

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INMUNOTROMBOSIS Y TROMBOINFLAMACIÓN:  
CONCEPTOS GENERALES, MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS, ENFERMEDADES  
IMPLICADAS Y NUEVAS OPCIONES TERAPÉUTICAS

Trabajo final de graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa de  
Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar el título de Especialidad en  
Hematología

DAVID DIAZ VENEGAS

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica  
2024

## DEDICATORIA

*A mis abuelos*

*Aunque ya no están, siguen más presentes que nunca.*

*A mami,*

*porque sin las bases que me dio nunca hubiera podido llegar hasta aquí.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Carlos, por la paciencia, por escucharme, por comprenderme y apoyarme desde el inicio de la especialidad. Por ese amor que ambos compartimos por la hematología.*

*A mis profesores de la especialidad, Meli, Walter.  
Por todo su esfuerzo y por los valiosos conocimientos que nos transmitieron.*

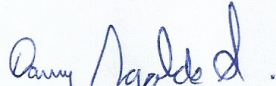
*A mis compañeros de trabajo.  
Por su apoyo durante los 2 años de especialidad.*

*A mi jefe, el Dr. Cerdas.  
Por la oportunidad y apoyo para cursar la especialidad.*

*A mis compañeros de la especialidad.  
Por todos esos ánimos y ese apoyo que nos dimos en los días difíciles.*

*A mi tutor y lectores: Dr. Ugalde, Dra. Solano y Dr. Cartín.  
Por la colaboración y las valiosas retroalimentaciones.*

Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Hematología



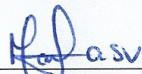
---

Esp. Dany Ugalde Solera  
**Profesor Tutor**



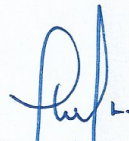
---

Esp. Walter Cartín Sánchez  
**Lector**



---

Esp. Mariela Solano Vargas  
**Lectora**



---

David Díaz Venegas  
**Sustentante**

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>ii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iii</b>
<b>TABLA DE CONTENIDOS</b> .....	<b>v</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>CAPÍTULO I. CONCEPTOS GENERALES Y EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>RESPUESTA HEMOSTÁSICA A LA LESIÓN DEL VASO SANGUÍNEO</b> .....	<b>6</b>
Hemostasia Primaria.....	8
Hemostasia Secundaria.....	9
Fibrinólisis y Anticoagulantes Endógenos.....	11
<b>LA TROMBOSIS COMO UN DESORDEN DE LA HEMOSTASIA</b> .....	<b>12</b>
Macrotrombosis.....	13
Microtrombosis.....	15
<b>RESPUESTA INFLAMATORIA EN EL SER HUMANO</b> .....	<b>16</b>
Células de la Respuesta Inflamatoria .....	17
Activación del Inflamosoma .....	18
Receptores de Superficie Celular y Moléculas de Adhesión.....	19
Mediadores Solubles de la Respuesta Inflamatoria.....	20
<b>EVOLUCIÓN PARALELA DE LA INFLAMACIÓN Y LA HEMOSTASIA</b> .....	<b>23</b>
<b>RELACIÓN ENTRE LA INFLAMACIÓN Y LA TROMBOSIS</b> .....	<b>26</b>
Inmunotrombosis.....	26
Tromboinflamación.....	28
<b>CAPÍTULO II. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN</b> .....	<b>29</b>
<b>MECANISMOS CELULARES QUE MEDIAN LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN</b> .....	<b>31</b>

El Endotelio .....	31
Los Neutrófilos .....	32
Los Monocitos .....	34
Los Linfocitos .....	35
Los Eritrocitos .....	36
Las Plaquetas .....	36
Interacciones Plaqueta – Endotelio.....	38
Interacciones Plaqueta – Neutrófilo .....	38
Interacciones Plaqueta – Monocito/Macrófago.....	42
<b>MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN.....</b>	<b>44</b>
Componentes del Sistema Hemostásico .....	44
Componentes del Sistema de Complemento.....	52
La Proteína C Reactiva .....	56
Las Quimiocinas.....	58
<b>CAPÍTULO III. PATOLOGÍAS MEDIADAS POR TROMBOINFLAMACIÓN EN ADULTOS Y NIÑOS .....</b>	<b>63</b>
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS CON INFLAMACIÓN NO ESTÉRIL (ENFERMEDADES INFECCIOSAS) .....</b>	<b>64</b>
Infecciones Virales (COVID-19).....	66
Infecciones Bacterianas .....	71
Infecciones Parasitarias .....	72
Infecciones Fúngicas .....	73
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS CON INFLAMACIÓN ESTÉRIL .....</b>	<b>73</b>
Aterosclerosis.....	73
Accidente Cerebro Vascular (ACV).....	78
Tromboembolismo Venoso (TEV) .....	79
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES .....</b>	<b>82</b>
Lupus Eritematoso Sistémico (LES) .....	83
Síndrome Antifosfolípido (SAF).....	85
Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII).....	87
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS.....</b>	<b>88</b>
Anemia Hemolítica Autoinmune y Aloinmune .....	88
Hemoglobinuria Paroxística Nocturna.....	89
Drepanocitosis .....	90
Síndrome Urémico Atípico .....	91
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN NEOPLASIAS MALIGNAS .....</b>	<b>91</b>
<b>TROMBOINFLAMACIÓN EN OTRAS PATOLOGÍAS.....</b>	<b>95</b>

Alergias .....	95
Enfermedades Neurodegenerativas .....	96
Estrés y Alteraciones del Ritmo Circadiano .....	97
Enfermedad de injerto contra huésped .....	98
<b>ENFERMEDADES CON MECANISMOS TROMBOINFLAMATORIOS</b>	
<b>DESCONOCIDOS .....</b>	<b>99</b>
<b>INMUNOTROMBOSIS Y TROMBOINFLAMACIÓN EN NIÑOS .....</b>	<b>99</b>
Los Neonatos .....	100
<b>CAPÍTULO IV. NUEVAS OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA EL MANEJO DE LA</b>	
<b>ENFERMEDAD TROMBOINFLAMATORIA.....</b>	<b>102</b>
<b>CONSIDERACIONES EN LA TERAPIA DE ENFERMEDADES</b>	
<b>TROMBOINFLAMATORIAS.....</b>	<b>103</b>
<b>FÁRMACOS ANTITROMBÓTICOS Y ANTIINFLAMATORIOS CLÁSICOS .....</b>	<b>103</b>
<b>NUEVAS TERAPIAS ANTIINFLAMATORIAS .....</b>	<b>105</b>
Terapias Dirigidas a los Neutrófilos y la NETosis .....	105
Terapias Dirigidas contra el Inflamosoma .....	108
Terapias Dirigidas contra el Complemento .....	109
Terapias Dirigidas contra las Alarminas .....	110
Terapias anti IL-1 $\beta$ /IL-1R.....	110
Inhibidores de IL-6/IL-6R.....	110
<b>NUEVAS TERAPIAS ANTICOAGULANTES.....</b>	<b>111</b>
Terapias Dirigidas al Endotelio.....	111
Terapias Dirigidas a las Plaquetas .....	113
Terapias Dirigidas a la Hemostasia.....	116
<b>TERAPIA CON MÚLTIPLES FÁRMACOS.....</b>	<b>119</b>
<b>TERAPIAS FUTURAS CONTRA LA TROMBOINFLAMACIÓN.....</b>	<b>120</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>122</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>126</b>

## RESUMEN

Existe un estrecho vínculo entre el sistema inmune innato, responsable de los procesos inflamatorios y la hemostasia, cuya forma aberrante se manifiesta a través de la trombosis. Se reconoce la evolución paralela de ambos sistemas al menos desde la aparición de los artrópodos y hasta la actualidad en los sistemas de mayor complejidad de los mamíferos.

Desde que en el 2013 Engelman y Massberg definieran el término “inmunotrombosis”, reconociendo la formación de coágulos a partir de una respuesta inflamatoria, con la intención de facilitar el reconocimiento de patógenos y células dañadas, así como inhibir la proliferación de patógenos; han surgido una serie de conceptos relacionados, entre ellos “tromboinflamación”, que se define como la activación aberrante de la inmunotrombosis, originando cuadros tromboticos a partir de una respuesta inflamatoria descontrolada y a su vez la activación aberrante de la trombosis potencia la inflamación, generándose un círculo vicioso en la tromboinflamación.

La inmunotrombosis y tromboinflamación se llevan a cabo mediante mecanismos celulares y moleculares, donde interactúan los componentes del sistema inmune innato (neutrófilos, monocitos, linfocitos, sistema del complemento, proteínas de fase aguda, citoquinas, quimiocinas) y el sistema hemostático (endotelio, plaquetas, factores de la coagulación, sistema fibrinolítico).

Múltiples patologías de diversa naturaleza son reconocidas en la actualidad por presentar mecanismos tromboinflamatorios, entre ellas: patologías con inflamación estéril (aterosclerosis, accidentes cerebrovasculares, tromboembolismo venoso), sepsis por microorganismos, enfermedades autoinmunes, enfermedades hematológicas, malignidad, enfermedades neurodegenerativas, entre muchas otras más.

Además de terapia antiinflamatoria y anticoagulante clásica, actualmente se encuentra en distintas fases de investigación en ensayos clínicos, un amplio repertorio de opciones terapéuticas dirigidas contra componentes involucrados en la respuesta tromboinflamatoria de diferentes patologías. Estas nuevas opciones terapéuticas buscan ser más seguras, evitando las hemorragias usuales en las terapias clásicas y produciendo potentes efectos citoprotectores al contrarrestar los mecanismos inflamatorios, brindando beneficios clínicos en las personas.

## ABSTRACT

There is a close bond between the innate immune system, which is responsible for inflammatory processes; and hemostasis, whose aberrant form manifests itself through thrombosis. The parallel evolution of both systems has been recognized at least from the appearance of arthropods to the present day in the most complex systems in mammals.

Since 2013, when Engelman and Massberg defined the term “immunothrombosis”, recognizing clot formations due to an inflammatory response, whose purpose is to facilitate recognition of pathogens and damaged cells, as well as to inhibit the proliferation of pathogens; a series of related concepts have emerged, including “thromboinflammation”, that is defined as the aberrant activation of immunothrombosis, causing thrombotic symptoms from an uncontrolled inflammatory response, and at the same time the aberrant thrombosis activation enhances inflammation, generating a vicious circle in thromboinflammation.

Immunothrombosis and thromboinflammation are carried out through cellular and molecular mechanisms, where the components of the innate immune system (neutrophils, monocytes, lymphocytes, complement system, acute phase proteins, cytokines, chemokines) and the hemostatic system (endothelium, platelets, coagulation factors, fibrinolytic system) interact.

Multiple pathologies of diverse nature are currently recognized for presenting thromboinflammatory mechanisms, including pathologies with sterile inflammation (atherosclerosis, stroke, venous thromboembolism) sepsis due to microorganisms, autoimmune diseases, hematological diseases, malignancy, neurodegenerative diseases, among many others.

In addition to classic anti-inflammatory and anticoagulant therapy, a wide repertoire of therapeutic options directed against components involved in the thromboinflammatory response of different pathologies is currently in different phases of research in clinical trials. These new therapeutic options seek to be safer, avoiding the usual bleeding in classical therapies and producing powerful cytoprotective effects by counteracting inflammatory mechanisms, providing clinical benefits to people.

