son utilizados por receptores para inducir dicha cadena. Dentro de estos mecanismos se encuentra P2Y₁, acoplado a Gα_q, la interacción de este receptor plaquetario está asociado con el cambio de forma, la elevación del calcio intracelular mediada por la fosfolipasa Cβ y la activación de la integrina αIIbβ y la iniciación de la agregación (26). Al igual que P2Y₁₂ que está acoplado a la inhibición de adenilato ciclasa a través de una proteína Gαi 2, y es necesario para la formación y estabilización de agregados plaquetarios grandes (26).

El receptor P2Y₁ se encontró, por estudios de inmunolocalización, en la membrana plasmática de las plaquetas, pero una mayor proporción de los receptores se encontró en el “pool” de membranas internas (membranas de gránulos α y del sistema canalicular abierto) junto al receptor Tromboxano prostanoide (TP) (26).

La activación de las plaquetas sigue a la adhesión y puede iniciarse por varios estímulos mecánicos y químicos. La adhesión de las plaquetas al colágeno y a otros componentes de la matriz subendotelial (colágeno, FvW) se encuentran entre los estimuladores más fuertes de la activación plaquetaria. La activación de las plaquetas está asociada a la estimulación de varias vías metabólicas, a cambios en la forma de las plaquetas y a la secreción (31). La unión del colágeno a la GPVI, una proteína transmembrana de tipo I perteneciente a la superfamilia de las Ig, desempeña un papel central en la activación de las plaquetas a través de múltiples vías intracitoplásmicas (es decir, elevación del Ca²⁺ intracelular, metabolismo de los fosfoinosítidos, fosforilación de las proteínas citoplásmicas y nucleares). Esto da lugar a la conversión de la forma de las plaquetas de discoide a esférica y a la degranulación (32). Durante el cambio de forma de las plaquetas, las células discoideas sufren modificaciones del citoesqueleto, incluyendo el desmontaje de un anillo de microtúbulos que da lugar a una forma esférica intermedia. A esto le sigue la polimerización de la actina y la extensión más lenta de los filopodios (31).

La activación plaquetaria describe todos los procesos que las plaquetas para proporcionar los cofactores necesarios para el sistema de coagulación. Los cuatro procesos principales asociados a la activación de las plaquetas son el flujo de calcio intracelular, la translocación negativa de fosfolípidos, la liberación de α -gránulos y el cambio de forma. Cada uno de estos procesos desempeña un papel esencial en la coagulación. Sin embargo, es importante recordar que, tras la activación, estos procesos suceden en gran medida en paralelo y pueden retroalimentar positivamente los procesos de activación en su conjunto (33).

Como la mayoría de las células, la concentración de calcio citosólico de las plaquetas en reposo se mantiene a niveles muy bajos a través de las bombas de calcio. En la plaqueta, el calcio se almacena principalmente en los gránulos densos (también conocidos como cuerpos densos y gránulos delta δ), que son vesículas membranosas que han demostrado contener bombas de adenosina trifosfatasa de calcio del retículo sarco endoplásmico (SERCA) isoformas 3 y 2b (34). Estas bombas SERCA utilizan la energía derivada de la división del ATP en ADP para mover el calcio en contra de su gradiente de concentración (por ejemplo, desde el citosol hacia los gránulos densos). A través de la función de estas bombas SERCA en la membrana del gránulo denso, la concentración de calcio citosólico de las plaquetas se mantiene en el rango de 100 nmol/L, mientras que la concentración de calcio dentro del gránulo denso es del orden de 100 mmol/L por gránulo (nótese que sólo un pequeño porcentaje de esto es realmente secretado fuera de la plaqueta durante la coagulación, del orden de Vol 10-100 μ mol/L) (35).

Trabajos recientes, también han ilustrado la importancia de las mitocondrias en el mantenimiento de las concentraciones de calcio citosólico. Las mitocondrias de las plaquetas contienen un intercambiador sodio-calcio (NCLX, mueve el calcio hacia el citosol) y un uniportador de calcio (MCU, mueve el calcio hacia la mitocondria), que parecen desempeñar un papel en la dinámica funcional de las plaquetas (36, 37).

En condiciones de reposo, la fosfatidilserina se mantiene distribuida asimétricamente en la lámina interna principalmente a través de las acciones de la flipasa, que es un translocador de fosfolípidos dependiente del ATP de la membrana integral (38). La flipasa está permanentemente activa mientras el ATP está presente. Una segunda proteína integral de membrana, la escramblasa, es responsable de equilibrar los fosfolípidos a través de la membrana celular (por carga). En las plaquetas, la escramblasa suele intercambiar fosfatidilserina del prospecto interno (al prospecto externo) con fosfatidilcolina del prospecto externo (al prospecto interno) (nótese que este intercambio se representa en la Fig. 2). Es importante destacar, que la escramblasa se activa cuando la concentración de calcio citosólico aumenta por encima de los niveles basales (al activarse) (38). Paralelamente, el aumento del calcio citosólico inactiva la flipasa, asegurando que la fosfatidilserina intercambiada permanezca en el foliolo externo (38).

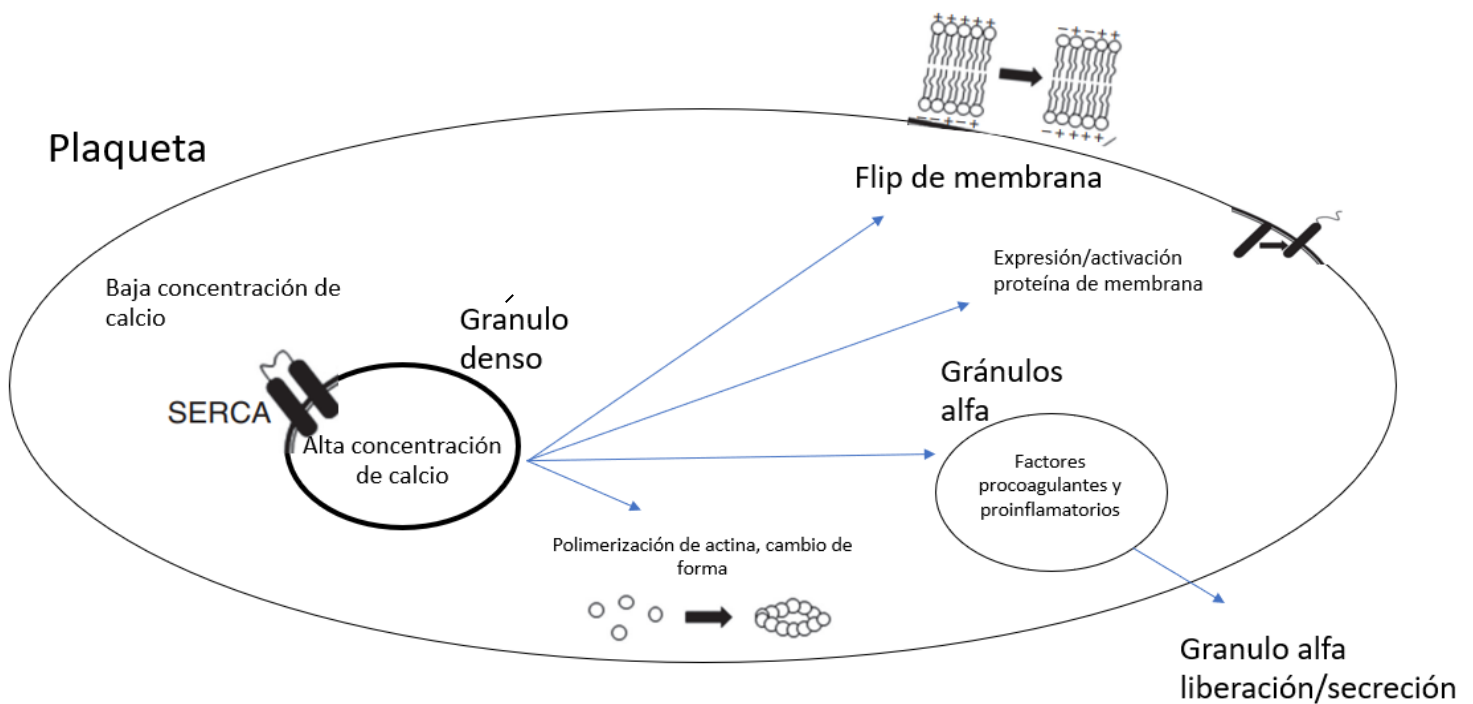


Figura 2: Representación de una plaqueta y de dos de las principales estructuras de los gránulos. Los gránulos densos secuestran el calcio mediante la acción de una bomba SERCA, que bombea el calcio del citosol (baja concentración) al gránulo denso (alta concentración). Tras la activación, el calcio se libera de los gránulos densos al citosol. El aumento del calcio intracelular provoca muchas respuestas celulares relacionadas con las funciones de las plaquetas. En esta figura, se destaca la polimerización de la actina (que se relaciona con el cambio de forma de las plaquetas), el giro de la membrana (que se relaciona

con el apoyo a las reacciones de coagulación), la expresión/activación de proteínas (que se relaciona con la adhesión, la agregación y la inflamación), y la liberación de gránulos alfa (que se relaciona con los mecanismos de retroalimentación positiva de las plaquetas, la activación plaquetaria y las funciones de secreción). Esta figura pretende ser una visión general de los detalles específicos de estos procesos. Fuente: Elaboración propia Murga Ayala, B. (2022).

Otra faceta importante de las actividades de las plaquetas está relacionada con la liberación de α -gránulos. Los α -gránulos plaquetarios son vesículas intracelulares que contienen muchos compuestos, entre ellos agonistas plaquetarios, que suelen utilizarse como mecanismos de retroalimentación positiva, factores de coagulación, proteínas adhesivas, proteínas mitógenas y proteínas de adhesión unidas a la membrana. Los gránulos α también contienen dos proteínas específicas de las plaquetas: el factor plaquetario 4 y la β -tromboglobulina, que pueden unirse a la heparina y neutralizar así sus propiedades anticoagulantes (39).

Paralelamente a las señales de activación anteriores, las plaquetas pueden sufrir un importante cambio de forma, que ayuda a la activación, la agregación y las respuestas de adhesión. La forma elipsoide normal de las plaquetas es reemplazada por una forma irregular caracterizada por muchos filopodios largos y delgados, que se extienden por micras desde el centro de la plaqueta (40). Este cambio de forma se consigue mediante la rápida polimerización de la actina en largas fibrillas; en comparación, la red del citoesqueleto de actina en las proteínas en reposo está compuesta por muchos filamentos de actina más pequeños asociados en una estructura de red suelta y frágil (41).

5.4.1 Receptor de Trombina

Según estudios es el agonista activador plaquetario más efectivo y tiene un reconocido protagonismo en promover la formación de trombos. La trombina, en plaquetas, evoca cambio de forma y liberación del contenido de gránulos plaquetarios. También activa la síntesis y liberación de tromboxano A₂, la movilización de P selectina y ligando CD40 hacia la superficie plaquetaria, y la activación de GP IIb/IIIa. La activación de las plaquetas por trombina, se realiza a través de múltiples receptores sobre la superficie plaquetaria incluyendo el complejo GPIb/V/IX y los receptores activados por proteasas (PARs) (26).

En plaquetas humanas, la trombina interactúa y activa dos receptores PAR que están acoplados a miembros de la familia de proteínas G, las cuales son PAR1 y PAR4 (principal receptor en plaquetas humanas y receptor asociado a Gq, activado cuando la trombina rompe su dominio N terminal en un sitio específico, respectivamente) (26).

El mecanismo de activación consiste en la rotura de una zona específica del receptor, exponiéndose un nuevo aminoácido terminal que lleva una secuencia aminoacídica propia que interacciona con un dominio intramolecular del receptor, induciendo una respuesta transmembrana que involucra la activación de la fosfolipasa C β , la fosfoinositol-3 quinasa y la quinasa RhoA/Rho (13). El receptor para trombina consiste en una proteína de 66 kDa, con siete dominios hidrofóbicos transmembrana (36).

5.5 Agregación plaquetaria

Durante los procesos de activación plaquetaria, las plaquetas van a conseguir la facultad de agregarse, la agregación se define como la capacidad de estos componentes sanguíneos de adherirse a otras plaquetas. La GP IIb/IIIa (o integrina α IIb β 3) es el principal receptor que interviene en este proceso (42).

En condiciones de reposo, la GP IIb/IIIa no se encuentra en estado activo, aunque hay aproximadamente 50.000 receptores en la superficie de las plaquetas (43). En su forma inactiva la GP IIb/IIIa no se encuentra disponible para mediar como puente entre plaquetas. Sin embargo, posterior al proceso de activación de las plaquetas, se expresan en la membrana celular unas 20.000 copias extra de GP IIb/IIIa (especialmente a través de la exteriorización del sistema canalicular abierto y la de los gránulos α con la membrana celular) y todos los receptores de esta glicoproteína se activan y son capaces de mediar las adhesiones plaqueta-plaqueta (44). Se ha estimado que cada 20 nm en la membrana de las plaquetas (que se encuentran en estado activo) se encontrará una GP IIb/IIIa. Como ocurre con una cantidad

considerable de los receptores de integrinas, la presencia de calcio aumenta la afinidad de la integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ por su ligando (45) y puede iniciar la señalización/activación de la integrina de dentro hacia afuera. La importancia de este receptor en los procesos fisiológicos y patológicos se ha estudiado ampliamente. De hecho, los inhibidores de la GP IIb/IIIa se utilizan para prevenir la formación de trombos (42).

