

## **LAS PLAQUETAS HUMANAS SINTETIZAN Y EXPRESAN FACTOR TISULAR ACTIVO**

**O. Panes<sup>a</sup>, V. Matus<sup>a</sup>, C.G. Sáez<sup>a</sup>, T. Quiroga<sup>b</sup>, J. Pereira<sup>a</sup> y D. Mezzano<sup>a</sup>**

*Deptos. de Hematología-Oncología<sup>a</sup> y Laboratorio Clínico<sup>b</sup>, Fac. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.*

La presencia, origen y funcionalidad del factor tisular (FT) en la sangre, y especialmente en las plaquetas son motivo de activa controversia. El objetivo de este estudio es tratar de responder estas preguntas en plaquetas humanas. Obtuvimos suspensiones de plaquetas libres de monocitos, confirmado por microscopía de fluorescencia, citometría de flujo y ausencia de amplificación de CD14 por RT-PCR. Al contrario, las preparaciones de mononucleares separados por gradientes de Ficol-Hypaque contenían monocitos (11-20%), linfocitos y siempre, plaquetas. En 8/15 muestras de plaquetas aisladas, observamos una baja expresión de ARNm-FT por TR-RPC, que aumentó significativamente 15 minutos después de estimulación con el péptido de activación del receptor de trombina (TRAP, 5 #mM) en 12/15 experimentos. Esto se asoció temporalmente con aumento de la proteína (banda of ~47 kDa y bandas menores de ~27, and ~60 kDa) visualizadas en "inmuno-blots" y en inmunoprecipitados de membranas plaquetarias, usando 2 anticuerpos distintos. Asimismo, la actividad procoagulante dependiente de FT (ensayo de generación de F Xa) aumentó rápidamente, entre 300 y 400% luego de la activación, siendo inhibida en 55% y 82% con anticuerpos anti-FT y anti FVIIa, respectivamente. Las plaquetas incubadas con [<sup>35</sup>S]-metionina incorporaron el isótopo en proteínas inmunoprecipitadas de membranas plaquetarias con distintos anticuerpos anti-FT y reveladas por autorradiografía. Los PM de las proteínas marcadas neosintetizadas fueron similares a los observados en inmuno-blots e inmunoprecipitados. La síntesis de novo también aumentó significativamente con la activación, y fue inhibida con puromicina pero no con actinomicina D. Se descartó la participación de monocitos en estos hallazgos. Observamos variabilidad inter-individuos que, si es confirmada puede ser fisiológica y fisiopatológicamente muy relevante. Así, las plaquetas humanas no sólo ensamblan en su superficie las reacciones de la coagulación, sino también sintetizan, almacenan y exponen su propio FT, que gatilla la generación de trombina y el depósito de fibrina. Este proceso ocurriría sincronizado en el tiempo y espacialmente focalizado, simplificando y haciendo más coherente el modelo actual de hemostasia celular.