## LISTA DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1.1 Factores de la coagulación, nombres, abreviaturas y vías de la cascada de la coagulación.	8
Tabla 2.1 Principales sustratos de la trombina.	44
Tabla 3.1 Mecanismos destacados de la fisiopatología del SAF.	84
Tabla 4.1 Enfoques terapéuticos futuras hacia la tromboinflamación en la aterosclerosis.	120

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1.1 Modelo celular de la coagulación.	5
Figura 1.2 Resumen de la activación del sistema del complemento.	19
Figura 1.3 Organización estructural de proteínas con dominios serin proteasas como sitio catalítico.	22
Figura 2.1 Mecanismos celulares y moleculares de la inmunotrombosis y la tromboinflamación.	28
Figura 2.2 Interacciones entre las plaquetas y los neutrófilos.	39
Figura 2.3 Interacciones entre las plaquetas y los monocitos/macrófagos.	41
Figura 2.4 Liberación del factor tisular mediada por el inflamosoma y STING.	47
Figura 2.5 Representación esquemática la interacción entre las NETs y el complemento.	52
Figura 2.6 El papel propuesto de la PCR en la inmunotrombosis y la patogénesis del TEV.	56
Figura 2.7 Rol de las quimiocinas en la formación y resolución de trombos.	58
Figura 3.1 Enfermedades humanas que presentan mecanismos tromboinflamatorios.	62
Figura 3.2 Insuficiencia respiratoria y coagulopatía sistémica en COVID-19.	68
Figura 3.3 Desarrollo de la placa aterosclerótica y formación del trombo.	72
Figura 3.4 Mecanismos tromboinflamatorios en la trombosis venosa.	79
Figura 4.1 Mecanismos de acción antitrombótica y antiinflamatoria de los fármacos antitrombóticos clásicos.	103

## LISTA DE ABREVIATURAS

BK: Bradiquinina  
CE: Célula endotelial  
CG: Catepsina G  
CID: Coagulación intravascular diseminada  
CLR: Receptores de lectina tipo C  
DAMPS: Patrones moleculares asociados a daño.  
ECV: Enfermedad cardiovascular  
EPCR: Receptor endotelial de la proteína C  
FvW: Factor de von Willebrand  
GAG: Glucosaminoglicanos  
GSDMD: Gasdermina D  
HBPM: Heparina de bajo peso molecular  
HMGB1: Proteína 1 de la caja del grupo de alta movilidad  
IL: Interleuquina  
INF: Interferón  
LPS: Lipopolisacárido  
MAC: Complejo de ataque a la membrana  
MEC: Matriz extracelular  
mPCR: Proteína C reactiva monomérica  
MPO: Mieloperoxidasa  
NE: Elastasa de los neutrófilos  
NETs: Trampas extracelulares de neutrófilos  
NO: Óxido Nítrico  
PAF: Factor activador de plaquetas  
PAI-1: Inhibidor del activador de plasminógeno  
PAMPS: Patrones moleculares asociados a patógenos  
PAR: Receptores activados por proteasas  
PC: Proteína C  
PCa: Proteína C activada  
PCR: Proteína C reactiva  
PF4: Factor plaquetario 4  
PLA: Agregados plaqueta-leucocito

PRR: Receptores de reconocimiento de patrones  
PS: Proteína S  
PSGL-1: Ligando 1 de la glicoproteína P-Selectina  
RAGE: Receptor de productos finales de glicación avanzada  
RLR: Receptores tipo RIG I  
ROS: Especies reactivas del oxígeno  
t-PA: Activador tisular del plasminógeno  
TAFI: Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina  
TEP: Tromboembolismo pulmonar  
TEV: Tromboembolismo venoso  
TFPI: Inhibidor de la vía del factor tisular  
TLR: Receptores tipo Toll  
TLT-1: Transcrito tipo TREM-1  
TM: Trombomodulina  
TNF: Factor de necrosis tumoral  
TVP: Trombosis venosa profunda  
TxA2: Tromboxano A2  
u-PAR: Receptor del activador del plasminógeno tipo uroquinasa  
UL-FvW: Factor de von Willebrand ultra largo  
VE: Vesículas extracelulares

## JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son un grupo de trastornos trombóticos que representan la principal causa de muerte en todo el mundo y se estima que causan 17,9 millones de muertes cada año. La trombosis arterial es la causa del infarto de miocardio y del accidente cerebrovascular, que representa la principal carga de mortalidad y discapacidad por eventos cardiovasculares a nivel mundial (Chen *et al.*, 2022). El tromboembolismo venoso es la tercera causa de mortalidad cardiovascular, con más de un millón de casos al año y más de 300 mil muertes en la Unión Europea, por lo que su prevalencia representa un problema importante de salud pública tanto para el individuo como para la sociedad (Nowak *et al.*, 2016).

En etapas avanzadas de algunas enfermedades, las alteraciones tanto en la coagulación como en la función de las células inmunes debido a una inflamación extrema conducen a un aumento de la coagulabilidad de la sangre, con altas tasas de trombosis, morbilidad y mortalidad (De Nardi *et al.*, 2023). La trombosis y la inflamación son procesos fisiológicos separados, pero durante la última década se ha reconocido una intensa interdependencia entre estos mecanismos (Stark & Massberg, 2021). Actualmente se sabe que la disregulación en la interacción entre la hemostasia y la inmunidad innata produce un proceso patológico, que es la base de varios trastornos trombóticos relacionados con la inflamación (Nardi *et al.* 2023).

Aunque cada vez se comprende mejor la relación entre la inflamación y los estados trombóticos, su patogenia e impacto en distintas enfermedades sigue siendo limitada y complicada (Aksu *et al.*, 2012), por lo tanto, comprender los mecanismos fisiopatológicos subyacentes que se dan en la interacción entre los estados inflamatorios y los eventos trombóticos se vuelve decisivo para el desarrollo de terapias más eficientes para tratar y prevenir la trombosis en patologías específicas.

El abordaje de los eventos trombóticos es usualmente realizado con anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios. Estos tratamientos no logran prevenir completamente los eventos trombóticos, ya que no toma en cuenta la contribución que realiza la respuesta inflamatoria por un mecanismo que aún no se ha abordado suficientemente (Chen *et al.*, 2022). El componente inflamatorio de la trombosis es un vacío terapéutico y un objetivo prometedor para la prevención y el tratamiento de múltiples enfermedades, entre ellas, las enfermedades cardiovasculares (Stark & Massberg, 2021).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Analizar la tromboinflamación mediante la definición de conceptos generales relacionados, la descripción de los mecanismos fisiopatológicos, el rol que desempeñan en patologías específicas y las opciones terapéuticas emergentes para su abordaje.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Definir conceptos relacionados con los sistemas hemostásicos e inflamatorios en condiciones fisiológicas y patológicas que están implicados en la inmunotrombosis y la tromboinflamación, así como su evolución temporal.
2. Describir los mecanismos fisiopatológicos celulares y moleculares que están involucrados en la inmunotrombosis y la tromboinflamación.
3. Identificar diferentes enfermedades en las que se desarrollen procesos tromboinflamatorios como parte de su fisiopatología.
4. Identificar las nuevas opciones terapéuticas para el manejo de patologías tromboinflamatorias a partir de los conocimientos actuales de los mecanismos fisiopatológicos de la tromboinflamación.

## METODOLOGÍA

Para el presente trabajo se realizó una amplia revisión de la literatura médica relacionada con los conceptos relacionados y mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la interacción entre la inflamación y la trombosis, en condiciones normales y en cuadros patológicos, así como las opciones terapéuticas que se han propuesto, recopilando publicaciones científicas y revisiones bibliográficas, capítulos de libros, entre otros.

Para la búsqueda de estas fuentes bibliográficas se utilizaron bases de datos nacionales e internacionales disponibles en la web, como las del Centro Nacional de Información en Biotecnología (NCBI), PubMed, Elsevier, Access Medicine y las del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI) de la Universidad de Costa Rica.

Además, se consultaron revistas científicas reconocidas internacionalmente y artículos científicos publicados en un periodo no mayor de 10 años de antigüedad en su mayoría (con algunas excepciones).

Como gestor documental para la organización de la información y construcción de las citas bibliográficas en el formato de la séptima edición de la American Psychological Association (APA), se utilizó el software de "Mendeley Desktop" versión 2.115.0 Copyright © 2024 Elsevier Ltd., instalado en Microsoft Word para Mac versión 16.77.1 2010 © 2023 Microsoft

## INTRODUCCIÓN

La inflamación es el proceso fisiológico primario mediante el cual el sistema inmunológico responde ante a una lesión o infección, atacando y destruyendo a los microorganismos, siendo normalmente una respuesta autolimitada. En algunos casos la respuesta inflamatoria se desencadena de manera inapropiada y puede ser excesiva, o no se resuelve después de eliminar el desencadenante agudo (Aksu *et al.*, 2012).

La hemostasia es un proceso biológico esencial para la prevención de la pérdida de sangre tras una lesión endotelial. La trombosis es considerada una desviación patológica, caracterizada por la formación de trombos en el lumen de las arterias y las venas, causando oclusión (De Nardi *et al.*, 2023).

La activación coordinada de las respuestas inflamatorias y hemostáticas después de una infección o lesión tisular es un mecanismo de defensa filogenéticamente conservado que se remonta a los primeros invertebrados. A pesar de este estrecho desarrollo evolutivo, la trombosis y la inflamación tradicionalmente se han considerado procesos complementarios distintos (Jackson *et al.*, 2019).

Sin embargo, desde finales del siglo XX se ha venido investigando como se da la interacción entre el sistema hemostático y el sistema inmune. Inicialmente se hicieron publicaciones describiendo hallazgos encontrados y posibles mecanismos que explicaban como esta interacción se daba de forma bidireccional, en la que un sistema influía y afectaba al otro y lo mismo sucedía de forma recíproca. Se identificó que los reguladores de la coagulación, clásicamente conocidos por contribuir únicamente al sistema hemostático y mediar en la coagulación de la sangre, regulaban también los procesos celulares, incluida la inflamación. Asimismo, la activación de la respuesta inflamatoria iba acompañada de una regulación alterada de las proteasas de la coagulación y la activación plaquetaria (Kohli *et al.*, 2022).

Pronto, fue descrito por diversos autores que la inflamación sistémica resulta ser un potente estímulo protrombótico. Los mecanismos inflamatorios regulaban al alza los factores procoagulantes, regulaban a la baja los anticoagulantes naturales e inhibían la actividad fibrinolítica. Además, los mediadores inflamatorios también aumentaban la reactividad plaquetaria (Esmon, 2003).

Por otro lado, se observó *in vivo* que los anticoagulantes naturales no solo prevenían la trombosis, sino que también amortiguaban la actividad inflamatoria. También se vio que la

coagulación podía aumentar la respuesta inflamatoria liberando mediadores de las plaquetas y activando las células, promoviendo así interacciones entre células que aumentaban las respuestas inflamatorias (Esmon, 2005).

Dentro de las patologías inflamatorias descritas en la literatura científica que presentan cuadros trombóticos, se mencionan una gran cantidad de enfermedades clasificadas a nivel general en dos grupos: trombosis en inflamación estéril y trombosis en inflamación no estéril (Sharma *et al.*, 2022), siendo englobadas en el primer grupo enfermedades de tipo autoinmune, hematológicas, crónicas, entre otras y por otro lado las del segundo grupo caracterizadas por infección con microorganismos y sepsis (Riva *et al.*, 2015).

La comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de estas patologías representa un importante desafío, pues se desconocen muchos de ellos o solo se entienden parcialmente. Esta dificultad se refleja en la naturaleza compleja y variable de las respuestas inmunes y hemostáticas innatas que impulsan las diversas etapas del proceso trombótico mediado por inflamación (Jackson *et al.*, 2019).

Así, las nuevas opciones terapéuticas que han surgido van orientadas al ataque de dianas específicas que participen en estos mecanismos, produciendo tromboprotección con propiedades antiinflamatorias y evitando la hemorragia (Kenne *et al.* 2015).

## **CAPÍTULO I. CONCEPTOS GENERALES Y EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN**

En las últimas décadas, se ha generado una robusta cantidad de información científica dedicada al estudio y la descripción de la relación que existe entre los procesos inflamatorios y la hemostasia. Al aumentar el conocimiento de estas relaciones y como interactúan los mecanismos celulares y moleculares de un sistema con el otro, han ido surgiendo una diversidad de conceptos tales como inmunohemostasia (Delabranche *et al.*, 2017), inmunocoagulación (Anitua *et al.*, 2022), inmunotrombosis (Engelmann & Massberg, 2013a) y tromboinflamación (Kuijpers *et al.*, 2022) los cuales están interrelacionados y no siempre bien definidos por los distintos autores científicos, ya que al tratarse de un tema novedoso existen algunas diferencias en los conceptos, sin embargo en general, cada uno explica una parte de la compleja interacción entre el sistema inmune y la hemostasia.

Para entender las interacciones múltiples y complejas que se dan entre los sistemas responsables de la inflamación y la hemostasia, es necesario dividir en partes más sencillas cada proceso y explicar los mecanismos que se desarrollan en condiciones fisiológicas, para luego avanzar hacia las formas desequilibradas en las que estas interacciones dan origen a patologías, cuya consecuencia final es la formación de trombos que ocluyen los vasos sanguíneos.

Este capítulo explica cómo se desarrollan los sistemas de hemostasia e inflamación en condiciones fisiológicas y su accionar ante un reto hemostático o un proceso infeccioso. Además, se describe como ambos sistemas han ido evolucionado en el tiempo desde un proceso conjunto y mucho más sencillo en invertebrados hasta las complejas interacciones que se presentan en mamíferos en la actualidad. Por último, se aborda lo que sucede en el organismo humano cuando surge un desequilibrio en estos sistemas y se generan patologías trombóticas mediadas por procesos inflamatorios desregulados.

### **RESPUESTA HEMOSTÁSICA A LA LESIÓN DEL VASO SANGUÍNEO**

La hemostasia es un conjunto de mecanismos que buscan mantener la integridad vascular al equilibrar los procesos fisiológicos que mantienen la sangre en un estado fluido en circunstancias normales y que previenen el sangrado excesivo después de una lesión vascular. Preservar la sangre en un estado fluido depende de un endotelio vascular intacto

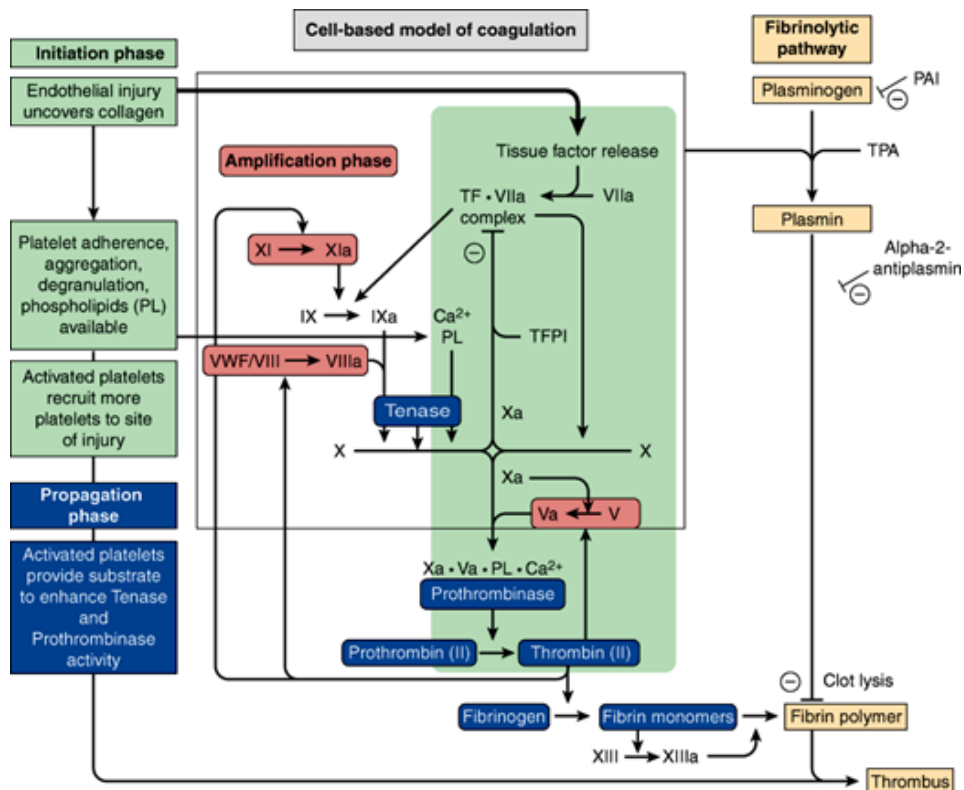
y de una serie compleja de vías reguladoras que mantienen las plaquetas inactivas y que controlan el sistema de coagulación. Tras una lesión del vaso sanguíneo, la detención de la hemorragia requiere la formación rápida de tapones hemostáticos para evitar el desangramiento, los cuales serán posteriormente disueltos por acción del sistema fibrinolítico, mientras de forma paralela se produce la reconstrucción del vaso dañado (Hoffman *et al.*, 2018).

En el modelo clásico de la coagulación que fue propuesto hace más de 60 años, se separaban las fases celular y humoral de la coagulación, considerando que el proceso de hemostasia se daba a través de la activación secuencial de enzimas efectoras en dos vías independientes: la extrínseca y la intrínseca (Pérez-Gómez & Bover, 2007). En el 2001 Maurene Hoffman propone lo que es conocido actualmente como el “modelo celular de la coagulación”, reemplazando la hipótesis tradicional de las cascadas y enfatizando en las células como elementos esenciales capaces de dirigir el proceso hemostático, mediante la interacción de superficies celulares, factor tisular y factor VII, en tres fases simultáneas: iniciación, amplificación y propagación (Figura 1.1) (Gómez Baute *et al.*, 2011).

El modelo de membranas celulares explica de manera global la interacción celular y humoral que se da *in vivo* durante el proceso de hemostasia, proponiendo que, en condiciones basales existe una producción de sustancias antitrombóticas (prostaciclina, óxido nítrico, trombomodulina, entre otros) que impide la formación de coágulos sobre la pared vascular (Cela de Julián & Aragonés, 2017). Los proteoglicanos, glicoproteínas y glicolípidos cargados negativamente forman la glicocálix que recubre las superficies de las células sanguíneas y la pared de los vasos lumbinales siendo fundamentales para mantener un estado de reposo. La glicocálix protectora participa en una interacción dinámica con su entorno, lo que resulta en diferencias espaciales y específicas de órganos. La mayoría de los constituyentes de la glicocálix endotelial son glicosaminoglicanos (GAG) unidos a proteínas, compuestos principalmente de heparán sulfato, así como de condroitina, dermatán sulfato y ácidos hialurónicos no unidos a proteínas. Las células endoteliales tienen varios mecanismos para regular y localizar la lesión, incluidas las ectoADPasas inhibitoras de plaquetas (CD39), el óxido nítrico (NO) y la prostaciclina. Estos mediadores no sólo inhiben las plaquetas, sino que también ajustan la vasoactividad y protegen de la vasoconstricción, reacciones locales que modulan las velocidades de cizallamiento (fuerza que ejerce el flujo sanguíneo sobre la pared vascular) (Kohli *et al.*, 2022).

Figura 1.1

Modelo celular de la coagulación.



*Nota.* En el modelo celular de la coagulación se muestran las complejas interacciones que se dan entre las plaquetas y los factores de la coagulación a lo largo de distintas fases (iniciación, propagación y amplificación) para la formación del trombo, en un balance con la actividad del sistema fibrinolítico y sus inhibidores. **Fuente:** Tomado de [https://basicmedicalkey.com/blood-disorders/#ham7\\_ch6fg4](https://basicmedicalkey.com/blood-disorders/#ham7_ch6fg4).

### Hemostasia Primaria

La alteración traumática de la capa de células endoteliales provoca el reclutamiento de plaquetas en el sitio de la lesión del vaso, las cuales son las primeras células sanguíneas en responder independientemente de la causa del daño, intervención o estado de enfermedad. La lesión provoca la pérdida, el desprendimiento o la alteración de la estructura equilibrada de la glucocálix y por tanto, la exposición de las proteínas adhesivas subyacentes para interactuar con la sangre (Kohli *et al.*, 2022). Las plaquetas se adhieren

a los componentes de la matriz subendotelial expuestos a la lesión, donde la unión seleccionada depende de la velocidad de cizallamiento de la sangre que fluye. Bajo tasas de cizallamiento arterial y microvascular, las plaquetas son primero detenidas del flujo sanguíneo mediante la interacción del receptor de la glicoproteína 1b plaquetaria con el Factor de von Willebrand (FvW) plasmático unido al tejido subendotelial, o mediante la unión directa del receptor de colágeno plaquetario al colágeno del tejido expuesto (fase de adhesión) (Klavina *et al.*, 2022). Las plaquetas adherentes se activan, lo que provoca cambios morfológicos extensos y la secreción de contenidos granulares (fase de activación), para estimular un mayor reclutamiento de plaquetas en el coágulo en crecimiento (fase de agregación) y proporcionar una superficie celular para amplificar las reacciones enzimáticas procoagulantes, conduciendo a la formación del tapón hemostático primario (Figura 1.1) (Cela de Julián & Aragonés, 2017). Además, las células inflamatorias ruedan, se pegan al endotelio inflamado y se unen a la fibrina a través de sus receptores de integrina  $\alpha\text{M}\beta\text{2}$  (CD11b/18) (Kohli *et al.*, 2022). Las plaquetas activadas también secretan FvW y expresan P-selectina, un importante receptor de adhesión celular, que se une al ligando 1 de la glicoproteína P-selectina (PSGL-1) expresado por monocitos y neutrófilos (Klavina *et al.*, 2022).

El FvW es una glicoproteína liberada por células endoteliales o plaquetas en forma de multímeros ultragrandes (UL-FvW) que son escindidos por ADAMTS13, una metaloproteinasa, que regula su tamaño y actividad (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023). El factor von Willebrand también transporta el factor de coagulación FVIII a las superficies de las plaquetas para favorecer la generación de trombina y la formación de fibrina (Kohli *et al.*, 2022).

### ***Hemostasia Secundaria***

Posteriormente, se da la hemostasia secundaria que ocurre en tres diferentes fases, que acaban solapándose y en las cuales participan activamente las plaquetas y los factores de la coagulación que se muestran en la Figura 1.1 y Tabla 1.1 (Pérez-Gómez & Bover, 2007).