El ligando de la GP IIb/IIIa es el fibrinógeno, el cual se caracteriza por ser una proteína dimérica; donde cada monómero se encuentra compuesto por tres cadenas de proteínas diferentes (por lo que una molécula de fibrinógeno está compuesta por un total de seis cadenas de proteínas) (42). Las cadenas proteicas se denominan cadenas $A\alpha$, $B\beta$ y γ . Según Rubenstein et al. (2018) los amino-terminales de las seis cadenas de proteínas se acercan entre sí en el núcleo de esta gran molécula. Los terminales carboxílicos se orientan hacia el exterior del dímero de fibrinógeno. Cada monómero de fibrinógeno contiene una secuencia de reconocimiento celular (Arg-Gly-Asp, es decir, RGD) cerca del terminal carboxilo de las dos cadenas $A\alpha$ y una segunda secuencia de reconocimiento celular del núcleo de la molécula de fibrinógeno también en las cadenas $A\alpha$ (46). También se presume que las cadenas γ contienen un análogo a la secuencia de reconocimiento (Lys-Gln-Ala-Gly-Asp-Val), donde Lys y Gly-Asp participan en la unión de tipo RGD (46). La relevancia de las secuencias RGD y su localización radica en que cada molécula de fibrinógeno puede asociarse con dos moléculas Gp IIb/IIIa posiblemente en dos plaquetas distintas (47). Según Rubenstein et al. (2018) el verdadero puente plaquetario durante la agregación podría describirse como GP IIb/IIIa-fibrinógeno-Gp IIb/IIIa. Es importante señalar que las interacciones que suceden entre las plaquetas con el fibrinógeno son originalmente reversibles y se encuentran mediadas por la presencia de cationes divalentes, actuando como protagonista el calcio (48).

En la medida que el tiempo de asociación entre el fibrinógeno y la GP IIb/IIIa aumenta, los cationes divalentes se van a eliminar, lo que va a generar la alteración de la estructura del fibrinógeno y de la glicoproteína IIb/IIIa, lo que hace que la adhesión sea irreversible (49).

Existe un nexo relevante entre la activación/coagulación de las plaquetas y la agregación plaquetaria mediada por fibrinógeno. Uno de los productos obtenidos al finalizar la activación de las plaquetas, es una proporción no menor de algunos factores necesarios para la coagulación (como es el caso de la fosfatidilserina) y localizar dichos factores (junto con otros) en el lugar del daño (por ejemplo, el factor V) (42). Como producto final de la coagulación se obtiene la conversión de fibrinógeno soluble en fibrina insoluble de forma enzimática por la trombina. La solubilidad del fibrinógeno se debe a dos pequeñas secuencias de aminoácidos de alta y densa carga negativa en el terminal amino de la cadena A α y la cadena B β . Estas pequeñas regiones (llamadas fibrinopéptido A y fibrinopéptido B) son escindidas por la trombina dejando fibrina insoluble, la cual se polimeriza rápida y sin dificultades con otras moléculas de fibrina (50). Importante es destacar que esta ruptura no va a generar alteraciones en la secuencia de reconocimiento celular y, por tanto, la fibrina puede seguir en interacción con las plaquetas por medio de la GP IIb/IIIa y formando una malla insoluble, dicha malla tiene la capacidad de atrapar a las plaquetas o depositarse alrededor de ellas (42).

5.6 Inhibición plaquetaria

La inhibición plaquetaria se considera un interés fisiopatológico. La prostaciclina actúa a través de una proteína G específica activa a la adenilciclase y a la proteína kinasa A (PKA) dependiente del AMPc. Otro importante tromborregulador del endotelio, el óxido nítrico, activa una kinasa dependiente del guanilato ciclasa, la proteína kinasa G (PKG). Se piensa que tanto la PKA como la PKG tienen un efecto inhibitorio sobre la GP IIb/IIIa a distintos niveles de la transducción del estímulo, aunque el mecanismo último no es todavía conocido (26). Un posible mecanismo de esta acción es la fosforilación de una proteína de 50 kDa denominada VASP, que se asocia a la actina. VASP se fosforila en serina por sustancias que activan a la PKA y a la PKG, y esta fosforilación se asocia a una inhibición de la función de las plaquetas (26).

Una de las principales funciones del endotelio es regular negativamente los factores protrombóticos, incluida la actividad de las plaquetas, en un proceso denominado regulación endotelial. Los procesos que se incluyen en esta vía de regulación negativa se dividen principalmente en la comunicación del óxido nítrico, la actividad de la prostaciclina y las actividades de la CD39 (51).

El óxido nítrico (NO) puede existir en tres formas que pueden alterar las respuestas fisiológicas de las plaquetas (normalmente actúa como inhibidor) y de las células endoteliales: incluyendo el NO (la forma radical libre), el NO⁺ (nitrosonio) y el NO- (nitrosilo) (51). La actividad del NO está regulada directamente por muchos otros compuestos, como el superóxido, que inhibe la actividad del NO, e indirectamente por compuestos que alteran la producción de NO al interactuar con una o más del óxido nítrico sintasas (NOS). La óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) se encuentra tanto en las células endoteliales como en las plaquetas e, independientemente del tipo de célula en que se encuentre, parece generar el mismo nivel basal de NO en condiciones fisiológicas normales (52). Es importante destacar, que la actividad del NO producida a partir de cualquiera de estas fuentes parece ser la misma; los tipos celulares no pueden diferenciar la fuente del NO, sino que responden al NO de una manera particular. Hay que tener en cuenta que se han encontrado otras NOS, como la NOS inducible (iNOS) y la NOS neuronal (nNOS), y también se ha demostrado que éstas producen NO biológicamente activo que puede alterar/regular las funciones vasculares (33).

5.7 Plaquetas procoagulantes

La forma en que las plaquetas interactúan con los factores de la coagulación y se localizan con precisión en el sitio dañado, es de considerable interés. Las plaquetas que se encuentran activadas pueden ser clasificadas en al menos dos maneras, plaquetas procoagulantes y agregantes. Ambos tipos de subpoblaciones tienen diferentes manifestaciones. Por ejemplo, la integrina más abundante, α IIb β 3, exhibe una forma “abierta” en las plaquetas agregadas y una forma “cerrada” en las plaquetas procoagulantes, que presentan fosfatidilserina (PS)

expuesta (53). Por su parte, las plaquetas agregadas contienen numerosos pseudópodos, mientras que las plaquetas procoagulantes tienen forma de globo sin pseudópodos. Además, las plaquetas agregadas secretan fuertemente moléculas bioactivas como el adenosín difosfato (ADP), trifosfato de adenosina (ATP) y serotonina, mientras que la función secretora de las plaquetas procoagulantes es débil. Si bien el papel exacto de la agregación de plaquetas en la inflamación aún no se comprende completamente, se sabe que las plaquetas procoagulantes ejercen efectos proinflamatorios y pueden liberar mediadores de inflamación como polifosfato inorgánico y micropartículas (36).

Las plaquetas procoagulantes generalmente se consideran apoptóticas (37). Sin embargo, los estudios recientes han revelado que las plaquetas procoagulantes sufren necrosis. La supresión de la caspasa, un modulador de la apoptosis, no afecta a la función procoagulante de las plaquetas, mientras que la función de la ciclofilina D (CypD), que modula la necrosis induciendo la apertura de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP), reduce en gran medida su función procoagulante (38).

Existe un estudio en el cual se compararon las características de apoptosis, necrosis y plaquetas procoagulantes (39). Las conclusiones que se obtuvieron de dicho estudio se encuentran resumidas en la tabla 1. Sin embargo, al inhibir la Cyp D, todavía se forman plaquetas procoagulantes. En un estudio en ratones Knockout para CypD, las plaquetas externalizaron la PS, y no hubo diferencias importantes en los tiempos de sangrado de la sección de la cola entre los ratones CypD^{+/+} y CypD^{-/-}(40). Los hallazgos que se obtuvieron proponen que existen otras vías que pueden estar involucradas en la generación de plaquetas procoagulantes.

Tabla 1. Resumen de las características de las plaquetas procoagulantes durante la apoptosis y necrosis.

Características	Apoptosis	Necrosis	Plaquetas procoagulantes
Estímulo	Relación de Bcl XI a Bax/Bak	Ciclofilina D	Activación del receptor GP VI y/o receptores activados por proteasa (Trombina, colágeno, etc.)
Dependencia de Ca ⁺	Independiente de Ca ⁺	Depende de Ca ⁺	Depende de Ca ⁺
Morfología	Contracción celular y formación de cuerpos apoptóticos	Inflamación celular	Hinchazón y abombamiento de células
Integridad de la membrana	Pérdida en la última etapa	Perdida en la etapa inicial	Pérdida de la integridad de la membrana
Potencial transmembrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$)	Perdida en la última etapa	Perdida en la etapa inicial	Pérdida de ($\Delta\psi_m$)
Exposición de PS	Expuesto en la etapa tardía	Expuesto en etapa inicial	Expuesto
Formación de mPTP	No	Si	Si
Método de inhibición	Knockout de Bax/Bak	Knockout de ciclofilina D	Knockout de ciclofilina D

Abreviaturas: **GPVI**, glicoproteína VI; **mPTP**, poro de transición de la permeabilidad mitocondrial; **PS**, fosfatidilserina. Fuente: Elaboración propia Van der Meer, S. Murga Ayala, B. 2022.

Las plaquetas presentan diferencias en sus respuestas a la estimulación con agonistas y son varios los procesos multifactoriales que van a determinar el destino de las plaquetas. Se ha propuesto que los factores reológicos y topográficos, dentro de los trombos in vivo afectan la heterogeneidad en los estados de activación plaquetaria (40). Los estudios de dinámica de fluidos, han demostrado que las plaquetas dentro del núcleo del trombo, sufren una exposición más prolongada a los agonistas de solutos que las que se encuentran en la capa externa del trombo. El núcleo del trombo es menos poroso y tiene una adhesión más fuerte entre las plaquetas y las células que la capa externa de éste, donde las corrientes de flujo convectivo y el aumento relativo de la permeabilidad dan como resultado una menor exposición a los agonistas (41). Tanto los factores ambientales como las diferencias de superficies adhesivas, las características intrínsecas de las plaquetas, la edad, la expresión de proteínas de superficie y los componentes subcelulares, pueden desempeñar un papel en la determinación de la heterogeneidad en la respuesta plaquetaria después de la activación (54).

En el contexto de los que sufren necrosis, se describen los mecanismos clásicos que subyacen a la formación de plaquetas procoagulantes. Los mecanismos detallados se pueden observar de mejor manera en la Figura 3.

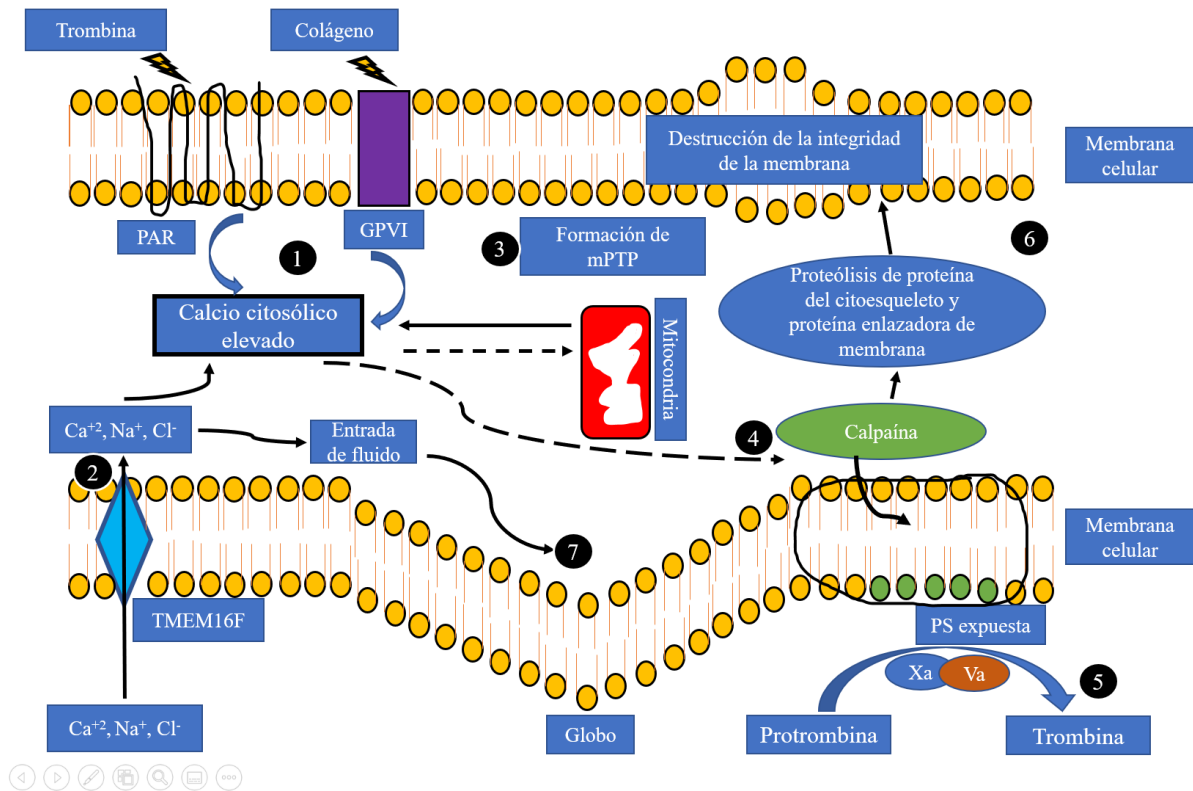


Figura 3: Mecanismos de formación de plaquetas procoagulantes. La figura muestra en (1) El receptor activado por proteasa y la glicoproteína VI que se encuentran en la superficie de las plaquetas. Después de estimular las plaquetas con agonistas, como trombina y colágeno, aumenta la concentración de Ca^{2+} citosólico. (2) TMEM16F ubicado en la membrana de las plaquetas permite la entrada de Na^+ , Cl^- y especialmente Ca^{2+} . Este mecanismo hasta cierto punto, promueve una mayor concentración de calcio (Ca^{2+}). (3) La concentración elevada de Ca^{2+} citosólico desencadena la formación de mPTP, que a su vez conduce a la liberación de Ca^{2+} almacenado en las mitocondrias. (4) Ca^{2+} citosólico elevado activa la calpaína, que provoca la redistribución de los fosfolípidos y la exposición al PS. (5) La exposición a PS es un requisito previo para la actividad procoagulante. Los factores de coagulación Xa y Va se agregan a la superficie de la PS y convierten la protrombina en trombina. (6) La calpaína activada también hidroliza las proteínas del citoesqueleto y las proteínas enlazadoras de la membrana, lo que daña la integridad de la membrana. (7) Las entradas de iones de sal en las plaquetas conduce a una alta presión osmótica y una mayor entrada de líquido, lo que resulta en un globo. Elaboración propia Van der Meer, S. (2022).