Fase de iniciación. A nivel basal la proconvertina (FVII) circula como una molécula inactiva y el factor tisular (FT) que se encuentra en la pared del endotelio, fibroblastos, neutrófilos, micropartículas, miocitos y monocitos, se encuentra aislado de los elementos de la sangre,

salvo que se rompa la integridad del sistema vascular (Gómez Baute *et al.*, 2011). Cuando se produce lesión endotelial, este y las plaquetas liberan proteína disulfuro isomerasa (PDI), que activa al FT. El FT unido al FVII activado (FVIIa) aumenta 100 veces la actividad catalítica (serín-proteasa) del FVII desencadenando la formación del complejo tenasa extrínseco (FT, FVIIa y factor Stuart-Power (FX)). El FX activado (FXa), unido a su cofactor la proacelerina activada (FVa), promueve la conversión de pequeñas cantidades del zimógeno protrombina (FII) en trombina (FIIa) (Klavina *et al.*, 2022). Por otro lado, la exposición del factor de Hageman (FXII) a superficies con carga negativa (membrana basal del endotelio), inicia la llamada vía intrínseca de la coagulación (Cela de Julián & Aragonés, 2017).

**Fase de amplificación.** La pequeña cantidad de trombina formada por el complejo FVIIa/FT es esencial, pero insuficiente. Por lo que en ese momento entra en juego la membrana plaquetaria activada y su interacción con los factores de la coagulación. La activación y desgranulación plaquetaria se suman al proceso mediante los mecanismos de adhesión y agregación plaquetaria. La trombina recluta plaquetas y retroalimenta positivamente al sistema al activar a los factores V, VIII y XI (factor antecedente tromboplástico), para amplificar la respuesta procoagulante y anular los mecanismos anticoagulantes contrarios, como el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) (Klavina *et al.*, 2022). La activación del factor antihemofílico B (FIX) por el FXIa provoca la formación del complejo tenasa intrínseco (FIXa, FVIIIa y FX) que ensamblado en la superficie plaquetaria, produce grandes cantidades de FXa (50 veces más que VIIa/FT) (Gómez Baute *et al.*, 2011). Al mismo tiempo también se produce la activación del sistema de retroalimentación negativa, mediante los anticoagulantes naturales: inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), la antitrombina III (ATIII) y la proteína C (PC) (Rosa *et al.*, 2017).

**Fase de propagación.** La formación de trombina se traslada desde las células portadoras del FT a la superficie de la plaqueta activada. Se forma el complejo protrombinasa (Xa, Va,  $Ca^{+2}$  y fosfolípidos), que cataliza la producción de grandes cantidades de trombina (explosión de trombina). Siendo  $3 \times 10^5$  veces más activo que el FXa aislado en la producción de trombina. La trombina realiza la escisión proteolítica del fibrinógeno en monómeros de fibrina (coágulo inestable), polimerizando posteriormente (Gómez Baute *et al.*, 2011). La trombina activa al factor estabilizador de la fibrina (FXIII), que entrecruza la fibrina (coágulo

estable), y al inhibidor de fibrinólisis activable por trombina (TAFI), estabilizando el coágulo frente a la proteólisis (Cela de Julian & Aragonés, 2017).

**Tabla 1.1**

*Factores de la coagulación: nombres, abreviaturas y vías de la cascada de la coagulación.*

<b>Factor</b>	<b>Nombre</b>	<b>Factor activado</b>	<b>Vía</b>
<b>Factor I</b>	Fibrinógeno	N/A	Vía común
<b>Factor II</b>	Protrombina	Trombina (FIIa)	Vía común
<b>Factor III</b>	Factor tisular (FT)	FIIIa	Vía extrínseca
<b>Factor IV</b>	Calcio	Ca	Todas las vías
<b>Factor V</b>	Proacelerina	FVa	Vía común
<b>Factor VII</b>	Proconvertina	FVIIa	Vía extrínseca
<b>Factor VIII</b>	Factor antihemofílico A	FVIIIa	Vía intrínseca
<b>Factor IX</b>	Factor antihemofílico B	FIXa	Vía intrínseca
<b>Factor X</b>	Factor Stuart-Power	FXa	Vía común
<b>Factor XI</b>	Factor antecedente tromboplástico	FXIa	Vía de contacto
<b>Factor XII</b>	Factor de Hageman	FXIIa	Vía de contacto
<b>Factor XIII</b>	Factor estabilizador de la fibrina	FXIIIa	Vía común
<b>PK</b>	Precalicroína	Calicroína	Vía de contacto
<b>HMWK<sup>a</sup></b>	Quininógeno de alto peso molecular	Bradiquinina	Vía de contacto

<sup>a</sup> El HMWK no es enzimáticamente activo, y funciona sólo como cofactor para la activación de la calicroína y el factor XII. El HMWK es precursora de la bradiquinina.

**Fuente:** Elaboración propia del autor.

### ***Fibrinólisis y Anticoagulantes Endógenos***

De forma casi simultánea se ponen en marcha mecanismos de inhibición de la coagulación (proteína C (PC), proteína S (PS), antitrombina 3 (ATIII)) y la fibrinólisis (Cela de Julián & Aragonés, 2017). Estos mecanismos anticoagulantes endógenos regulan el tamaño y la diseminación de los coágulos, mientras que los factores fibrinolíticos, como los inhibidores del activador del plasminógeno (PAI-1 y PAI-2), activador tisular del plasminógeno (t-PA), el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA), el plasminógeno y la plasmina, coordinan la resolución del coágulo mediante la degradación enzimática de la fibrina (Klavina *et al.*, 2022).

## LA TROMBOSIS COMO UN DESORDEN DE LA HEMOSTASIA

Mientras que la hemostasia es un proceso biológico esencial para la prevención de la pérdida de sangre tras una lesión endotelial, la trombosis es considerada una desviación patológica caracterizada por la formación de trombos en el lumen de las arterias y las venas, causando oclusión (De Nardi *et al.*, 2023).

Tradicionalmente, la trombosis se ha relacionado con entidades clínicas que afectan a vasos de mediano o gran calibre (macrovascular), tanto arteriales, responsables de cuadros como el infarto agudo de miocardio o el ictus isquémico, como venosos, representados por la enfermedad tromboembólica venosa, que se manifiesta como trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolia pulmonar (TEP), todas ellas asociadas con una elevada morbimortalidad. Sin embargo, en la actualidad está bien descrito los cuadros trombóticos que se dan en la microvasculatura y las patologías involucradas en lo que se denomina trombosis microvascular (Páramo, 2021).

La trombosis puede ser de origen local, como en la trombosis venosa profunda de la pierna o en la trombosis del seno venoso cerebral, pero también puede manifestarse sistémicamente, como en la coagulación intravascular diseminada (CID) que afecta principalmente a la microvasculatura. Además de esto, una aparición focal también puede causar una patología más distante, como se manifiesta por embolias pulmonares (Kleinegris *et al.*, 2012).

La tríada que predispone a la formación de trombos postulada por Virchow comprende cambios en los componentes de la sangre, el estado de la pared del vaso y el flujo sanguíneo (Dix *et al.*, 2022). Una tríada más contemporánea incluye los componentes idénticos, pero están mucho mejor caracterizados que en la época de Virchow. Los componentes sanguíneos anormales están representados por anomalías en la función plaquetaria, factores de coagulación o fibrinólisis y están influenciados por elementos metabólicos, hormonales e inflamatorios. Los cambios en la pared de los vasos hoy en día también se caracterizan mejor y la mayoría de las trombosis arteriales se desarrollan sobre una patología aterosclerótica subyacente. En la arteria aterosclerótica, los cambios en la hemorreología y/o la turbulencia en las bifurcaciones y regiones estenóticas favorecen la formación de trombosis arterial local. Por el contrario, en la trombosis venosa, uno de los

eventos primarios es la alteración de la oxigenación del endotelio venoso provocado por alteración del flujo venoso, lo que desencadena inflamación (Kleinegris *et al.*, 2012).

### **Macrotrombosis**

Las llamadas macrotrombosis abarcan eventos trombóticos que ocurren en el lumen de los grandes vasos sanguíneos, clasificándose en trombosis arterial y trombosis venosa, las cuales son entidades patológicas separadas con características patogénicas distintas. Los trombos arteriales consisten principalmente en plaquetas (trombos blancos) y tienden a ocurrir en sitios de ruptura de la placa aterosclerótica donde la tensión de cizallamiento es alta (un proceso denominado aterotrombosis). Por el contrario, los trombos venosos, que se componen principalmente de glóbulos rojos y fibrina (trombos rojos), tienden a ocurrir en sitios donde el flujo sanguíneo y las tasas de cizallamiento son bajos en ausencia de lesión endotelial. A pesar de estas diferencias, la trombosis arterial y la trombosis venosa implican la activación de plaquetas y la cascada de coagulación (que conduce a la formación de fibrina), que son procesos que también son elementos centrales de la hemostasia normal (Engelmann & Massberg, 2013b).

**Trombosis arterial.** La trombosis arterial es la principal causa del infarto de miocardio y del accidente cerebrovascular, que representan la mayor carga de mortalidad y discapacidad por eventos cardiovasculares a nivel mundial (Chen *et al.*, 2022). El principal desencadenante de la trombosis arterial es la rotura de una placa aterosclerótica inestable, que consiste en gran medida en una acumulación de células inflamatorias y depósitos de lípidos.

El primer paso en la aterosclerosis es la disfunción del endotelio arterial, que se desencadena por varios estímulos (como niveles elevados de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad o radicales libres producidos por el tabaquismo, la diabetes mellitus y la hipertensión). La respuesta inflamatoria conduce a un aumento de la permeabilidad del endotelio y la adhesión de los leucocitos (Riva *et al.*, 2015). La exposición del material trombogénico al flujo sanguíneo desencadena posteriormente la adhesión, activación y agregación de las plaquetas (Chen *et al.*, 2022). Posteriormente, el trombo rico en plaquetas se estabiliza mediante la incorporación de fibrina. Si bien las plaquetas mismas sirven como plataforma para la formación de fibrina, son insuficientes para generar

y mantener la red de fibrina estable que resiste el cizallamiento arterial. En cambio, se requiere el reclutamiento de células inmunes innatas en los trombos arteriales y la ablación del reclutamiento de neutrófilos y monocitos se asocia con una disminución de la formación de fibrina y la desestabilización de los trombos. La ruptura de las placas arterioscleróticas desencadena la coagulación dependiente del factor tisular y se ha demostrado que las células inmunes innatas representan la principal fuente de factor tisular en la placa (Gaertner & Massberg, 2016).

La rápida formación de trombos en la trombosis arterial se debe principalmente a la adhesión y activación de las plaquetas, mientras que la cascada de coagulación desempeña sólo un papel menor (Riva *et al.*, 2015). El modelo de la formación y ruptura de la placa arteriosclerótica ha permitido explicar cómo la interfaz entre la trombosis y la inflamación puede contribuir a la enfermedad vascular arterial crónica y aguda (cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica y enfermedad aórtica) y ha servido como base para la comprensión de otras patologías trombóticas (Vazquez-Garza *et al.*, 2017).

**Trombosis venosa.** La TVP y su principal complicación, la TEP, denominada colectivamente enfermedad tromboembólica venosa (TEV), representan un problema de salud pública mundial, ya que es una causa importante de mortalidad y morbilidad (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

El TEV es una enfermedad multifactorial donde los principales factores provocadores (por ejemplo, cirugía, cáncer, traumatismo grave e inmovilización) se identifican en el 50-60% de los pacientes, mientras que los casos restantes se clasifican como no provocados. Sin embargo, en estos pacientes pueden detectarse condiciones predisponentes menores, que posiblemente coincidan con la fisiopatología de la enfermedad, especialmente cuando son coexistentes (Riva *et al.*, 2015). La TVP es más frecuente en las proximidades inferiores, es decir, las piernas debajo de la fascia muscular de las extremidades o en las venas centrales profundas (Sharma *et al.*, 2022).

El inicio de la trombosis venosa implica una cascada de procesos que se pueden dividir en: estasis circulatoria e hipoxia, activación endotelial y reclutamiento celular, activación de la coagulación y desarrollo de trombos (Páramo & Lecumberri, 2019). La disminución del flujo

sanguíneo y la estasis, especialmente cerca de las válvulas venosas, pueden provocar hipoxia y estrés oxidativo. El endotelio venoso, activado por el estrés oxidativo, expresa receptores de adhesión con reclutamiento de leucocitos y plaquetas. La exposición del factor tisular inicia la vía extrínseca, mientras que los productos liberados por los granulocitos dañados activan el factor XII e inician la vía intrínseca de la coagulación (Riva *et al.*, 2015).

La activación del sistema de coagulación es el paso principal en la trombosis venosa, mientras que el papel de la activación del endotelio, así como el papel de las plaquetas, parece ser menos importante que en la trombosis arterial (Riva *et al.*, 2015). Sin embargo, en los últimos años los conocimientos obtenidos a partir de modelos animales han llevado a una mayor comprensión de la contribución de las plaquetas a la iniciación y progresión del trombo (Martinod & Deppermann, 2021).

### ***Microtrombosis***

La trombosis microvascular indica una oclusión patológica de los microvasos por trombos ricos en fibrina y/o plaquetas. Se observa durante infecciones sistémicas, cáncer, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedades neurodegenerativas y microangiopatías trombóticas. La trombosis de microvasos puede causar síntomas muy diferentes que van desde cambios limitados en los marcadores de coagulación plasmática hasta insuficiencia multiorgánica grave. Debido a que los trombos de microvasos son difíciles de detectar y a menudo ocurren solo de manera transitoria, es probable que se subestime notablemente su importancia para el desarrollo de la enfermedad y la biología del huésped (Pfeiler *et al.*, 2014).

Las microtrombosis se desarrollan en la microvasculatura compuesta por las arteriolas, los capilares (sinusoides) y las vénulas. La oclusión de microvasos por trombos intravasculares puede causar isquemia y por tanto, provocar una inhibición parcial o completa de la función del órgano (Pfeiler *et al.*, 2014). La microvasculatura se ve sometida a estímulos mecánicos, como las fuerzas de cizallamiento y a diversas señales bioquímicas, incluyendo hormonas, factores de crecimiento, citoquinas, complemento y NO, que inducen cambios morfológicos en arteriolas y vénulas, con impacto en su función (Páramo, 2021).

Es bien conocido el papel de la trombosis de microvasos en un grupo de enfermedades denominadas colectivamente microangiopatías trombóticas (púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) y síndrome urémico hemolítico (SUH)) y, en particular, para la CID, así como también el síndrome antifosfolípido catastrófico (SAFC), la trombocitopenia inducida por heparina (HIT), la anemia de células falciformes y el COVID-19 (Páramo, 2021). Esta trombosis microvascular se desencadena por mecanismos muy diferentes que incluyen respuestas inflamatorias excesivas dentro de los vasos sanguíneos, émbolos formados por ruptura de placas ateroscleróticas, toxinas bacterianas, angiopatía amiloide (enfermedad de Alzheimer) y lisis de glóbulos rojos (Kwaan, 2011).

### **RESPUESTA INFLAMATORIA EN EL SER HUMANO**

La inflamación es una respuesta protectora del tejido a diferentes tipos de lesiones (como traumatismos o infecciones), que involucra principalmente vasos sanguíneos y leucocitos, junto con varios mediadores. Durante los procesos inflamatorios los leucocitos migran desde la vasculatura hacia los tejidos dañados para destruir los agentes (biológicos, químicos y físicos) que potencialmente pueden causar daño tisular (Gabay, 2006). Generalmente la inflamación ha sido dividida en dos fases: la fase aguda y la fase crónica, aunque en realidad existe una superposición entre estos procesos.

En la fase aguda, los leucocitos, principalmente granulocitos, migran a lo largo de un gradiente quimiotáctico al sitio de la lesión en un esfuerzo cuidadosamente orquestado que está mediado por citoquinas y proteínas de fase aguda, con el objetivo de eliminar el estímulo inflamatorio (agente infeccioso, material extraño) o células dañadas por una lesión e iniciar la curación (Germolec *et al.*, 2018). Dependiendo del grado de lesión, esta fase celular aguda puede ser suficiente para resolver cualquier daño.

La inflamación persistente, como resultado de una exposición prolongada a estímulos inflamatorios o de una reacción inapropiada a las propias moléculas, puede conducir a la fase crónica, en la que las poblaciones de células inmunes activas cambian para incluir un fenotipo mononuclear, donde puede ocurrir daño tisular y fibrosis (Germolec *et al.*, 2018).

### ***Células de la Respuesta Inflamatoria***

Las células inmunitarias innatas, como los monocitos, macrófagos, granulocitos y células dendríticas (CD), desempeñan clásicamente funciones centinelas en la inmunovigilancia y la presentación de antígenos a las células del sistema inmunitario adaptativo (linfocitos), induciendo así una respuesta inmunitaria sólida y generando memoria inmunitaria. Estas células innatas reconocen patógenos intra y extracelulares a través de receptores de reconocimiento de patógenos (PRR). Los PRR se subclasifican en receptores tipo Toll (TLR), receptores tipo dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (Nod) (NLR), receptores de lectina tipo C (CLR) y receptores tipo RIG I (RLR) (Klavina *et al.*, 2022).

Los neutrófilos son los principales mediadores celulares de la respuesta inflamatoria aguda. Sus gránulos contienen una variedad de enzimas, péptidos y proteínas que sirven para destruir y digerir organismos y material extraño después de la fagocitosis, pero también pueden liberarse y dañar los tejidos del huésped en el sitio inflamatorio. Los neutrófilos migran desde la sangre al sitio de la lesión como resultado de la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular después de la desgranulación de los basófilos o mastocitos, la activación del complemento o la liberación de prostaglandinas y leucotrienos, lo que también puede reflejarse como un aumento de neutrófilos circulantes (Germolec *et al.*, 2018).

Los basófilos y los mastocitos contienen gránulos citoplasmáticos que sirven como reservorios de mediadores solubles que funcionan en muchos aspectos de la respuesta inflamatoria. La secreción del factor activador de plaquetas (PAF) por los mastocitos también aumenta la permeabilidad vascular y al mismo tiempo, estimula la liberación de mediadores inflamatorios de las plaquetas, lo que resulta en la activación de los neutrófilos (Germolec *et al.*, 2018).

Los eosinófilos son las células inflamatorias predominantes asociadas con respuestas de hipersensibilidad y eliminación de infecciones parasitarias. Los eosinófilos son reclutados en el sitio de la inflamación mediante una serie de factores que incluyen interleucina (IL)-5, IL-2, IL-16, histamina, péptidos de neutrófilos y algunas proteínas del complemento. La activación de los eosinófilos da como resultado la liberación de peroxidasa de eosinófilos,

proteína básica principal (MBP), neurotoxina derivada de eosinófilos y proteínas catiónicas de eosinófilos (ECP) (Germolec *et al.*, 2018).

La infiltración linfocítica suele ser una característica destacada de la inflamación crónica. Los linfocitos T y B pueden actuar como efectores específicos de la citotoxicidad o secretar anticuerpos o citoquinas que participan en el daño tisular o el reclutamiento de células inflamatorias (Germolec *et al.*, 2018).

Los macrófagos y las CD reconocen patógenos extracelulares al detectar componentes de su pared celular como lipopolisacárido (LPS), lipopéptidos bacterianos, ácidos lipoteicoicos, glicolípidos, flagelina y  $\beta$ -glucanos a través de TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 y CLR, así como la dectina-1 y dectina-2, los cuales se expresan en su membrana plasmática. TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 se expresan en las endosomas celulares y detectan patógenos intrínsecos, como los ácidos nucleicos virales. Los RLR, NLR y los sensores de ADN citosólico detectan ARN, ADN virales y bacterias invasoras en el citosol. En el torrente sanguíneo, los monocitos y los neutrófilos reconocen patógenos bacterianos, fúngicos y protozoarios invasores a través de TLR, NLR y CLR y facilitan la fagocitosis, la desgranulación y la destrucción de estos microorganismos (Klavina *et al.*, 2022).

Tras el reconocimiento del patógeno, las células inmunitarias innatas también secretan citoquinas y quimiocinas inflamatorias en las proximidades, reclutando otras células innatas y adaptativas en el sitio para amplificar la respuesta inflamatoria. Además, las CD cargadas de antígeno migran a los ganglios linfáticos de drenaje para preparar una respuesta adaptativa de las células T. El tipo de respuesta de las células T inducida depende de varios factores, entre ellos, la ubicación del sitio de la lesión o infección, la clase de antígeno que se presenta y la presencia de otras citoquinas y quimiocinas instructivas en el medio (Klavina *et al.*, 2022).

### **Activación del Inflamosoma**

Los inflamosomas son plataformas moleculares conformadas por varias proteínas que regulan la respuesta inflamatoria como defensa del mecanismo antimicrobiano. La presencia de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) activan caspasas e induce piroptosis y muerte

celular a través de gasderminas, que son los ejecutores de inflamación y muerte celular (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

La llamada activación del inflamosoma no canónico se produce como consecuencia de la inducción de la caspasa-11 por bacterias gramnegativas asociadas a LPS en diferentes células inmunes y no inmunes, incluidos neutrófilos, macrófagos y células endoteliales. La activación de la caspasa-11 promueve la proteólisis de gasdermina D. El fragmento N-terminal formador de poros de la gasdermina D (GSDMD) se libera y se inserta en la membrana celular para formar grandes poros oligoméricos. Esto conduce a una forma lítica y proinflamatoria de muerte celular, denominada piroptosis, que es un mecanismo crítico de defensa antibacteriana que evita la diseminación de patógenos (Ryan & O'Neill, 2022).

La caspasa-1 forma un inflamosoma canónico y procesa las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  e IL-18. NLRP3 es un activador clave de la caspasa-1 y se estimula tras la exposición a una amplia gama de patógenos a través del eflujo de potasio. Luego, la caspasa-1 se recluta en el complejo y se activa autoproteolíticamente, donde escinde GSDMD, formando poros sublíxicos en la membrana celular (Ryan & O'Neill, 2022).