No obstante, aunque muchos agonistas tengan la capacidad de poder activar las plaquetas, solo los agonistas fuertes pueden inducir la formación de plaquetas procoagulantes. Los agonistas incluyen aquellos de características fisiológicas y no fisiológicas (37).

Entre los agonistas fisiológicos, la coestimulación del péptido activador del receptor de trombina o trombina y los agonistas de la glucoproteína VI como el colágeno, las convulxininas y los péptidos relacionados con el colágeno, junto con Ca^{2+} en la solución, produce el máximo efecto de activación (55). Por otra parte, el ADP tuvo poco efecto en la generación de plaquetas procoagulantes según los estudios del autor Pasalic en donde evaluó la proporción de plaquetas procoagulantes tras el tratamiento con varios agonistas, incluyendo trombina, colágeno o trombina más colágeno (55).

Lo anterior reveló que la coestimulación con colágeno y trombina ayudó a lograr la proporción más alta de plaquetas procoagulantes alcanzando un 59,21%. Adicionalmente se expuso que tenían una mayor eficiencia sin importar el tipo de muestra, seguida de la activación del colágeno con un 45,76%; finalmente siendo la activación de trombina la menos eficaz obteniendo solamente un 20,78% (37). En comparación con los resultados obtenidos, estos indicaron que la trombina era más eficaz que el colágeno en la generación de plaquetas procoagulantes (37).

5.8 Funcionamiento mitocondrial plaquetario

Las plaquetas muestran una alta eficiencia de acoplamiento a producción mitocondrial de trifosfato de adenosina y cuentan con una capacidad de reserva respiratoria disminuida. Las mitocondrias plaquetarias son muy adecuadas para el análisis ex vivo de diferentes enfermedades. Inclusive, algunas de ellas pueden generar cambios mitocondriales en las plaquetas, sin que se reflejen en otros órganos (56).

En el proceso de homeostasis, bajo condiciones normales, la función de las plaquetas es frenar la pérdida de sangre, posterior a un daño vascular (57). Como respuesta frente alguna lesión vascular, las plaquetas van a contestar a través de receptores de superficie que inician múltiples vías de señalización intraplaquetarias, lo que finalmente conduce a una secuencia de eventos, los cuales incluyen cambio de forma, activación de integrinas, agregación, secreción de gránulos y actividad procoagulante (56).

Debido a que las plaquetas son células sanguíneas fácilmente accesibles y útiles para el análisis de la capacidad bioenergética de tejidos, es que su función mitocondrial también ha sido empleada para estudiar enfermedades relacionadas con las mitocondrias (56).

En cuanto a la estructura de las mitocondrias, éstas cuentan con una membrana doble de lípidos, la cual posee proteínas de membrana, en donde se encuentran transportadores, canales iónicos, componentes de la cadena transportadora de electrones y diversos receptores. La matriz mitocondrial del ser humano contiene ADN circular, de cadena doble y se encuentra cerrado covalentemente. Además, el material genético presente al interior de la mitocondria codifica para 13 proteínas relacionadas con la cadena de transporte de electrones, dos ARN ribosómicos, 22 ARN de transferencia y un péptido que se conoce como humanina (58,59).

Cabe destacar, que el número de mitocondrias va a sufrir variaciones dependiendo de la célula en estudio, yendo desde una a varios miles. La estructura de este organelo consta de cuatro partes, dentro de las cuales encontramos la membrana mitocondrial externa, membrana mitocondrial interna, el espacio intermembrana y la matriz. La membrana mitocondrial externa, cuenta con poros de transición bastante grandes, lo que permite que las moléculas la atraviesen fácilmente, mediante difusión pasiva (60,61). Pese a lo anterior, el transporte de moléculas a través de la membrana mitocondrial interna se encuentra altamente regulado por transportadores específicos (62).

La función bioquímica más relevante y estudiada de las mitocondrias es el Sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS), que se encuentra compuesto por la respiración mitocondrial y la síntesis de ATP, los dos procesos antes mencionados se llevan a cabo en la membrana mitocondrial interna (56). La respiración mitocondrial, se produce en la cadena transportadora de electrones, dicha cadena se encuentra conformada por una serie de complejos, dentro de los cuales encontramos el complejo I (NADH deshidrogenasa),

complejo II (succinato deshidrogenasa), el complejo III (citocromo bc1), el complejo IV (citocromo c oxidasa) y finalmente el complejo V (ATP sintasa). Importante es destacar la función que brinda el complejo I, puesto juega un rol valioso en la transferencia de electrones (63). La NADH deshidrogenasa, otorga alrededor del 40% de la fuerza motriz de protones que se requiere para llevar a cabo la síntesis del ATP mitocondrial (64,65). El incremento en la concentración de iones calcio en la matriz mitocondrial, va a promover a OXPHOS, lo que se traduce finalmente en un aumento de la síntesis de ATP (66,67). También, las mitocondrias se encuentran relacionadas con otras funciones, como lo son el metabolismo de los lípidos, centro de hierro-azufre y el control de la respuesta inflamatoria (68,69).

Las funciones realizadas por las mitocondrias intervienen en varios mecanismos (Figura 3) de supervivencia y muerte celular (70). Según Fuentes et al (2019), la permeabilización de la membrana mitocondrial, es un evento considerado como el punto de no retorno en el desencadenamiento de la señalización de muerte celular apoptótica intrínseca y no apoptótica.

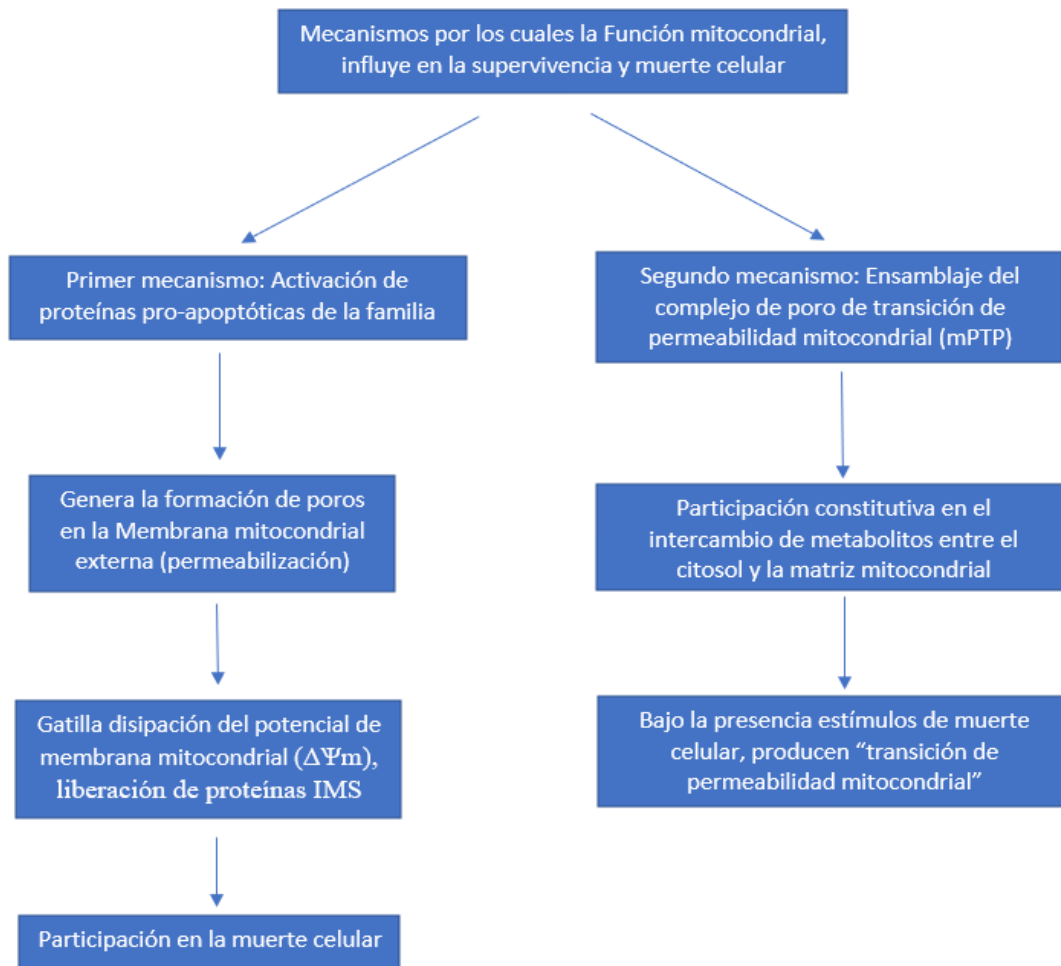


Figura 4: Esquematación de Mecanismos por los que la función mitocondrial incide en la supervivencia y muerte celular. Se exponen los principales mecanismos por los que la función mitocondrial afecta en la supervivencia y muerte celular (principalmente 2), con sus respectivas consecuencias a nivel de este organelo. IMS: espacio intermembrana. Ejemplos de proteínas del espacio intermembrana: citocromo c, AIF, Endo G, Omi/HtrA2, Smac/Diablo). Fuente: Elaboración propia Van der Meer, S. (2022).

Por otro lado, las mitocondrias representan una fuente significativa de especies reactivas del oxígeno (ROS) (71), estas ROS se han configurado como un importante mensajero secundario relacionado en la señalización celular de la secreción de insulina, diferenciación de adipocitos e hipoxia (72). Existen varios sitios mitocondriales de producción de ROS; sin embargo, el más estudiado y caracterizado continúa siendo la cadena transportadora de electrones (71). A través de variados estudios, se ha concluido que la especie reactiva de oxígeno que es más abundante en la matriz es peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (56). Según Fuentes et al (2019), el acoplamiento entre las reacciones redox y la síntesis de ATP varía entre los tipos de células (glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas) y en condiciones

fisiopatológicas. Dentro de las condiciones antes mencionadas, podemos destacar el cáncer, diabetes, envejecimiento y enfermedades cardiovasculares (56), en consecuencia, vamos a obtener diferentes patrones de metabolismos energéticos (73).

Las mitocondrias cuentan con la capacidad de regular la función protrombótica de las plaquetas, no solo por medio de la generación de ATP, sino que también mediante señalización redox. En el proceso de agregación plaquetaria inducida por trombina, se produce un aumento rápido y temporal del potencial de membrana mitocondrial junto con OXPHOS (lo anterior, es soportado por el empleo de ácidos grasos y glutamina) y sin fluctuaciones importantes en el consumo de glucosa basal (74,75). Disfunción en la mitocondria plaquetaria, va a conducir a una reducción en la producción de ATP, generación de ROS, alteraciones en la amortiguación de calcio y formación de mPTP (76,77). El poro de permeabilidad mitocondrial va a generar afecciones a nivel de la membrana mitocondrial interna, generando disminuciones en $\Delta\Psi_m$ (78). El que se formen mPTP, parece ser un fenómeno azaroso y que es objeto de estudio estadístico, debido a que no ocurre de manera simultánea en todas las mitocondrias que se encuentran al interior de una plaqueta. No obstante, en gran parte de los casos, otras mitocondrias colapsan posterior al colapso de la primera (79). Aunque resulte extraño, la formación de mPTP, un evento de señalización que resulta ser clave durante el proceso de muerte celular, ha sido identificado como un actor de relevancia en la activación plaquetaria (80).

5.8.1 Cation trifenilfosfonio lipofílico TPP⁺

A pesar de que se han descrito diferentes compuestos que son capaces de proteger las mitocondrias del estrés oxidativo, se ha hecho necesario el desarrollo de estrategias que permitan su entrada de forma selectiva, por la sencilla razón de que este organelo se encuentra en el interior de la célula y, a su vez, las dianas de estos compuestos se encuentran ubicadas al interior de las mitocondrias, en consecuencia deben atravesar varias membranas y para ello cumplir con diversos requisitos físico-químicos para una acumulación selectiva al interior de estos orgánulos (81).

Con la finalidad de mejorar la entrada a la mitocondria se pueden modificar los compuestos a través de la unión al catión lipofílico trifenilfosfonio (TPP⁺). El trifenilfosfonio (TPP) fue descrito por primera vez en la función mitocondrial por Vladimir Skulachev y es la molécula más utilizada en el diseño de antioxidantes dirigidos a las mitocondrias (81). Corresponde a un átomo de fósforo cargado positivamente que se encuentra unido a una gran superficie hidrófoba, la cual se encuentra dada por tres grupos fenilo. Debido a que el $\Delta\Psi_m$ fluctúa entre 150-180 mV (interior negativo), la carga positiva de TPP se emplea para facilitar el ingreso y acumulación (concentración 500 veces mayor) dentro de la matriz mitocondrial (81).

Según funcionalidad, se ha empleado TPP como fracción dirigida a las mitocondrias para suministro de agentes anticancerígenos, ácidos nucleicos, péptidos, antifúngicos, antiparasitarios y compuestos antioxidantes a las mitocondrias (81).

El primer tipo de antioxidantes ligados a TPP se basa en ubiquinona y plastoquinona. La ubiquinona, también conocida como coenzima Q10, es un componente de la cadena respiratoria mitocondrial y se encuentra en el núcleo lipídico de la membrana interna donde se reduce por dos electrones de los complejos I o II (82). MitoQ10 (MitoQ) es similar en función a la coenzima Q10, y tanto en células animales como humanas. Existen muchos datos sobre las propiedades in vitro de MitoQ, que se caracterizan por prevenir la peroxidación lipídica, disminuir el contenido de carbonilación de proteínas, disminuir el nivel de ROS y prevenir la apoptosis. MitoQ ha demostrado una rápida acumulación en las mitocondrias y se ha reducido rápidamente a la forma de hidroquinona (MitoQH₂). El papel de MitoQH₂ se atribuyó a una excelente actividad de eliminación de radicales libres (83).

5.8.2 Radicales libres

Los radicales libres son moléculas que contienen uno o más electrones no apareados, es decir, un electrón que se encuentra sólo en su orbital (84). Según Carvajal et al. (2019), los electrones son más estables cuando están apareados en los orbitales, los radicales libres son reactivos frente a otras especies. Los electrones no apareados tienen una fuerte tendencia a formar pares de electrones para llegar a una configuración más estable. Un radical puede donar su electrón desapareado a otra molécula, o puede robar un electrón de otra molécula para formar un par electrónico. No obstante, si un radical toma un electrón de otra molécula o dona un electrón, la otra molécula se transforma en un radical libre (85).