### ***Receptores de Superficie Celular y Moléculas de Adhesión***

Las moléculas de adhesión controlan las interacciones entre los leucocitos y las células endoteliales durante la respuesta inflamatoria. Una vez que las células inflamatorias han llegado al sitio de la lesión, nuevas interacciones con el endotelio, células parenquimatosas, células inmunes y proteínas de la matriz extracelular perpetúan la respuesta, lo que conduce a la resolución o inflamación crónica (Germolec *et al.*, 2018).

Las selectinas son moléculas de la superficie celular que se expresan en leucocitos (L-selectina), células endoteliales (P-selectina, E-selectina) y plaquetas (P-selectina). El ligando de selección predominante es el ligando 1 de la glicoproteína P-selectina (PSGL-1). La L-selectina inicia la interacción entre los leucocitos y las células endoteliales. La P-selectina facilita las interacciones entre los polimorfonucleares, las plaquetas y las células endoteliales y es importante tanto en la formación como en la degradación de coágulos. La expresión de selectina E facilita la unión de los leucocitos en los sitios de inflamación y está regulada positivamente en la fase aguda de la respuesta inflamatoria por citoquinas y productos de la pared celular bacteriana como el LPS (Germolec *et al.*, 2018).

Las integrinas son una familia de moléculas ampliamente expresada que median la interacción célula - célula y las interacciones entre las células y la matriz extracelular y facilitan la migración de leucocitos a través de la vasculatura hacia los sitios de lesión e inflamación. Las integrinas contienen un dominio extracelular que se une a otras moléculas de adhesión celular, como la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), o ligandos adhesivos como el fibrinógeno y el LPS y un dominio citoplasmático que interactúa con proteínas intracelulares (Germolec *et al.*, 2018).

### **Mediadores Solubles de la Respuesta Inflamatoria**

**Citoquinas.** Las citoquinas actúan como mensajeros moleculares para coordinar la interacción y el control de diferentes tipos de células involucradas en la amplificación y regulación de las respuestas inmunes e inflamatorias. Una sola citoquina puede afectar a varios tipos de células u objetivos diferentes y puede tener efectos de señalización tanto autocrinos como paracrinos dependiendo del objetivo. Durante las respuestas inmunes innatas, las citoquinas son secretadas principalmente por células fagocíticas y células NK, pero en las respuestas inmunes adaptativas, son producidas principalmente por células presentadoras de antígenos (APC) y linfocitos. Durante condiciones inflamatorias agudas y/o crónicas, las citoquinas pueden liberarse en cantidad suficiente como para que se observen efectos sistémicos (Germolec *et al.*, 2018).

Muchas citoquinas y quimiocinas contribuyen a la inflamación a través de múltiples mecanismos, incluida la facilitación de la quimiotaxis de los leucocitos en el sitio de la lesión, la modulación de la función de las células inmunitarias y la estimulación de la proliferación y diferenciación de los diversos tipos de células implicadas en la respuesta inmunitaria (Germolec *et al.*, 2018). Las citoquinas más conocidas por estimular y perpetuar las respuestas inflamatorias son IL-6, IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ) (Gabay, 2006).

**Quimiocinas.** Con base en su composición de aminoácidos las quimiocinas se han dividido en dos tipos: el tipo CC y el tipo CXC. Las quimiocinas CC sirven como quimioatrayentes para monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos. Los miembros de la familia CXC, que incluye IL-8, factor plaquetario 4 (PF4) y oncogén regulado por el crecimiento (Gro)  $\alpha$  y  $\beta$ , atraen polimorfonucleares y modulan la angiogénesis y la cicatrización de heridas

(Germolec *et al.*, 2018). Como parte del proceso inflamatorio, las quimiocinas dirigen la migración celular, activan macrófagos, polimorfonucleares y modulan la cicatrización de heridas mediante la promoción de la angiogénesis y la estimulación de la fibrosis (Germolec *et al.*, 2018).

**Proteínas de fase aguda.** La inflamación suele desencadenar una respuesta de fase aguda, que da lugar a cambios en las proteínas sanguíneas conocidas como proteínas de fase aguda (APP). La producción de APP ocurre principalmente en el hígado, su liberación aumenta (APP positivas) o disminuye (APP negativas) en respuesta a señales de citoquinas provenientes del sitio de inflamación. Estas proteínas alteran la homeostasis para iniciar o apoyar procesos defensivos y/o adaptativos que contribuyen a la curación a corto plazo, pero que pueden provocar inflamación crónica, alteraciones metabólicas y daño tisular con una estimulación prolongada. Las APP positivas incluyen proteína C reactiva (PCR), amiloides A y P, ceruloplasmina, haptoglobina, alfa1-glicoproteína ácida, alfa 2-macroglobulina, componentes del complemento y proteínas de la coagulación como los factores V y VIII, y fibrinógeno. Las APP negativas incluyen albúmina y apolipoproteína alfa-1 (Germolec *et al.*, 2018).

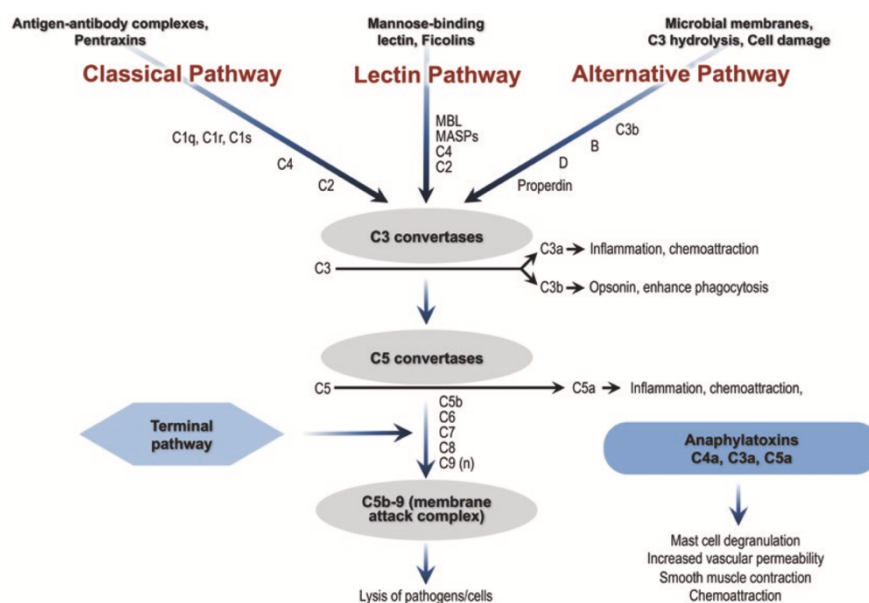
La PCR es un miembro de la superfamilia de proteínas pentraxina altamente conservada que se utiliza a menudo en la práctica clínica como marcador de infección e inflamación. La PCR circula como una forma pentamérica funcionalmente inerte (pPCR), que relaja su conformación a pPCR\* después de unirse a membranas enriquecidas con fosfocolina (expuesta en células apoptóticas inflamadas y paredes celulares bacterianas) y luego se disocia a PCR monomérica (mPCR) (Dix *et al.*, 2022).

**El sistema del complemento.** Como parte del componente humoral del sistema inmune innato se encuentra el sistema del complemento, que es una red compleja de proteínas que participan en la respuesta inflamatoria aguda a través de su actividad enzimática, efectos sobre la liberación de mediadores, quimiotaxis, permeabilidad vascular, y la capacidad de mejorar la fagocitosis mediante la opsonización de microbios. La vía clásica del sistema del complemento se activa mediante interacciones antígeno-anticuerpo, que desencadenan una cascada de reacciones, cada una de las cuales da como resultado la activación de otro componente del complemento (Germolec *et al.*, 2018).

Hay dos vías independientes de anticuerpos que pueden desencadenar la activación del complemento. Varias lectinas, incluidas la lectina de unión a manosa y la ficolina, son estructuralmente similares a las proteínas C1 que inician la cascada clásica del complemento. Estas lectinas pueden activar el complemento escindiendo las proteínas C2 y C4, de manera similar a la de C1, lo que lleva a la escisión de C3, un paso común en las tres vías de la red del complemento. Las proteínas de la pared celular microbiana como el LPS y el zimosano (de levadura) activan la vía alternativa del complemento al interactuar con tres factores desencadenantes (factor iniciador, factor B y factor D) que se combinan para escindir C3 (Germolec *et al.*, 2018).

**Figura 1.2**

*Resumen de la activación del sistema del complemento.*



*Nota.* Resumen de las tres principales vías de activación del complemento y formación del complejo de ataque de membranas (MAC). **Fuente:** Tomado de Germolec *et al.*, 2018.

La escisión de C3 libera un pequeño péptido, C3a, que junto con C5a, aumenta la permeabilidad vascular permitiendo la entrada de células y proteínas inflamatorias. El producto de escisión más grande, C3b, se une a la superficie de los patógenos, así como a los receptores del complemento en las células inflamatorias, mejorando la adhesión celular y la fagocitosis. C3b también se une a los productos activados de pasos anteriores

en las vías clásica/lectina (C4b2a) o alternativa (Bb) para formar la convertasa C5 que escinde la proteína C5 en C5a, el péptido mediador más potente de la inflamación local, y C5b, que desencadena los eventos terminales en la cascada del complemento que resultan en la formación del complejo de ataque a la membrana citolítica (Figura 1.2) (Germolec *et al.*, 2018).

La formación de complejos inmunes en enfermedades autoinmunes activa el complemento dando como resultado inflamación crónica y daño tisular (Germolec *et al.*, 2018).

### **EVOLUCIÓN PARALELA DE LA INFLAMACIÓN Y LA HEMOSTASIA**

A lo largo de la evolución, los organismos multicelulares que contienen fluidos corporales han desarrollado mecanismos de defensa para curar heridas limitando simultáneamente la pérdida de fluidos y eliminando los patógenos que ingresan al huésped. Esto está respaldado por evidencia que muestra que el sistema de coagulación y la inmunidad innata comparten un origen común que se remonta al menos a 450 millones de años y han evolucionado progresivamente hacia sistemas más complejos de manera paralela (De Nardi *et al.*, 2023).

Durante la evolución, las respuestas a las lesiones y a los patógenos invasores en artrópodos y mamíferos han divergido en gran medida. Los organismos mamíferos responden a las lesiones físicas activando la hemostasia, mientras que las defensas antimicrobianas están mediadas por distintos mecanismos del sistema inmunológico innato y adaptativo. A pesar de esta divergencia, varias observaciones sugieren que la coagulación sanguínea y la activación plaquetaria aún podrían estar relacionadas con la defensa antimicrobiana en los mamíferos, conservando algunos aspectos de sus funciones ancestrales (Engelmann & Massberg, 2013b).

El vínculo más antiguo conocido entre hemostasia e inflamación se ha establecido en el cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*), un invertebrado que pertenece al subfilo Chelicerata entre los artrópodos. En 1964, Jack Levin y Frederik Barry Bang describieron un sistema altamente sensible capaz de detectar LPS bacterianos con el uso de lo que se conoció como el amebocito *Limulus*, un lisado de células sanguíneas de cangrejos herradura que coagulaba inmediata y muy eficientemente soluciones que contenían LPS. Estudios posteriores sobre esta especie revelaron que su mecanismo de coagulación

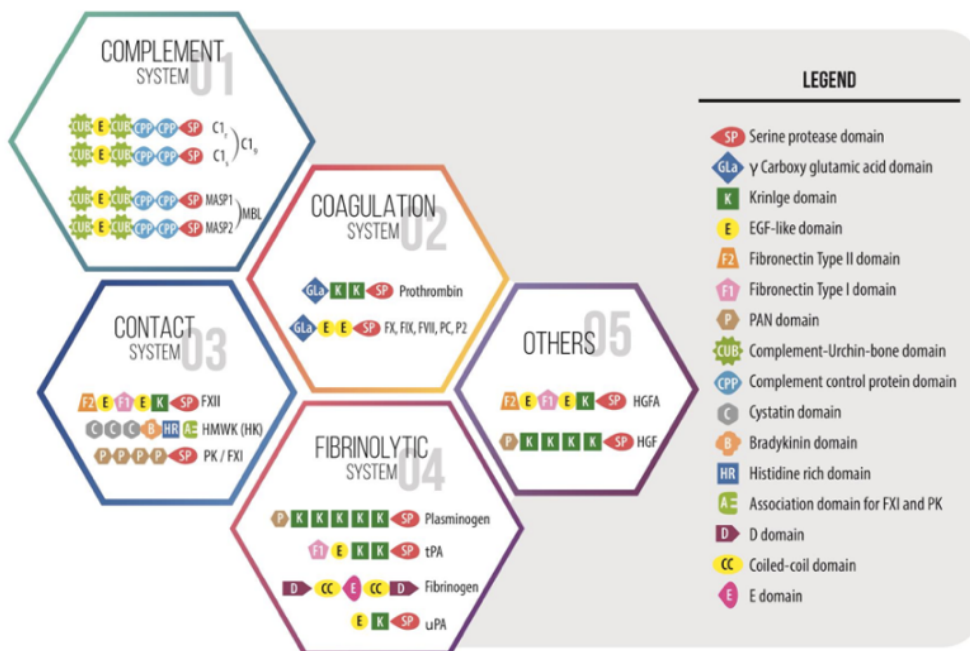
también se activaba cuando se producía un traumatismo en el exoesqueleto de *Limulus*, reforzando aún más la hipótesis de que la coagulación juega un papel fundamental como estrategia de defensa contra la infección en invertebrados (De Nardi *et al.*, 2023).

En respuesta a una lesión física, la hemolinfa de los artrópodos forma coágulos para reparar rápidamente las heridas, similar a la función de la hemostasia en los mamíferos. Las heridas no sólo conllevan el peligro de pérdida de hemolinfa, sino que también representan una importante puerta de entrada para los patógenos exponiendo al huésped a un gran riesgo de infección (Engelmann & Massberg, 2013a). Por lo tanto, es de crucial importancia que el sistema de defensa del huésped se active tan pronto como comience el sellado de la herida para evitar la invasión y diseminación de patógenos. A esta característica de los artrópodos, donde la coagulación de la hemolinfa también funciona como un componente de su sistema de defensa antimicrobiano se le denomina “inmunocoagulación” el cual explica como en los invertebrados, un mismo sistema se encarga de las respuestas inmediatas y locales de sellado de heridas, eliminación de patógenos y curación de tejidos (Anitua *et al.*, 2022).

Los vertebrados, a su vez, tienen una organización corporal cada vez más compleja, lo que a menudo se interpreta como una importante presión selectiva sobre la evolución de la hemostasia, lo que conduce al desarrollo de sistemas circulatorios cerrados y a la diferenciación de células endoteliales específicas de cada órgano en todo el lecho vascular (De Nardi *et al.*, 2023). También se ha demostrado que el sistema de coagulación de los vertebrados está estrechamente relacionado con la inmunidad innata: se sabe que la vía intrínseca de la coagulación puede activarse mediante la exposición a bacterias patógenas (*S. pyogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* y *E. coli*) e inducen la liberación de péptidos antimicrobianos por su cofactor cininógeno. Además se encontró que existen similitudes estructurales entre los componentes moleculares de ambos sistemas (Figura 1.3) (Esmon, 2003). Experimentos anteriores han demostrado que el factor tisular, así como otros elementos de la hemostasia, incluida la proteína C activada, el factor Xa y la trombina, son capaces de regular la respuesta del huésped a una infección iniciando vías de señalización a través de receptores activados por proteasas (PAR) en las células inmunes (De Nardi *et al.*, 2023).

**Figura 1.3**

Organización estructural de proteínas con dominios serin proteasas como sitio catalítico.



*Nota.* Estas proteínas comparten algunos dominios con afinidades químicas intrínsecas, útiles para generar redes cooperativas con PAMPs y DAMPs, entre otras funciones.

**Fuente:** Tomado de Anitua *et al.*, 2022.

Es muy probable que la selección ejerciera una fuerte presión sobre los mecanismos que operaran el vínculo entre la inmunidad y la coagulación como un factor clave de supervivencia eficaz, dejando la función inmunoreparadora como un proceso abierto y sensible a las condiciones, dirigido a la supervivencia en la recuperación funcional más que en la perfección estructural (Anitua *et al.*, 2022). Además, se ha demostrado que los leucocitos inician y modulan la coagulación. Por lo tanto, a pesar de que la mayoría de los factores de coagulación de mamíferos y artrópodos no son verdaderos ortólogos, el inicio y la regulación de sus sistemas de coagulación claramente comparten principios comunes. En consecuencia, se especula que la activación de la coagulación frecuentemente acompañada en respuesta a la inflamación en los mamíferos podría representar un remanente evolutivo de la respuesta inmune innata hacia los invasores patógenos (Gaertner & Massberg, 2016).

## RELACIÓN ENTRE LA INFLAMACIÓN Y LA TROMBOSIS

Se sabe desde hace muchos años que la coagulación desempeña un papel en la respuesta a la exposición a patógenos. La fibrina puede ejercer efectos antimicrobianos directos y limitar la propagación de patógenos. También es capaz de unirse y activar las células inmunes innatas, como los neutrófilos en los sitios de infección, lo que sugiere que además de su función principal en la hemostasia, la coagulación tiene un papel en la respuesta del huésped a los patógenos intrusos (Engelmann & Massberg, 2013a).

Uno de los primeros vínculos reconocidos entre la coagulación sanguínea de los mamíferos y la defensa antimicrobiana fue la observación de que el depósito de fibrina en localizaciones extravasculares, como las cavidades peritoneales, contribuye a la captura de bacterias (Engelmann & Massberg, 2013a). Actualmente se reconoce que los vínculos estrechos entre los sistemas de coagulación y el sistema inmune innato pueden verse como dos cascadas evolutivas que se originan en vías ancestrales compartidas (van der Poll *et al.*, 2021).

### ***Inmunotrombosis***

El estudio de como la inflamación interactúa con la hemostasia se ha venido planteando desde finales del siglo XX. Desde el 2004 se hablaba de tromboinflamación para describir reacciones plaquetas - leucocitos mediadas por interacciones P-selectina y PSGL1 en stents intracoronarios. Posteriormente en 2009 este término fue utilizado para describir la estimulación de las plaquetas a través del TLR2. En la actualidad todavía no existe un consenso entre los autores de publicaciones científicas acerca del significado de este y otros conceptos que han ido cambiando con el transcurso del tiempo.

El término inmunotrombosis fue originalmente descrito por Engelmann y Massberg en el 2013, haciendo referencia a la formación de trombos respaldados por células inmunes y moléculas específicas relacionadas con la trombosis, con la intención de facilitar el reconocimiento de patógenos y células dañadas, así como inhibir la proliferación de patógenos (De Nardi *et al.*, 2023).

La inmunotrombosis promueve la defensa contra patógenos, por lo que es un elemento importante del sistema inmunológico innato intravascular que cumple al menos cuatro

funciones fisiológicas diferentes: (1) Ayuda a capturar y atrapar patógenos que circulan en la sangre y por lo tanto, limita la diseminación de patógenos al retener los microorganismos dentro de la red de fibrina, (2) Previene la invasión tisular por patógenos mediante la formación de microtrombos en microvasos, (3) Los trombos intravasculares generan un compartimento distinto que concentra las estrategias antimicrobianas y sus objetivos patógenos y por lo tanto, favorece la destrucción de los patógenos. Esta destrucción implica estrategias antimicrobianas, que son suministradas por células inmunes innatas, y péptidos antimicrobianos que se generan durante la activación de la coagulación sanguínea y/o se liberan por plaquetas activadas en los sitios de inmovilización de patógenos y (4) La acumulación microvascular y el depósito de fibrinógeno o fibrina promueven el reclutamiento de células inmunes adicionales al sitio de infección y/o daño tisular, apoyando aún más el reconocimiento de patógenos y coordinando la respuesta inmune.

Durante la inmunotrombosis, las células inmunes innatas explotan su repertorio procoagulante, que incluye la administración local de factor tisular activo, la degradación de anticoagulantes endógenos y la provisión de una matriz procoagulante que consiste en nucleosomas extracelulares. Todas estas estrategias son distintas de las vías implicadas en la formación del tapón hemostático (Engelmann & Massberg, 2013a).

Los elementos del sistema de coagulación pueden desencadenar importantes mecanismos de defensa innatos y se ha demostrado que la inhibición de la coagulación perjudica la defensa antibacteriana en varios modelos de infección (van der Poll *et al.*, 2021). *In vivo*, los anticoagulantes naturales no solo previenen la trombosis, sino que también amortiguan la actividad inflamatoria (Esmon, 2003). Por otro lado también se ha visto que la inflamación sistémica actúa como un potente estímulo protrombótico. Los mecanismos inflamatorios regulan al alza los factores procoagulantes, regulan a la baja los anticoagulantes naturales e inhiben la actividad fibrinolítica. Además de modular los mecanismos de coagulación del plasma, los mediadores inflamatorios también aumentan la reactividad plaquetaria (Esmon, 2003). Ante esto, queda en evidencia como la inmunotrombosis viene a explicar la interrelación y las interacciones que se dan entre los sistemas de coagulación y los sistemas inflamatorios, tanto en sus componentes celulares como moleculares, regulándose uno al otro.

En la actualidad se reconoce los sistemas de cascada proteolítica intravascular (los sistemas de complemento, coagulación, contacto y fibrinólisis) y las células sanguíneas como los principales actores involucrados en la inmunotrombosis humana (Anitua *et al.*, 2022). Además de desempeñar funciones en la coagulación y la fibrinólisis, las proteínas intravasculares de estas cascadas y sus regiones catalíticas y no catalíticas desempeñan múltiples funciones que van desde el desarrollo embrionario y la inflamación hasta la curación y más allá (Anitua *et al.*, 2022).

### ***Tromboinflamación***

Aunque se sugiere que la inmunotrombosis apoya el reconocimiento de patógenos y la defensa del huésped, la activación aberrante o incontrolada de la inmunotrombosis puede ser perjudicial para el huésped, fomentando las patologías asociadas con la trombosis, es decir que la interacción de las proteínas alostéricas intravasculares activadas entre sí y con las células sanguíneas, conlleva vulnerabilidades que plantean una paradoja biológica: las proteínas intravasculares que actúan localmente como potenciadores de la reparación de tejidos pueden, no obstante, generar procesos patógenos actuando sistémicamente (Anitua *et al.*, 2022).