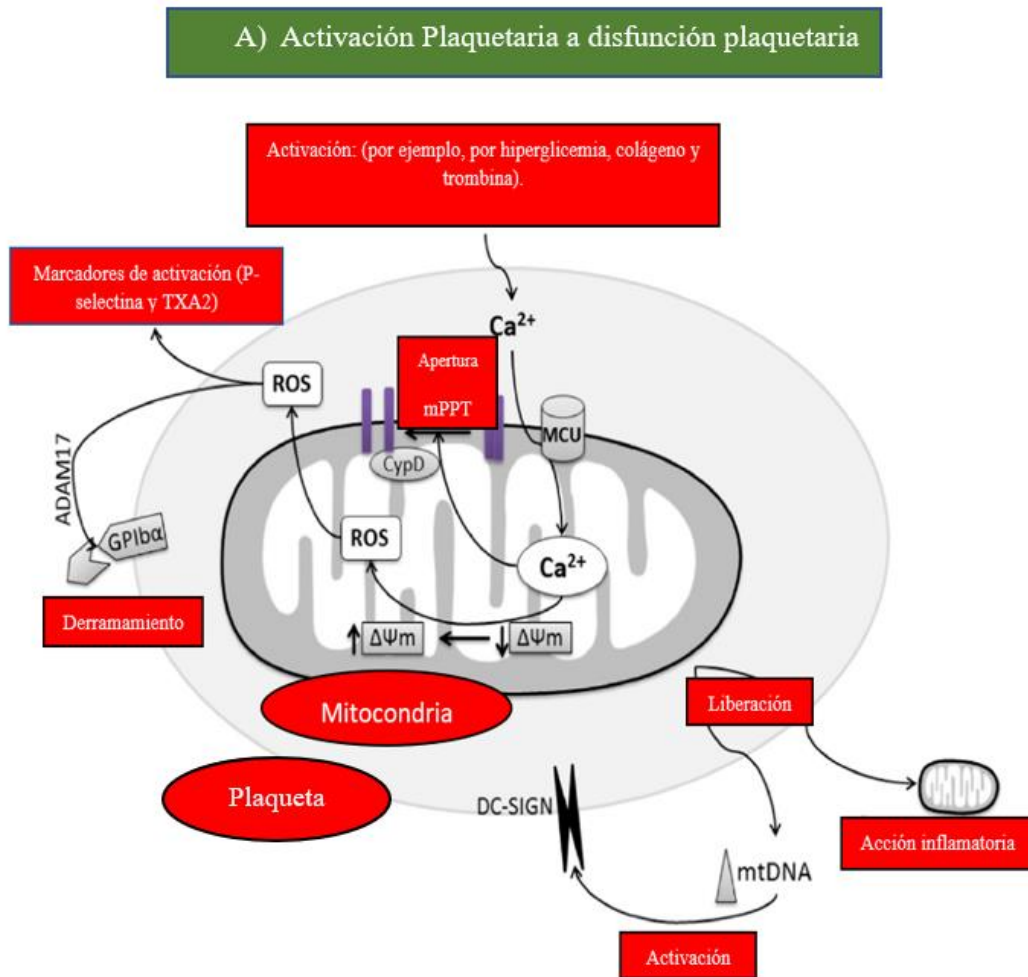
Dentro de los seres vivos existen diversas sustancias reactivas (RS) que tienen la capacidad de reaccionar con diferentes moléculas celulares. Hay diversas clases de RS importantes a nivel celular, como lo son las especies reactivas de oxígeno (ROS) (86). Se les considera como metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos que poseen una fuerte capacidad oxidante, aunque dicha capacidad varía entre las diferentes especies (86). La mayoría de los ROS son generados a nivel mitocondrial (85).

Según Collins et al. (1996), los radicales libres no son más que formas muy reactivas de oxígenos, pero, a pesar de que son un producto normal que fabrica el cuerpo como combustible para quemar a fin de conseguir energía, su poder destructivo es enorme. Pueden provocar arterosclerosis cuando actúan en las paredes de los vasos sanguíneos. Y si lo hacen en el ADN que está en el núcleo celular, pueden provocar mutaciones que desencadenan el cáncer.

5.9 Interferencia entre activación plaquetaria y disfunción mitocondrial

Como se mencionó previamente, la cadena transportadora de electrones juega un rol esencial en bioenergética, biosíntesis y control redox en los procesos de función plaquetaria (87,88). Es en base a este papel protagónico, que alteraciones a nivel de mitocondria, pueden

contribuir a anomalías plaquetarias (89,90). Es así, como ciertas vías de activación plaquetaria pueden inducir diferentes grados de disfunción mitocondrial. Según Fuentes et al (2019), como retroalimentación positiva, el nivel de disfunción mitocondrial puede potenciar la formación de plaquetas procoagulantes (externalización de PS) en plaquetas apoptóticas (Figura 4).



B) Disfunción plaquetaria a Plaquetas procoagulantes

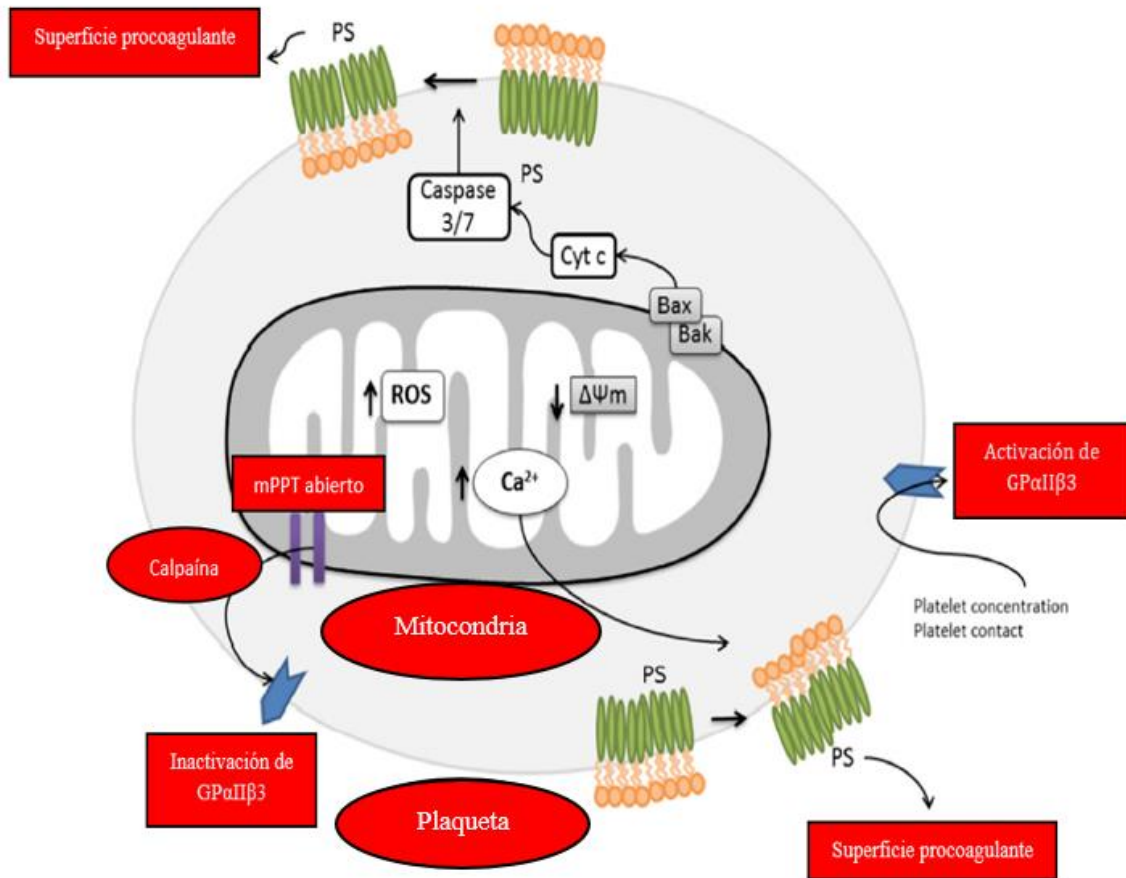


Figura 5: Relación entre activación plaquetaria y disfunción mitocondrial. (A) La activación plaquetaria puede inducir disfunción mitocondrial y (B) Como retroalimentación positiva, el nivel de disfunción mitocondrial puede potenciar la formación de plaquetas procoagulantes. $\Delta\Psi_m$, potencial de membrana mitocondrial; CypD, ciclofilina D; Cyt c, citocromo c; GP, glicoproteína; MCU, uniportador de calcio mitocondrial; mPPT, poro de transición de permeabilidad mitocondrial; ADNmt, ADN mitocondrial; PS, fosfatidilserina; ROS, especies reactivas de oxígeno; TXA2, tromboxano A2. Tomada y adaptada de Fuentes et al. 2019(56).

La activación plaquetaria se encuentra regulada por la generación endógena de especies reactivas del oxígeno, la que, a su vez, es estimulada por una amplia variedad de agonistas, tales como la trombina, U46619 (análogo sintético estable de la prostaglandina endoperoxido PGH₂), TRAP-6, entre otros (90), en donde las mitocondrias contribuyen con el mayor aporte en la generación de ROS y se configuran como un actor principal en la activación (91,92).

Una vez que las plaquetas se encuentran en su estado activado, pueden dar paso a la liberación de mitocondrias y ADNmt (93,94). Dichas mitocondrias que se liberan, serán empleadas como sustrato para la fosfolipasa A2, con el objetivo de promover mediadores inflamatorios (ácidos grasos, lisofosfolípidos y ADN mitocondrial) (93). Por otro lado, el ADN mitocondrial liberado, va a provocar una inducción de la activación plaquetaria, a través de una vía dependiente de DC-SIGN (receptor de glicoproteínas que contienen un número alto de N-carbohidatos) (94). Se piensa que la metilación del ADN mitocondrial de las plaquetas, podría ser usado como un marcador no invasivo y accesible, podría encontrarse envuelto en la etiología de las enfermedades cardiovasculares (92).

Se considera a la disfunción mitocondrial como un evento fundamental en el proceso de activación plaquetaria; no así en el proceso de agregación (75, 95). La activación plaquetaria va a fomentar la disfunción mitocondrial, a través de vías diversas.

Trombina: en ausencia de calcio extracelular, la trombina va a inducir la despolarización en la mitocondria, liberación de citocromo c, producción endógena de H₂O₂, activación de las caspasas (tanto la 9 como la 3) y posteriormente la externalización de la fosfatidilserina (96).

Colágeno: las plaquetas al ser estimuladas por colágeno, van a experimentar un aumento en el consumo de oxígeno mitocondrial, una generación agilizada de lactato y un contenido intracelular de ATP sin cambios. En caso de un bloqueo de la producción energética en mitocondrias, mediante inhibición del complejo III con antimicina A, afecta de manera leve la agregación influenciada por colágeno e inhibe fuertemente la secreción de plaquetas. En el contexto anterior, usando como mecanismo inhibitorio, el óxido nítrico y el peroxinitrito (ONOO (-)), se logró la disminución significativa del contenido de ATP celular y de las actividades de los complejos I, II y IV (97,56). Sin embargo, ONOO (-) a través de la caída del $\Delta\Psi_m$ puede aminorar la estabilidad y la elasticidad del coágulo a través de la reducción de la contractilidad de las plaquetas (98).

Hiperglucemia: en los casos de que, por una hiperglucemia, se genere la activación de la enzima llamada aldosa reductasa (AR), va a conducir a una inducción de la generación de especies reactivas del oxígeno, secuestro de la proteína antiapoptótica Bcl-xL y aumento de la fosforilación de p53 (Ser 15) (92). También, la hiperglucemia junto con el colágeno, dan paso a la hiperpolarización en las plaquetas normales, lo que se traduce en la formación de ROS mitocondriales y posteriormente a su activación. Según Fuentes et al (2019), en esta condición, el uso de tenoiltrifluoroacetona (TTFA), un inhibidor del complejo mitocondrial II, y cianuro de carbonilo m-clorofenilhidrazona (CCCP), un desacoplador de OXPHOS impidió por completo un aumento de ROS mitocondrial inducido por hiperglucemia.

La activación de plaquetas, tras la hiperpolarización de la mitocondria y la generación de ROS, se ha visto asociada de manera conjunta con un excedente en la liberación de calcio, dicha liberación va a dirigir a cambios en el patrón de fosforilación y/o desfosforilación de citocromo c y ciclooxigenasa. No obstante, sólo la cantidad de calcio y las condiciones que existen en las mitocondrias, ya sea previo o bajo la carga de Ca^{2+} , determinan en gran medida cómo responde la producción de ROS a un desafío de calcio. Entonces, en las mitocondrias que se encuentran despolarizadas, el calcio induce un aumento moderado en la liberación de ROS. En el caso opuesto, para el caso de mitocondrias que se encuentren altamente polarizadas, el Ca^{2+} no va a contribuir a la estimulación de la generación de ROS mitocondrial (95,99).

5.10 Hidroquinonas.

Las hidroquinonas (HQ), también conocidas como 1,4 – dihidroxibenceno o benceno – 1,4-diol o quinol, es un compuesto orgánico aromático que es una especie de fenol, un derivado del benceno, con la fórmula química $C_6H_4(OH)_2$. Tiene dos grupos hidroxilo unidos a un anillo de benceno. Es un sólido granular blanco. Los derivados sustituidos de este compuesto original también se denominan hidroquinonas. El nombre "hidroquinona" fue acuñado por Friedrich Wöhler en 1843 (100).

La hidroquinona tiene una variedad de usos relacionados principalmente con su acción como agente reductor soluble en agua. Es un componente importante en la mayoría de los reveladores fotográficos en blanco y negro para películas y papel, donde reduce los haluros de plata con el compuesto metol a plata elemental (100).

Hay varias otras aplicaciones relacionadas con la potencia reductora. Como inhibidor de la polimerización, aprovechando sus propiedades antioxidantes, la hidroquinona previene la polimerización del ácido acrílico, metacrilato de metilo, cianoacrilato y otros monómeros susceptibles de polimerización por radicales libres. Al actuar como eliminador de radicales libres, la hidroquinona sirve para extender la vida útil de las resinas fotosensibles como los polímeros precerámicos (101). Esta puede perder un protón de ambos grupos hidroxilo para formar un ion difenolato. La sal difenolato de hidroquinona disódica se usa como una unidad de monómero alterno en la producción del polímero poliéter éter cetona (PEEK) (101).

Las hidroquinonas también se describen como un bioactivo fitoquímico, puede ingresar al organismo del ser humano mediante la dieta por frutas, pan, vino tinto, café, tabaco, además del trabajo y el medio ambiente (102).

Los compuestos bioactivos que protegen la función mitocondrial están relacionados con muchas actividades biológicas como la antioxidante, la antiinflamatoria y el antienvjecimiento, entre otras (103). Las quinonas son un grupo de compuestos químicos presentes en una gran variedad de recursos del mundo natural (104). La presencia de la tríada quinona/semiquinona/hidroquinona es esencial en muchos sistemas redox en biología (Figura 5), permitiendo el movimiento de electrones tanto en las mitocondrias como en los cloroplastos (105). Sin embargo, el par redox quinona/hidroquinona puede interconvertirse directamente, mediante un proceso de dos electrones, a través de otros sistemas enzimáticos (106). También los sistemas quinona/hidroquinona están presentes en otras funciones biológicas significativas como el sistema antioxidante (por ejemplo, la ubiquinona y el tocoferol) (107) y la coagulación (por ejemplo, la vitamina K) (108). El potencial redox mide la tendencia de una molécula a ganar o ceder electrones, siendo parámetros clave en la

comprensión de los procesos de transferencia de electrones, como, por ejemplo, en el par quinona/hidroquinona (90) y en la reacción de quinonas con nucleófilos vía adición de Michael (109). En consecuencia, el conocimiento del potencial de oxidación/reducción de las quinonas e hidroquinonas es un área de investigación en constante desarrollo (110). La síntesis dirigida de quinonas con propiedades de oxidación/reducción permite obtener un elevado número de compuestos con diversas aplicaciones (111). Es importante destacar que, la reversibilidad de la formación de semiquinonas permite la reducción mono electrónica del oxígeno molecular a aniones radicales superóxido generando, en algunos casos, ciclos redox (111).

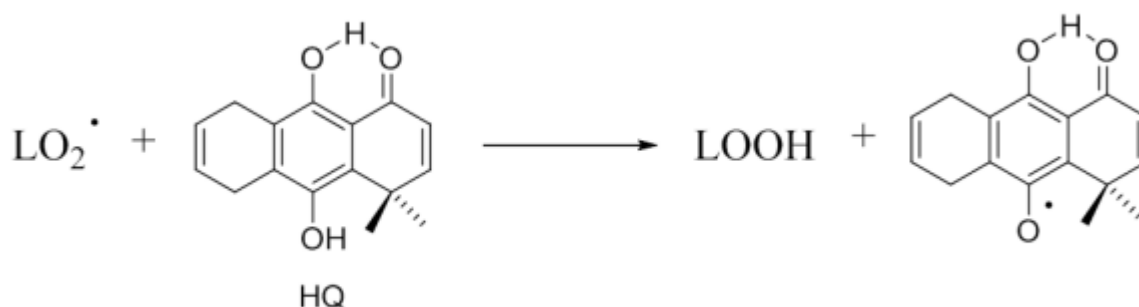


Figura 6: Representación esquemática de la conversión de la quinona en semiquinona e hidroquinona. Tomada de Fuentes, M. et al. 2018 (104).

5.10.1 Hidroquinonas y efecto cardiovascular

Su toxicidad sobre humanos aún no es del todo clara, sin embargo, se describe en algunos estudios anteriores que la genotoxicidad y la toxicidad hematológica puede inducir nefropatía, tumor renal o hemorragia gástrica (112).

Se sabe poco sobre el consumo y la exposición de las hidroquinonas y sus derivados en la salud del sistema cardiovascular, una exposición a la HQ puede activar los neutrófilos

circulantes y perjudicar la respuesta estimulante posterior de los neutrófilos in vivo (113). Estudios describen el carácter citotóxico de este compuesto para las células endoteliales, células madres hematopoyéticas y los linfocitos; evoca efectos proinflamatorios en las células endoteliales y deteriora la vasorelajación (113). Este evento puede ser desencadenado por la potenciación de la transcripción génica dependiente de la translocación nuclear de NF- κ B (114).

Las complicaciones de la trombosis se deben a la obstrucción local del vaso o a la embolización a distancia. Los trombos arteriales suelen producirse en asociación con enfermedades vasculares preexistentes, la más común de las cuales es la aterosclerosis. Los trombos arteriales se forman en condiciones de alto flujo y se componen principalmente de agregados plaquetarios unidos por hilos de fibrina. La trombosis suele producirse cuando se rompe el equilibrio entre los factores trombogénicos y el mecanismo de protección. Estos factores trombogénicos incluyen el daño de la pared del vaso, la estimulación de la agregación plaquetaria, la activación de la coagulación sanguínea y la estasis o por xenobióticos exógenos (113). Teniendo en cuenta el potencial farmacológico y el consumo diario de HQ, es importante el desarrollo de su efecto en la salud cardiovascular (113).

Se demostraron efectos antioxidantes y antiinflamatorios de hidroquinonas sobre 8-isoprostano inducido por la IL-1 β , PGE2, y la secreción de IL-8 en la Universidad Nacional de Taiwán mediante un cultivo de células de pulpa dental. (113).

La IL-1 β estimuló evidentemente la producción de PGE2 e IL-8 de las células de la pulpa dental (Figura B.1). Inesperadamente, la exposición a HQ (50 y 100 μ M) suprimió notablemente la producción de PGE2 inducida por la IL-1 β en las células de la pulpa (Figura 6.a). Sin embargo, la HQ no fue capaz de impedir la secreción de IL-1 β - de las células pulpares (Figura 6.b). (113).

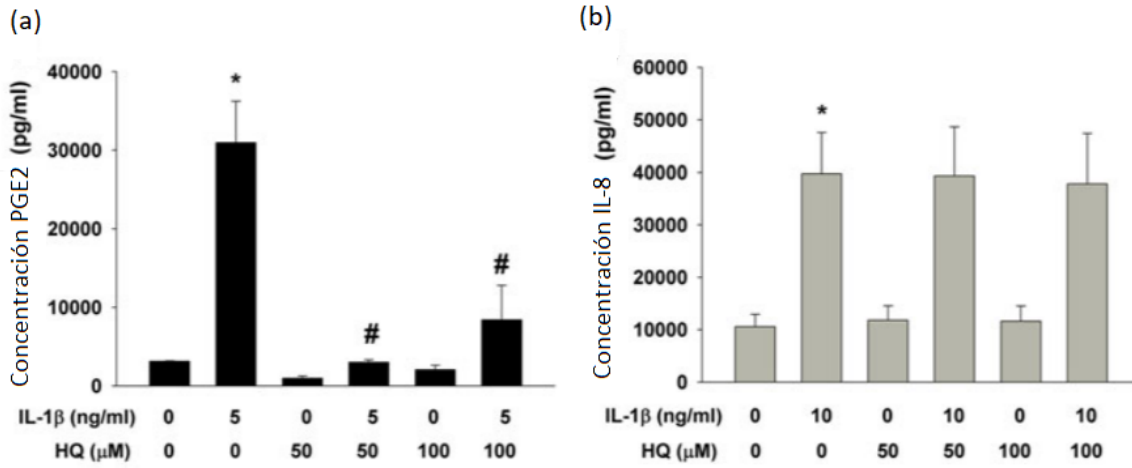


Figura 7: El efecto de la IL-1β en la expresión de las proteínas COX-2 e IL-8 de las células de la pulpa dental y su regulación por HQ. Alrededor de 1×10^6 células/10-cm fueron expuestos a la IL-1β con / sin 30 minutos de pretratamiento y luego co-incubado durante 24 hr. La capa de células se recogió para el análisis de Western Blot. (a) El efecto de la IL-1β en la producción de PGE2 y (b) El efecto de la IL-1β en la producción de IL-8 de las células de la pulpa dental y su regulación por HQ. Aproximadamente 1×10^5 células/24 pocillos se expusieron a la IL-1β con/sin 30 minutos de pretratamiento y luego se co-incubaron con HQ durante 24 horas. Se recogió el medio de cultivo para el análisis por ELISA de los niveles de PGE2 e IL-8 (media \pm SE). *Indica una diferencia estadísticamente significativa cuando se compara con el grupo de control, # indica diferencia significativa cuando se compara con el grupo tratado con IL-1β. COX-2: ciclooxigenasa-2; GAPDH: gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa; HQ: hidroquinona; IL: interleucina. Tomada y adaptada de Chang et al. 2010. (106).

Se realizaron experimentos con células ARPE-19 (línea celular ATCC) cultivadas en medio DMEM/F12 (Medio Eagle modificado de Dulbecco: Mezcla de nutrientes F-12) (1:1) (Life Technologies, Paisley, Reino Unido) con adición de suero fetal bovino al 10% (GE Healthcare Life Sciences, South Logan, UT, EE.UU.), penicilina 100 U/mL, estreptomina 100 μg/mL (Pen Strep, Life Technologies, Grand Island, NY, EE.UU.) y L-glutamina 2 mM (Life Technologies, Paisley, Reino Unido). Los experimentos se llevaron a cabo en el mismo medio sin suplemento de suero, y la L-glutamina se añadió por separado en cada experimento independiente justo antes del cebado con IL-1α. Se disolvió hidroquinona en el medio antes de cada experimento (114).

La hidroquinona induce la producción de ROS y la citotoxicidad de forma dependiente de la concentración en las células humanas ARPE-19 (115,116). Para investigar si la

hidroquinona podía inducir la secreción de citoquinas proinflamatorias, IL-1 β e IL-18, se determinaron sus niveles extracelulares, así como su correlación con la viabilidad celular tras una exposición de células ARPE-19 cebadas con IL-1 α a diferentes concentraciones de hidroquinona que iban de 10 μ M a 500 μ M. Las concentraciones bajas de hidroquinona (10-50 μ M) fueron bien toleradas por las células del EPR (epitelio pigmentario de la retina), ya que la liberación de LDH y los valores de MTT permanecieron inalterados en comparación con las células ARPE-19 cebadas con IL-1 α sin hidroquinona (Figura 7) (115).

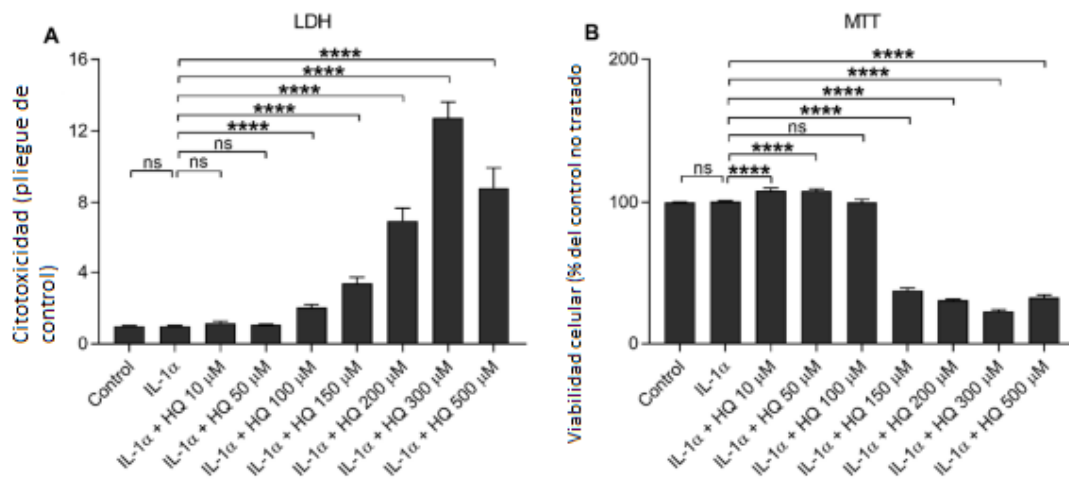


Figura 8: El efecto de la hidroquinona (HQ 10-500 μ M; 18 h) sobre la viabilidad celular de las células ARPE-19 cebadas con IL-1 α , medida utilizando los ensayos LDH (Lactato deshidrogenasa) (A) y MTT (sal de bromuro de difeniltetrazolio) (B). Los resultados se han normalizado con respecto a la media del grupo de control no tratado. Las células tratadas con IL-1 α sirvieron de control para la exposición a la hidroquinona en las células cebadas. Los datos se combinaron a partir de tres experimentos independientes con cuatro muestras paralelas por grupo. Los resultados se muestran como media \pm SEM. **** $p < 0,0001$, ns-no significativo, Prueba U de Mann-Whitney. Tomada y adaptada de Bhattacharai, N. et al. 2021. (108).

Recientemente se ha informado de los efectos del andamiaje de la acil hidroquinona, la estructura más simple de la orto-carbonil-hidroquinona, contra líneas celulares de leucemia (116). Teniendo en cuenta que la fracción orto-carbonil-hidroquinona es una característica estructural que, además de otras actividades, confiere una potente actividad antiplaquetaria a través de la inhibición diferencial de la agregación plaquetaria inducida por el colágeno o el péptido activador del receptor de trombina 6 (TRAP-6) (117), y considerando también que

pequeños cambios estructurales modifican estas propiedades, incluyendo el efecto sobre la fosforilación oxidativa (OXPHOS) (118), y dado que la mayoría de las acil hidroquinonas evaluadas contra las células leucémicas no muestran una citotoxicidad significativa, se decidió utilizar el andamiaje de la acil hidroquinona para mejor desempeño sobre tratamiento de las líneas celulares descritas (118).

5.10.2 Derivados de hidroquinonas

La oxidación del anillo B de la hidroxil-metoxiisoflavona a metoxiflavona quinona y la conversión de la flavona y las isoflavonas en sus correspondientes flavanquinonas o isoflavanquinonas, dio lugar a una potente actividad antiplaquetaria (119).

Entre los derivados de 2-alkoxi 1,4- derivados de naftoquinona, la actividad inhibidora de la agregación plaquetaria inducida por ácido araquidónico (AA), el colágeno y el factor de activación plaquetaria (PAF) es mayor con una mayor longitud de la cadena de 2 alcoxi, con un átomo de cloro en la posición 3 o introduciendo un grupo fenoxi en la posición 2 (120). Por otro lado, se ha demostrado que la presencia de más grupos OH, o/y la metilación o glicosilación de los grupos OH en las 9,10-antraquinonas se asocia a una mejor actividad antiplaquetaria (agonistas utilizados: adenosín difosfato [ADP], AA y colágeno) (121, 122).

Otro estudio estableció que una mayor actividad antiplaquetaria está asociada a la inclusión de un grupo amino libre en la fracción de tiosulfonato de la quinona. Así, el éster S-[(9,10-dihidro-1,4-dimetoxi-9,10-dioxo-2-antracénil) metilo] del ácido 4-aminobenzenosulfonotóxico, dependiente de la dosis, tuvo la mejor actividad antiplaquetaria (IC₅₀ 25 μM, ADP) (123).

La actividad antiplaquetaria (inhibición de la agregación y la secreción) de la vitamina E (forma oxidada) en las plaquetas estimuladas con AA y epinefrina fue mayor (5- 10 veces)

que la actividad de la vitamina E como tal. La vitamina E y la quinona de la vitamina E no tuvieron efectos tóxicos en las plaquetas, manteniendo así la estructura y los segundos mensajeros (por ejemplo, el monofosfato de adenosina cíclico [AMPc]). (123). Por el contrario, la ausencia de vitamina E provoca la destrucción de la membrana mitocondrial en las plaquetas (124).

Se ha descrito que MitoQ disminuyó la producción de ROS tanto en megacariocitos como en las plaquetas, y estabiliza la membrana mitocondrial en la trombocitopenia inducida por la irradiación (125). Además, demostramos que MitoQ tiene una potente actividad antiplaquetaria (datos no publicados). Otro antioxidante ligado al TPP es el mitoTEMPO (eliminador de superóxido dirigido a las mitocondrias). En células de melanoma, mitoTEMPO disminuyó la producción mitocondrial de O₂ y ROS tanto de forma aguda como tras 24 horas de tratamiento (126). El mitoTEMPO disminuye la generación de superóxido inducida por la genipina y la doxorubicina, y atenúa significativamente la activación plaquetaria y la apoptosis. Lo anterior podría explicarse porque mitoTEMPO bloqueó la generación de ROS intraplaquetarias y mitocondriales (127).

En otros estudios se describe a la mitoquinona (MitoQ; 10-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxo-1,4-ciclohexadieno-1-il) decil trifenilfosfonio) como la molécula pionera diseñada exclusivamente para disminuir el estrés oxidativo mitocondrial, siendo evaluada en diversos ensayos clínicos (128). Su participación en el sistema redox va en conjunto a su forma reducida, la hidroquinona MitoQuinol (129).

La MitoQ se almacena en las mitocondrias in vivo para prevenir y proteger el daño celular inducido por la sobreproducción mitocondrial de ROS y el estrés oxidativo (130). Fundamentalmente, este compuesto incluye una fracción de ubiquinona covalentemente adherida a una cadena alifática terminal de 10 carbonos con un complejo de trifenilfosfonio (TPP⁺); es decir el catión lipofílico que se almacena varios cientos de veces en la mitocondria (131).

La molécula MitoQ se une a la superficie, orientada hacia la matriz de la membrana mitocondrial interna (principalmente en el núcleo hidrofóbico de la membrana) que está determinada por el potencial de membrana, y es constantemente reprocesado a ubiquinol por el complejo II de la cadena respiratoria (132). Tras la unión, la parte activa de la MitoQ viene a ser la coenzima Q10 (ubiquinona) y junto a esto, se han descrito un montón de efectos beneficiosos en trastornos como diabetes, inflamación de hígado, enfermedades neurodegenerativas, y además, se ha recomendado como opción terapéutica para distintas ECV (132). En relación a esto se ha demostrado un efecto protector contra la disfunción mitocondrial de las plaquetas, disminuyendo el nivel de ROS tanto en estas como en megacariocitos, sin embargo, es un elemento actualmente en estudio (132).

6. CONCLUSIONES

Las plaquetas pese a ser un componente sanguíneo anucleado y carecer de muchos orgánulos típicos, poseen una amplia relevancia debido a que no sólo se limitan a la regulación de las funciones hemostáticas; sino que desempeñan un papel en el mantenimiento e integridad del sistema vascular en su conjunto, donde ayudan a prevenir la pérdida de sangre. También tienen la facultad de potenciar o inhibir las funciones trombóticas e inflamatorias y se configuran como un actor relevante e inclusive protagónico en muchos procesos metabólicos.

El concepto de plaqueta procoagulante se ha estudiado de una manera amplia en conjunto a las plaquetas agregantes. Ambos conceptos vienen a ser parte de una idea general denominada plaquetas en estado activo. En base a este concepto se ha estudiado el comportamiento y relación en la manera que actúan estas plaquetas en el sitio dañado, debido a sus diferencias estructurales y conformacionales. Ha sido clave someter a diversas pruebas y a diversos compuestos para así ver el comportamiento como tal. Las plaquetas procoagulantes, en una recopilación de estudios, se han determinado apoptóticas y, a su vez, capaces de sufrir necrosis, por lo que estudios de vanguardia sugieren, trabajar sobre estas para solventar gran parte de los eventos adversos cardiovasculares.

Existe una amplia variedad de agonistas que pueden estimular y lograr la activación de las plaquetas. Se ha demostrado por medio de diversos estudios que solo los agonistas fuertes pueden inducir la formación de plaquetas procoagulantes, (importante es considerar que dentro de estos agonistas se consideran los fisiológicos como los no fisiológicos). Entre los agonistas fisiológicos, la coestimulación de la trombina o el péptido activador del receptor de trombina y los agonistas de la glicoproteína VI como el colágeno, péptidos relacionados con éste, la convulxina y el calcio en la solución, producen el máximo efecto de activación. Para el caso del ADP se demostró poco efecto en la generación de plaquetas procoagulantes. De manera concomitante, en un estudio llevado a cabo por Hua y colaboradores. se evaluó la proporción de plaquetas procoagulantes tras el tratamiento con distintos agonistas, dentro de los cuales fueron incluidos la trombina, el colágeno y ambos de manera simultánea. Al

concluir el estudio se demostró que la coestimulación con colágeno y trombina, ayudó a lograr una mayor proporción de plaquetas procoagulantes.

Para la realización de investigaciones basadas en plaquetas procoagulantes, se han empleado diversas muestras para la obtención de esta subpoblación celular.

Un estudio evaluó la generación y rendimiento por medio de tres diferentes tipos de muestras, las cuales incluían plaquetas lavadas, plasma rico en plaquetas y sangre total. Finalmente, se determinó que la sangre total se posiciona como la muestra preferida, lo que se fundamenta en el requerimiento de menos pasos para obtener plaquetas por esta vía. Lo anterior se considera como una ventaja, puesto que la disminución de pasos pretratamiento, contrarresta significativamente la activación y pérdida de plaquetas.

Especulamos que la apertura de mPTP, que conduce a una elevada concentración de calcio citosólico, es un evento crucial para la formación de plaquetas procoagulantes. Por lo tanto, la formación de esta subpoblación de plaquetas se define como un proceso de “todo o nada”. Se sabe también que el aumento de la concentración citosólica de Ca^{+2} es necesario para la formación de plaquetas tanto procoagulantes como no procoagulantes. De lo anterior se desprende que una concentración de Ca^{+2} mayor y sostenida en el tiempo, da paso a la formación de plaquetas procoagulantes, y que una concentración de Ca^{+2} más baja y menos sostenida genera plaquetas no procoagulantes.

Tras una investigación acabada, se ha logrado evidenciar una relación entre la disfunción mitocondrial plaquetaria y las alteraciones asociadas a plaquetas, como el fenómeno de activación de éstas y su relación con diversas enfermedades asociadas. Lo que permite fomentar esta línea investigativa, buscando una intervención dirigida a nivel de este organelo, a modo de regular la actividad procoagulante de las plaquetas por medio de los derivados de estos compuestos aromáticos llamados hidroquinonas, lo que permite abrir una nueva ventana de tratamiento para contrarrestar/combater la formación de trombos en pacientes.

La incipiente investigación sobre la función mitocondrial ha permitido la identificación de pequeñas moléculas sintéticas y de origen natural que actúan sobre las mitocondrias inhibiendo la respiración mitocondrial o mostrando actividad antioxidante mitocondrial. El propósito de estos compuestos es evitar la disfunción a nivel mitocondrial, la activación de plaquetas, la hiperpolarización de las mitocondrias, y prevenir la trombosis venosa y arterial sin riesgo de hemorragia.

Además, se evidenció que los antioxidantes basados en TPP resultan más efectivos que el compuesto antioxidante por sí solo, a pesar de tener el mismo resto antioxidante, puesto que su acumulación al interior de la matriz mitocondrial se magnifica, contribuyendo directamente a la eliminación de la producción de ROS. También los estudios de la relación de la estructura-actividad, serán vitales para la posterior generación de compuestos bioactivos en muchas enfermedades relacionadas con disfunción mitocondrial plaquetaria.

Las hidroquinonas han demostrado un potencial extenso en cuanto a utilidad se refiere. Es un elemento versátil de características variadas, el cual puede ser recogido de diversas maneras y emitir diferentes compuestos que traen beneficios en múltiples áreas. Desde materia prima para colorantes hasta el uso dérmico. Actualmente, el estudio de los beneficios que pueden traer los derivados de hidroquinonas sobre las enfermedades cardiovasculares se encuentra en desarrollo. No obstante, las apreciaciones actuales dilucidan que es posible una relación positiva de hidroquinona-función mitocondrial plaquetaria-plaquetas, lo que podría favorecer la activación de estos últimos elementos y, en consecuencia, evitar una respuesta negativa ante la formación del tapón plaquetario.

Moléculas como flavanquinonas, derivados de naftoquinona, la inclusión de un grupo amino libre en fracciones de tiosulfonato de quinona y el uso de la forma oxidada de la vitamina E, han demostrado acción y mejora sobre la actividad antiplaquetaria, lo cual evitaría la formación de coágulos dañinos para el organismo.

Se comprende que es muy importante determinar los usos sobre las funciones que se pueden aprovechar desde las hidroquinonas hacia las diversas líneas celulares estudiadas, por ejemplo, el andamiaje acil hidroquinona el cual, desempeña funciones positivas sobre células leucémicas, lo cual tiene un enfoque sobre la fosforilación oxidativa (ROS) y el receptor de trombina 6 (TRAP-6). Por otra parte, importante destacar que algunos estudios revelan el carácter citotóxico a la exposición de las HQ sobre células endoteliales, células madres hematopoyéticas y linfocitos; provocando eventos proinflamatorios deteriorando la vasorelajación. Estas condiciones se han evidenciado cuando existe una transcripción génica de translocación nuclear de NF- κ B.

Hoy en día, la búsqueda de nuevas terapias para combatir enfermedades cardiovasculares se ha tornado en un tema de gran interés y amplio estudio. Existen investigaciones acabadas respecto a el uso de aspirina en la prevención de ECV (actúa bloqueando la formación de tromboxano A₂) y en torno a los inhibidores de P2Y₁₂ (como el clopidrogrel, prasugrel, ticagrelor) con el mismo fin, los cuales actúan bloqueando la secreción de ADP y ATP en las plaquetas. Los mecanismos de acción anteriores son bastante similares a los que presentan los inhibidores de la GPIIb/IIIa, pues todos son dirigidos a plaquetas agregadas. En consecuencia, sus aplicaciones clínicas continúan siendo limitadas, ya que la inhibición de plaquetas agregadoras suele ir acompañado de hemorragia. Por lo tanto, la implementación de un nuevo enfoque terapéutico asociado a las plaquetas procoagulantes, orientado a inhibir la formación de trombina, sin la afección de las plaquetas agregantes (por ende, sin hemorragia), configuran a esta subpoblación de plaquetas como una diana para un posible método antitrombótico.

El oxígeno es vital para la vida, pero representa una paradoja para los organismos que lo utilizan; si bien este elemento desempeña una función importante como aceptor final de la cadena transportadora de electrones (durante el proceso de respiración celular), también constituye el punto de partida para el estrés oxidativo. Es sabido que el 95% de oxígeno que consumen los organismos aerobios se transforma en H₂O en el proceso de respiración mitocondrial, mientras que, por otro lado, un pequeño porcentaje (cerca del 5%) es convertido a especies semirreducidas conocidas ROS. En el caso de ocurrir un desbalance a

corto plazo del equilibrio antioxidante/pro-oxidantes, se producirá el fenómeno conocido como estrés oxidativo (EO) que genera la disrupción de los sistemas de señalización y control. En los casos en que los niveles de (EO) sean elevados (como suele ocurrir en las personas con factores de riesgo como tabaquismo, hipercolesterolemia, cuadros infecciosos, etc.), una amplia variedad de genes que responden a la oxidación, puede activarse y codificar la expresión de factores de crecimiento, quimiocinas y moléculas de adhesión. Sustancias que tienen la facultad de estimular el crecimiento del músculo liso vascular, favorecer la interacción entre los leucocitos y las células endoteliales, evento que contribuye con la formación de la placa de ateroma. Aquí radica la importancia de las hidroquinonas y sus derivados como MitoQ, que se almacena a nivel mitocondrial con el objetivo de prevenir y proteger el daño celular inducido por la sobreproducción mitocondrial de ROS, también mitoTEMPO que tiene la capacidad de bloquear la generación de ROS intraplaquetarias y mitocondriales.

Al finalizar esta revisión bibliográfica podemos concluir que: las herramientas de trabajo y las alternativas de estudio para mejorar la calidad de vida de las personas, respecto a las enfermedades cardiovasculares, avanzan a pasos agigantados.

El uso de nuevos compuestos, otorgan un abanico de posibilidades en los tratamientos, o más aún, en el análisis del comportamiento de las estructuras involucradas en el proceso de formación del coágulo. Dejando en claro que existen, dentro de lo desconocido, las claves para dar un paso más en los avances hematológicos.

7. REFERENCIAS

1. Vera-Remartínez EJ, Lázaro Monge R, Granero Chinesta S, Sánchez-Alcón Rodríguez D, Planelles Ramos MV. Factores de riesgo cardiovascular en adultos jóvenes de un centro penitenciario. *Rev Esp Salud Pública* [Internet]. 2018 [citado el 20 de mayo de 2022];92. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272018000100416
2. Enfermedades cardiovasculares [Internet]. Who.int. [citado el 19 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/health-topics/cardiovascular-diseases>
3. Sarre-Álvarez D, Cabrera-Jardines R, Rodríguez-Weber F, Díaz-Greene E. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Revisión de las escalas de riesgo y edad cardiovascular. *Med interna Méx* [Internet]. 2018 [citado el 20 de mayo de 2022];34(6):910–23. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-48662018000600010&script=sci_arttext
4. Troncoso-Pantoja C, Martínez-Sanguinetti MA, Ulloa N, Celis-Morales C. La mayoría de las enfermedades cardiovasculares se atribuyen a factores de riesgo que podrían ser modificados con cambios de los estilos de vida. *Rev Med Chil* [Internet]. 2020 [citado el 20 de junio de 2022];148(1):126–8. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872020000100126
5. Lahoz C, Mostaza JM. La Aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Rev Esp Cardiol* [Internet]. 2007;60(2):184–95. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1157/13099465>
6. Roth GA, Forouzanfar MH, Moran AE, Barber R, Nguyen G, Feigin VL, et al. Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. *N Engl J Med* [Internet]. 2015;372(14):1333–41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1406656>
7. Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med* [Internet]. 2009;122(1 Suppl):S3–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.10.013>
8. Robbins CS, Hilgendorf I, Weber GF, Theurl I, Iwamoto Y, Figueiredo J-L, et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis. *Nat Med* [Internet]. 2013;19(9):1166–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nm.3258>
9. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology* [Internet]. 2007;58(5):513–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/0003319707303443>

10. Hansson GK. MECHANISMS OF DISEASE: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. The New England Journal of Medicine; Boston [Internet]. 2005;352(16):1685–95. Disponible en: https://www.proquest.com/docview/223931318?accountid=15083%5Cn?url_ver=Z39.88-2004&atitle=MECHANISMS+OF+DISEASE:+Inflammation,+Atherosclerosis,+and+Coronary+Artery+&genre=article&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&sid=ProQ:ProQ:health-completeshell&forcedol=true
11. Iván Palomo G., Jaime Pereira G., Julia Palma B. Hematología. Fisiopatología y diagnóstico. UNIVERSIDAD DE TALCA; 2009.
12. Davì G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. N Engl J Med [Internet]. 2007;357(24):2482–94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra071014> (11)
13. Wagner DD, Burger PC. Las plaquetas en inflamación and trombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003;23:2131-7.
14. Vayne C, Gruel Y, Pouplard C. Hemostasia: fisiología y principales pruebas de exploración. EMC - Tratado Med [Internet]. 2021;25(1):1–10. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1636-5410\(21\)44685-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1636-5410(21)44685-4).
15. Société française d'hématologie. Hémostase et coagulation. En: Guides des analyses en hématologie. Paris: Elsevier Masson; 2018.
16. Massignon D. Les tests de diagnostic rapides d'hémostase lors d'une hémorragie. Rev Francoph Lab 2015;(n475):45–52.
17. Brewer DB. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. Br J Haematol, 2006; 133: 251-8.
18. Anjali S, Amy. S. Trastornos de la función plaquetaria. WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA. 2008;
19. Davì G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. N Engl J Med, 2007; 357: 2482-94.
20. Abetel G, Angelillo-Scherrer A. Thrombophilie : quand y penser ? Rev Med Suisse 2014;10(429):1028–33.
21. Cappellini MD , Comin-Colet J , de Francisco A , et al. IRON CORE Group. Iron deficiency across chronic inflammatory conditions: International expert opinion on definition, diagnosis, and management . Am J Hematol 2017 ; 92 : 1068 – 78 .
22. Franchini M. The use of desmopressin as a hemostatic agent: a concise review. Am J Hematol, 2007 Aug; 82(8):731-5.

23. López Farré A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp Cardiol Supl* [Internet]. 2013;13:2–7. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1131-3587\(13\)70073-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1131-3587(13)70073-6)
24. Utalca.cl. [citado el 7 de junio de 2021]. Disponible en: <http://editorial.utalca.cl/docs/ebook/hematologia.pdf>.
25. Jurk K. Platelet granules - secretory and secretive. *Hamostaseologie* [Internet]. 2017;37(3):208–10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5482/HAMO-16-07-0023>
26. López Farré A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2013;13:2–7.
27. Selvadurai MV, Hamilton JR. Structure and function of the open canalicular system – the platelet’s specialized internal membrane network. *Platelets* [Internet]. 2018;29(4):319–25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/09537104.2018.1431388>
28. Rendu, F., & Brohard-Bohn, B. (2001). The platelet release reaction: Granules’ constituents, secretion and functions. *Platelets*, 12, 261–273.
29. Cimmino G, Golino P. Platelet biology and receptor pathways. *J Cardiovasc Transl Res* [Internet]. 2013;6(3):299–309. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12265-012-9445-9> .
30. Heijnen, H. F., Debili, N., Vainchencker, W., Breton-Gorius, J., Geuze, H. J., & Sixma, J. J. (1998). Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet alpha-granules. *Blood*, 91(7), 2313–2325.
31. Jurk, K., & Kehrel, B. E. (2005). Platelets: Physiology and biochemistry. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 31(4), 381– 392.
32. Kumar, R. A., Dong, J. F., Thaggard, J. A., Cruz, M. A., Lopez, J. A., & McIntire, L. V. (2003). Kinetics of GPIb alpha-vWF-A1 tether bond under flow: Effect of GPIb alpha mutations on the association and dissociation rates. *Biophysical Journal*, 85, 4099– 4109.
33. Rubenstein DA, Yin W. Platelet-activation mechanisms and vascular remodeling. *Compr Physiol* [Internet]. 2018;8(3):1117–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cphy.c170049>.
34. Elaib Z, Adam F, Berrou E, Bordet JC, Prevost N, Bobe R, Bryckaert M, Rosa JP. Full activation of mouse platelets requires ADP secretion regulated by SERCA3 ATPase-dependent calcium stores. *Blood* 128: 1129-1138, 2016. 10.1182/blood-2015-10-678383.
35. Holmsen H, Weiss HJ. Secretory storage pools in platelets. *Annu Rev Med* 30: 119-134, 1979. 10.1146/annurev.me.30.020179.001003.

36. Chu Y, Guo H, Zhang Y, Qiao R. Procoagulant platelets: Generation, characteristics, and therapeutic target. *J Clin Lab Anal*. 2021 May;35(5):e23750.
37. Kile BT. The role of the intrinsic apoptosis pathway in platelet life and death. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2009 Jul [cited 2021 Jul 10];7 Suppl 1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19630803/>.
38. Jobe SM, Wilson KM, Leo L, Raimondi A, Molkenstein JD, Lentz SR, et al. Critical role for the mitochondrial permeability transition pore and cyclophilin D in platelet activation and thrombosis. *Blood*. 2008 Feb 1;111(3):1257–65.
39. Jackson SP, Schoenwaelder SM. Procoagulant platelets: are they necrotic? [Internet]. Vol. 116, *Blood*. 2010. p. 2011–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-01-261669>.
40. Nesbitt WS, Westein E, Tovar-Lopez FJ, Tolouei E, Mitchell A, Fu J, et al. A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation. *Nat Med*. 2009;15(6):665–73.
41. Munnix ICA, Cosemans JMEM, Auger JM, Heemskerk JWM. Platelet response heterogeneity in thrombus formation. *Thromb Haemost*. 2009;102(6):1149–56.
42. Rubenstein DA, Yin W. Platelet-activation mechanisms and vascular remodeling. *Compr Physiol* [Internet]. 2018;8(3):1117–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cphy.c170049>.
43. Bennett JS. The molecular biology of platelet membrane proteins. *Semin Hematol*. 1990;27(2):186–204.
44. Woods VL Jr, Wolff LE, Keller DM. Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb-IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem* [Internet]. 1986;261(32):15242–51. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)66859-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258(18)66859-0)
45. Peerschke EI. The platelet fibrinogen receptor. *Semin Hematol*. 1985;22(4):241–59.
46. Doolittle RF, Watt KW, Cottrell BA, Strong DD, Riley M. The amino acid sequence of the alpha-chain of human fibrinogen. *Nature* [Internet]. 1979;280(5722):464–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/280464a0>.
47. Weisel JW, Nagaswami C, Makowski L. Twisting of fibrin fibers limits their radial growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1987;84(24):8991–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.84.24.8991>.

48. Farrell DH, Thiagarajan P, Chung DW, Davie EW. Role of fibrinogen alpha and gamma chain sites in platelet aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1992;89(22):10729–32. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.89.22.10729>.
49. Ugarova TP, Budzynski AZ, Shattil SJ, Ruggeri ZM, Ginsberg MH, Plow EF. Conformational changes in fibrinogen elicited by its interaction with platelet membrane glycoprotein GPIIb-IIIa. *J Biol Chem* [Internet]. 1993;268(28):21080–7. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)36896-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258(19)36896-6).
50. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol* 31: 741-746, 1999. 10.1016/S1357-2725(99)00032- 1.
51. Walford G, Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J Thromb Haemost* 1: 2112-2118, 2003. 10.1046/j.1538-7836.2003.00345. x.
52. Zhou Q, Hellermann GR, Solomonson LP. Nitric oxide release from resting human platelets. *Thromb Res* 77: 87-96, 1995. 10.1016/0049- 3848(95)90868-G.
53. Hua VM, Chen VMY. Procoagulant platelets and the pathways leading to cell death. *Semin Thromb Hemost*. 2015; 41:405-412.
54. Topalov NN, Yakimenko AO, Canault M, Artemenko EO, Zakharova NV, Abaeva AA, et al. Two types of procoagulant platelets are formed upon physiological activation and are controlled by integrin α (IIb) β (3). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(10):2475–83.
55. Hua VM, Abeynaïke L, Glaros E, Campbell H, Pasalic L, Hogg PJ, et al. Necrotic platelets provide a procoagulant surface during thrombosis. *Blood*. 2015;126(26):2852–62.
56. Fuentes E, Araya-Maturana R, Urrea FA. Regulation of mitochondrial function as a promising target in platelet activation-related diseases. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2022]; 136:172–82. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30625393/>.
57. Clemetson KJ. Platelets and primary haemostasis. *Thromb Res* [Internet]. 2012;129(3):220–4. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0049384811006323>.
58. Neupert W. Mitochondrial gene expression: A playground of evolutionary tinkering. *Annu Rev Biochem* [Internet]. 2016;85(1):65–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-biochem-011116-110824>.
59. Capt C, Passamonti M, Breton S. The human mitochondrial genome may code for more than 13 proteins. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal* [Internet]. 2016;27(5):3098–101. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3109/19401736.2014.1003924>.

60. Wang Z, Guo W, Kuang X, Hou S, Liu H. Nanopreparations for mitochondria targeting drug delivery system: Current strategies and future prospective. *Asian J Pharm Sci* [Internet]. 2017;12(6):498–508. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087617302751>.
61. Weinberg SE, Chandel NS. Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy. *Nat Chem Biol* [Internet]. 2015 [citado el 21 de abril de 2022];11(1):9–15. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nchembio.1712>.
62. Becker T, Wagner R. Mitochondrial outer membrane channels: Emerging diversity in transport processes. *Bioessays* [Internet]. 2018;40(7): e1800013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/bies.201800013>.
63. Rodríguez-Enríquez S, Torres-Márquez ME, Moreno-Sánchez R. Substrate oxidation and ATP supply in AS-30D hepatoma cells. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2000;375(1):21–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1006/abbi.1999.1582>.
64. Galkin A, Dröse S, Brandt U. The proton pumping stoichiometry of purified mitochondrial complex I reconstituted into proteoliposomes. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2006;1757(12):1575–81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.10.001>.
65. Galkin A, Dröse S, Brandt U. The proton pumping stoichiometry of purified mitochondrial complex I reconstituted into proteoliposomes. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2006;1757(12):1575–81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.10.001>.
66. Rizzuto R, Marchi S, Bonora M, Aguiari P, Bononi A, De Stefani D, et al. Ca²⁺ transfer from the ER to mitochondria: when, how and why. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2009;1787(11):1342–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.03.015> 31 61
67. Cárdenas C, Miller RA, Smith I, Bui T, Molgó J, Müller M, et al. Essential regulation of cell bioenergetics by constitutive InsP3 receptor Ca²⁺ transfer to mitochondria. *Cell* [Internet]. 2010;142(2):270–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.007>.
68. Kim H-E, Grant AR, Simic MS, Kohnz RA, Nomura DK, Durieux J, et al. Lipid Biosynthesis Coordinates a Mitochondrial-to-Cytosolic Stress Response. *Cell* [Internet]. 2016;166(6):1539-1552.e16. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.027>.
69. Zhang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* [Internet]. 2010;464(7285):104–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nature08780>

70. Tait SWG, Green DR. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2010;11(9):621–32. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm2952>.
71. Brand MD. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2016; 100:14–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.001>.
72. Mailloux RJ, Jin X, Willmore WG. Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox Biol* [Internet]. 2014; 2:123–39. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.011>.
73. Kramer PA, Ravi S, Chacko B, Johnson MS, Darley-Usmar VM. A review of the mitochondrial and glycolytic metabolism in human platelets and leukocytes: implications for their use as bioenergetic biomarkers. *Redox Biol* [Internet]. 2014; 2:206–10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.026>.
74. Sowton AP, Millington-Burgess SL, Murray AJ, Harper MT. Rapid kinetics of changes in oxygen consumption rate in thrombin-stimulated platelets measured by high-resolution respirometry. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2018;503(4):2721–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.08.031>.
75. Ravi S, Chacko B, Sawada H, Kramer PA, Johnson MS, Benavides GA, et al. Metabolic plasticity in resting and thrombin activated platelets. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(4):e0123597. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0123597>.
76. Cardenes N, Corey C, Geary L, Jain S, Zharikov S, Barge S, et al. Platelet bioenergetic screen in sickle cell patients reveals mitochondrial complex V inhibition, which contributes to platelet activation. *Blood* [Internet]. 2014;123(18):2864–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-09-529420>.
77. Gyulkhandanyan AV, Allen DJ, Mykhaylov S, Lyubimov E, Ni H, Freedman J, et al. Mitochondrial inner membrane depolarization as a marker of platelet apoptosis: Disclosure of nonapoptotic membrane depolarization: Disclosure of nonapoptotic membrane depolarization. *Clin Appl Thromb Hemost* [Internet]. 2017;23(2):139–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/1076029616665924>.
78. Kwong JQ, Molkentin JD. Physiological and pathological roles of the mitochondrial permeability transition pore in the heart. *Cell Metab* [Internet]. 2015;21(2):206–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.001>.
79. Obydenny SI, Sveshnikova AN, Ataulakhanov FI, Panteleev MA. Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations

during activation. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2016;14(9):1867–81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/jth.1339>.

80. Yuan J, Ding P-W, Yu M, Zhang S-S, Long Q, Cheng X, et al. IL-17 Induces MPTP opening through ERK2 and P53 signaling pathway in human platelets. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* [Internet]. 2015;35(5):679–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11596-015-1489-z>.

81. Fuentes M, Araya-Maturana R, Palomo I, Fuentes E. Platelet mitochondrial dysfunction and mitochondria-targeted quinone-and hydroquinone-derivatives: Review on new strategy of antiplatelet activity. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2018; 156:215–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2018.08.035>

82. J.C. Lien, L.J. Huang, C.M. Teng, J.P. Wang, S.C. Kuo, Synthesis of 2-alkoxy 1,4-naphthoquinone derivatives as antiplatelet, antiinflammatory, and antiallergic agents, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 50(5) (2002) 672-4.

83. HM, Neuspiel M, Wasiak S. Mitochondria: more than just a powerhouse. *Curr Biol*. 2006;16(14):R551-60.

84. Phaniendra, A. Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implications in various diseases. *Ind J Clin Biochem*, 30(1), 11-26.

85. Carvajal Carvajal Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med. leg. Costa Rica* [Internet]. 2019 Mar [cited 2022] ; 36(1): 91-100. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091&lng=en.

86. Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., et al. (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci*, 16, 193-217.

87. Anand R, Sharma DR, Verma D, Bhalla A, Gill KD, Singh S. Mitochondrial electron transport chain complexes, catalase and markers of oxidative stress in platelets of patients with severe aluminum phosphide poisoning. *Hum Exp Toxicol* [Internet]. 2013;32(8):807–16. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/0960327112468909>.

88. Sjövall F, Morota S, Hansson MJ, Friberg H, Gnaiger E, Elmér E. Temporal increase of platelet mitochondrial respiration is negatively associated with clinical outcome in patients with sepsis. *Crit Care* [Internet]. 2010;14(6):R214. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/cc9337>.

89. Puskarich MA, Kline JA, Watts JA, Shirey K, Hosler J, Jones AE. Early alterations in platelet mitochondrial function are associated with survival and organ failure in patients with

septic shock. *J Crit Care* [Internet]. 2016;31(1):63–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrc.2015.10.005>

90. Fuentes M, Araya-Maturana R, Palomo I, Fuentes E. Platelet mitochondrial dysfunction and mitochondria-targeted quinone-and hydroquinone-derivatives: Review on new strategy of antiplatelet activity. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2018;156:215–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2018.08.035>

91. Wang Z, Cai F, Chen X, Luo M, Hu L, Lu Y. The role of mitochondria-derived reactive oxygen species in hyperthermia-induced platelet apoptosis. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(9):e75044. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0075044>

92. Bakdash N, Williams MS. Spatially distinct production of reactive oxygen species regulates platelet activation. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2008;45(2):158–66. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.021>

93. Boudreau LH, Duchez A-C, Cloutier N, Soulet D, Martin N, Bollinger J, et al. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation. *Blood* [Internet]. 2014;124(14):2173–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2014-05-573543>

94. Xin G, Wei Z, Ji C, Zheng H, Gu J, Ma L, et al. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* prevents thrombosis without increased bleeding risk by inhibiting platelet activation and mtDNA release. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2017;108:247–57. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.018>

95. Matarrese P, Straface E, Palumbo G, Anselmi M, Gambardella L, Ascione B, et al. Mitochondria regulate platelet metamorphosis induced by opsonized zymosan A--activation and long-term commitment to cell death: Mitochondria in platelet activation. *FEBS J* [Internet]. 2009;276(3):845–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06829.x>

96. Lopez JJ, Salido GM, Gómez-Arteta E, Rosado JA, Pariente JA. Thrombin induces apoptotic events through the generation of reactive oxygen species in human platelets. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2007;5(6):1283–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02505.x>

97. Rusak T, Tomasiak M, Ciborowski M. Peroxynitrite can affect platelet responses by inhibiting energy production. *Acta Biochim Pol* [Internet]. 2006;53(4):769–76. Disponible en: http://dx.doi.org/10.18388/abp.2006_3305

98. Misztal T, Rusak T, Tomasiak M. Peroxynitrite may affect clot retraction in human blood through the inhibition of platelet mitochondrial energy production. *Thromb Res*

[Internet]. 2014;133(3):402–11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2013.12.016>

99. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Brownlee M. Hyperglycemia potentiates collagen-induced platelet activation through mitochondrial superoxide overproduction. *Diabetes* [Internet]. 2001;50(6):1491–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.50.6.1491>

100. Doughan AK, Dikalov SI. Mitochondrial redox cycling of mitoquinone leads to superoxide production and cellular apoptosis. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(11):1825–36.

101. nl//www Instijlmedia. Hidroquinona [Internet]. Laboratoriumdiscounter.nl. [cited 2021 Jul 10]. Available from: <https://www.laboratoriumdiscounter.nl/es/quimicos/a-z/h/hidroquinona/>.

102. McGregor D. Hydroquinone: an evaluation of the human risks from its carcinogenic and mutagenic properties. *Crit Rev Toxicol* [Internet]. 2007;37(10):887–914. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/10408440701638970>

103. W. Chowanadisai, K.A. Bauerly, E. Tchapanian, A. Wong, G.A. Cortopassi, R.B. Rucker, Pyrroloquinoline quinone stimulates mitochondrial biogenesis through cAMP response element-binding protein phosphorylation and increased PGC1alpha expression, *J Biol Chem* 285(1) (2010) 142-52.

104. N. El-Najjar, H. Gali-Muhtasib, R.A. Ketola, P. Vuorela, A. Urtti, H. Vuorela, The chemical and biological activities of quinones: overview and implications in analytical detection, *Phytochemistry Reviews* 10(3) (2011) 353.

105. J. Hirst, Mitochondrial complex I, *Annu Rev Biochem* 82 (2013) 551-75.

106. E.T. Oh, H.J. Park, Implications of NQO1 in cancer therapy, *BMB Rep* 48(11) (2015) 609-17.

107. A. Kumar, A. Singh, A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions, *Front Pharmacol* 6 (2015) 206.

108. A. Berenjian, R. Mahanama, J. Kavanagh, F. Dehghani, Vitamin K series: current status and future prospects, *Crit Rev Biotechnol* 35(2) (2015) 199-208

109. McGregor, D. (2007). Hydroquinone: An evaluation of the human risks from its carcinogenic and mutagenic properties. *Critical Reviews in Toxicology*, 37, 887–914.

110. Chang M-C, Chang B-E, Pan Y-H, Lin B-R, Lian Y-C, Lee M-S, et al. Antiplatelet, antioxidative, and anti-inflammatory effects of hydroquinone: CHANG et al. *J Cell Physiol* [Internet]. 2019;234(10):18123–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.28444>.

111. Siew, E. L., Chan, K. M., Williams, T., Ross, D., & Inayat-Hussain, S. H. (2012). Protection of hydroquinone-induced apoptosis by downregulation of Fau is mediated by NQO1. *Free Radical Biology and Medicine*, 53, 1616–1624.
112. Bhattarai, N.; Korhonen, E.; Toppila, M.; Koskela, A.; Kaarniranta, K.; Mysore, Y.; Kauppinen, A. Resvega Alleviates Hydroquinone-Induced Oxidative Stress in ARPE-19 Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 2066
113. Moustafa, M.T.; Ramirez, C.; Schneider, K.; Atilano, S.R.; Limb, G.A.; Kuppermann, B.D.; Kenney, M.C. Protective Effects of Memantine on Hydroquinone-Treated Human Retinal Pigment Epithelium Cells and Human Retinal Müller Cells. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2017, 33, 610–619.
114. V. Donoso-Bustamante, E.A. Borrego, Y. Schiaffino-Bustamante, D.A. Gutiérrez, J.P. Millas-Vargas, S. Fuentes-Retamal, P. Correa, I. Carrillo, R.J. Aguilera, D. Miranda, I. Chávez-Báez, R. Pulgar, F.A. Urra, A. Varela-Ramírez, R. Araya-Maturana, An acylhydroquinone derivative produces OXPHOS uncoupling and sensitization to BH3 mimetic ABT-199 (Venetoclax) in human promyelocytic leukemia cells, *Bioorganic Chemistry* 100 (2020) 103935.
115. D. Mendez, F.A. Urra, J.P. Millas-Vargas, M. Alarcon, J. Rodriguez-Lavado, I. Palomo, A. Trostchansky, R. Araya-Maturana, E. Fuentes, Synthesis of antiplatelet ortho-carbonyl hydroquinones with differential action on platelet aggregation stimulated by collagen or TRAP-6, *Eur J Med Chem* 192 (2020) 112187.
116. F.A. Urra, M. Cordova-Delgado, M. Lapier, A. Orellana-Manzano, L. AcevedoArevalo, H. Pessoa-Mahana, J.M. Gonzalez-Vivanco, M. Martinez-Cifuentes, O. Ramirez-Rodriguez, J.P. Millas-Vargas, B. Weiss-Lopez, M. Pavani, J. Ferreira, R. Araya-Maturana, Small structural changes on a hydroquinone scaffold determine the complex I inhibition or uncoupling of tumoral oxidative phosphorylation, *Toxicol Appl Pharmacol* 291 (2016) 46-57.
117. Wang JY, Li JQ, Xiao YM, Fu B, Qin ZH. Triphenylphosphonium (TPP)-based antioxidants: A new perspective on antioxidant design. *ChemMedChem*. 2020;15(5):404–10.
118. Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1995;1271(1):195–204. McBride
119. C.Y. Chang, L.J. Huang, J.P. Wang, C.M. Teng, S.C. Chen, S.C. Kuo, Synthesis and anti-platelet, anti-inflammatory and anti-allergic activities of methoxyisoflavanquinone and related compounds, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 48(7) (2000) 964-73.

120. J.C. Lien, L.J. Huang, C.M. Teng, J.P. Wang, S.C. Kuo, Synthesis of 2-alkoxy 1,4-naphthoquinone derivatives as antiplatelet, antiinflammatory, and antiallergic agents, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 50(5) (2002) 672-4.
121. H.S. Yun-Choi, J.H. Kim, M. Takido, Potential inhibitors of platelet aggregation from plant sources, V. Anthraquinones from seeds of *Cassia obtusifolia* and related compounds, *J Nat Prod* 53(3) (1990) 630-3
122. K. Xu, P. Wang, L. Wang, C. Liu, S. Xu, Y. Cheng, Y. Wang, Q. Li, H. Lei, Quinone derivatives from the genus *Rubia* and their bioactivities, *Chem Biodivers* 11(3) (2014) 341-63.
123. K. Bolibrukh, S. Polovkovich, O. Khoumeri, T. Halenova, I. Nikolaeva, O. Savchuk, T. Terme, P. Vanelle, V. Lubenets, V. Novikov, Synthesis and AntiPlatelet Activity of Thiosulfonate Derivatives Containing a Quinone Moiety, *Sci Pharm* 83(2) (2015) 221-31. 113
124. S. Arimori, K. Sumitomo, Ultrastructure of platelets of the vitamin E-deficient rats, *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 23(5) (1977) 377-84.
125. H. Ramsey, Q. Zhang, M.X. Wu, Mitoquinone restores platelet production in irradiation-induced thrombocytopenia, *Platelets* 26(5) (2015) 459-66.
126. R.R. Nazarewicz, A. Dikalova, A. Bikineyeva, S. Ivanov, I.A. Kirilyuk, I.A. Grigor'ev, S.I. Dikalov, Does scavenging of mitochondrial superoxide attenuate cancer pro-survival signaling pathways?, *Antioxid Redox Signal* 19(4) (2013) 344-9.
127. Z. Wang, J. Wang, R. Xie, R. Liu, Y. Lu, Mitochondria-derived reactive oxygen species play an important role in Doxorubicin-induced platelet apoptosis, *Int J Mol Sci* 16(5) (2015) 11087-100.
128. Snow BJ, Rolfe FL, Lockhart MM, Frampton CM, O'Sullivan JD, Fung V, et al. A double-blind, placebo-controlled study to assess the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ as a disease-modifying therapy in Parkinson's disease. *Mov Disord* [Internet]. 2010;25(11):1670-4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/mds.23148>.
129. Tauskela, J.S. MitoQ—a mitochondria-targeted antioxidant. *IDrugs* 2007, 10, 399-412.
130. Chen, W.; Guo, C.; Jia, Z.; Wang, J.; Xia, M.; Li, C.; Li, M.; Yin, Y.; Tang, X.; Chen, T.; et al. Inhibition of Mitochondrial ROS by MitoQ Alleviates White Matter Injury and Improves Outcomes after Intracerebral Haemorrhage in Mice. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2020, 2020, 8285065

131. Méndez D, Arauna D, Fuentes F, Araya-Maturana R, Palomo I, Alarcón M, et al. Mitoquinone (MitoQ) inhibits platelet activation steps by reducing ROS levels. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020;21(17):6192. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21176192>.

132. Fuentes, E.; Araya-Maturana, R.; Urra, F.A. Regulation of mitochondrial function as a promising target in platelet activation-related diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 2019, 136, 172–182.