Así, cuando se desregula la interacción entre la hemostasia y la inmunidad innata, la inmunotrombosis se convierte en un proceso patológico llamado “tromboinflamación”, que es la base de varios trastornos trombóticos infecciosos y no infecciosos relacionados con la inflamación (De Nardi *et al.*, 2023). En analogía de como la trombosis es considerada una desviación patológica de la hemostasia, se puede decir que la tromboinflamación es la expresión aberrante de la inmunotrombosis. De esta manera, se puede considerar que la inmunotrombosis y la tromboinflamación son dos lados de la misma moneda (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

En los próximos capítulos se explicarán algunos de los más importantes mecanismos, patologías y opciones terapéuticas conocidas hasta la actualidad en las que se encuentra involucrada la tromboinflamación, considerando esta como un sistema aberrante y patológico producto de un proceso inflamatorio, que forma parte de un sistema fisiológico natural en la inmunotrombosis en el organismo humano.

## **CAPÍTULO II. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN**

La inflamación, la hemostasia y la trombosis son procesos fisiopatológicos interrelacionados mediante mecanismos que cooperan entre sí de manera compleja y sincrónica. En estas relaciones, los procesos inflamatorios conducen a la activación del sistema hemostático como parte de la respuesta inmunotrombótica al trauma o infección microbiana. En caso de que la respuesta sea inadecuada y que los mecanismos actúen de forma aberrante, el sistema hemostático evolucionará a un estado trombótico patológico que en adelante se seguirá denominando tromboinflamación, el cual a su vez también retroalimenta la actividad inflamatoria.

En general, los mecanismos que median estas interacciones entre la inflamación y la hemostasia pueden ser divididos con base en los componentes que integran ambos sistemas: componentes celulares y componentes moleculares. Los mecanismos celulares involucran tanto las células que recubren los vasos sanguíneos (células endoteliales) como las que circulan a través del sistema vascular, es decir, leucocitos, plaquetas y eritrocitos. Los mecanismos moleculares que median estas interacciones vienen dados por los componentes del sistema de coagulación, los anticoagulantes fisiológicos, el sistema fibrinolítico, el sistema del complemento, las citoquinas proinflamatorias, las quimiocinas y las moléculas de adhesión. Las interacciones de los componentes de cada sistema pueden ser de tipo célula - célula, molécula - molécula y sobre todo célula - molécula.

Las plaquetas activadas son células efectoras clave que unen los tres procesos asociados con la inmunotrombosis y la tromboinflamación (inflamación, hemostasia y trombosis), desencadenando respuestas inflamatorias e inmunes, ya sea directamente mediante la gran diversidad de receptores que presentan o mediante interacciones con casi todas las células inmunes conocidas.

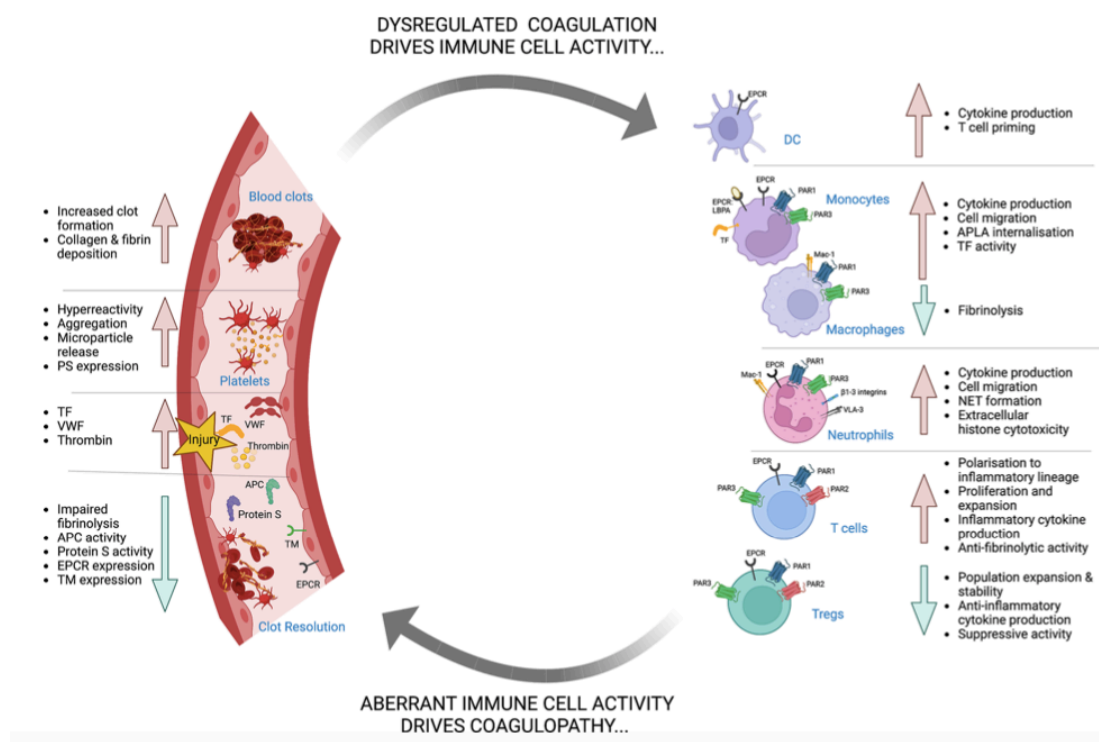
En la Figura 2.1 se resumen las alteraciones principales que se dan sobre los componentes celulares y moleculares de la hemostasia y el sistema inmune innato cuando hay una desregulación o una acción aberrante de estos y su influencia mutua.

Por la naturaleza de esta investigación orientada a la parte hematológica, se hace énfasis principalmente en los mecanismos que implican una activación aberrante del sistema inmune innato y su influencia sobre la hemostasia, mas es importante tener en cuenta que

ambos sistemas presentan interacciones bidireccionales donde la hemostasia desregulada afecta la actividad del sistema inmune innato.

### Figura 2.1.

*Mecanismos celulares y moleculares de la inmunotrombosis y la tromboinflamación.*



*Nota.* Tanto las enfermedades inflamatorias agudas como las crónicas promueven la desregulación de la hemostasia, lo que conduce a la tromboinflamación. Los mediadores inflamatorios, como el aumento de las poblaciones de células inmunitarias patógenas, el aumento de los niveles de citoquinas y quimiocinas proinflamatorias y la disminución de las respuestas de las células Treg tolerogénicas, coinciden con la coagulación aberrante y la promueven. Este estado procoagulante mejorado se retroalimenta para amplificar la inflamación, induciendo una mayor expansión de las células inmunitarias proinflamatorias, una mayor expresión de FT en las células mieloides, la producción de NETs y la inhibición de las respuestas Treg tolerogénicas que perjudican la trombólisis y la resolución de los coágulos. **Fuente:** Tomado de Klavina *et al.*, 2022.

En este capítulo se hace una descripción de los mecanismos celulares y moleculares conocidos hasta la actualidad que intervienen en la inmunotrombosis y la

tromboinflamación, describiéndolos por separado pero bajo la premisa de que todos ellos interactúan conjuntamente.

## **MECANISMOS CELULARES QUE MEDIAN LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN**

El sistema inmune como principal responsable de la respuesta inflamatoria, interactúa con su componente celular tanto de la respuesta innata (neutrófilos, monocitos, macrófagos) como adaptativa (linfocitos) mediante mecanismos celulares con los representantes del sistema hemostático (células endoteliales, plaquetas), los cuales serán descritos a continuación:

### ***El Endotelio***

Uno de los principales contribuyentes a la tromboinflamación es la pérdida del potencial antitrombótico y antiinflamatorio normal de las células endoteliales de la vasculatura. Esto se manifiesta en forma de desregulación de la vía de la coagulación y del sistema del complemento, activación plaquetaria patológica y aumento del reclutamiento de leucocitos dentro de la microvasculatura (Sharma *et al.*, 2022).

Las células endoteliales vasculares son los objetivos principales de mediadores inflamatorios, neutrófilos activados, plaquetas y otras células. Las células endoteliales se encuentran en equilibrio dinámico con una gran cantidad de medios inflamatorios, elementos de los sistemas inmunes innatos y de la coagulación que orquestan la respuesta del huésped en la sepsis (Iba & Levy, 2018).

La inflamación puede causar disfunción endotelial debido a los altos niveles de citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF), así como de la ferritina. La función de barrera de la superficie endotelial se ve casi uniformemente afectada durante el shock séptico. Uno de los hallazgos más recientes ha sido que la liberación de catecolaminas endógenas contribuye a la disrupción, la lesión endotelial, y por lo tanto la endotelopatía inducida por el choque (Iba & Levy, 2018).

Tras la activación, las células endoteliales expresan selectina P que interactúa con los neutrófilos, activándolos de la misma manera que cuando interactúan con la selectina P plaquetaria. También las células endoteliales secretan el contenido de sus cuerpos de Weibel-Palade, incluido el FvW. El FvW interactúa con la GPIIb $\alpha$  plaquetaria, lo que permite

la interacción de las plaquetas con las integrinas  $\beta 2$  de neutrófilos, y se ha propuesto que el FvW potencia esta interacción. Por otro lado, el FvW por sí mismo, puede atraer neutrófilos al endotelio independientemente de las plaquetas, un proceso que depende de la actividad de ADAMTS13 (Mandel *et al.*, 2022).

Otras contribuciones de las células endoteliales a la formación de heteroagregados de plaquetas y neutrófilos se basan en su capacidad para unir quimiocinas proinflamatorias a su superficie. Se ha demostrado que CCL5 y CXCL4 se inmovilizan en el endotelio y atraen neutrófilos y monocitos al sitio de tromboinflamación en curso. Tras la extravasación de neutrófilos del flujo sanguíneo, una interacción compleja entre las células endoteliales y las plaquetas mantiene la integridad de la pared de los vasos sanguíneos. Este proceso está mediado por los receptores plaquetarios CLEC-2 y GPVI, así como por la liberación de gránulos (Mandel *et al.*, 2022).

### **Los Neutrófilos**

Los neutrófilos son los leucocitos más predominantes en la sangre periférica y participan activamente en la defensa innata del organismo contra los patógenos. En 2004 se describió una nueva actividad antimicrobiana: los neutrófilos expulsan una red de cromatina y fibras de histonas (especialmente H3 y H4), las cuales fueron denominadas trampas extracelulares de neutrófilos (NETs), que representan una estrategia importante para inmovilizar y matar microorganismos invasores. A la liberación de las NETs durante el proceso de muerte celular de los neutrófilos se le llama NETosis (De Nardi *et al.*, 2023).

Múltiples estímulos pueden inducir NETosis, incluidos: patógenos, LPS, autoanticuerpos, complejos inmunes, factores de necrosis tumoral (TNF), interleucinas (IL-8), interferones (INF tipo I y II) y plaquetas activadas. La unión de estos estímulos a los neutrófilos puede ocurrir a través de receptores tipo Toll (TLR-4), receptores Fc (FcR), receptores del ligando 1 de la glicoproteína de selectina P (PSGL-1) y receptores del complemento, entre otros. Una vez unido, se induce la liberación del depósito de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) del retículo endoplásmico y la apertura del canal de membrana, lo que provoca un aumento de los niveles de  $\text{Ca}^{+2}$  citoplasmático. Este aumento de  $\text{Ca}^{+2}$  inicia una secuencia de eventos que conducen a la liberación de la NET. Un aumento en la actividad de la proteína quinasa C (PKC) provoca la fosforilación del conjunto de  $\text{Gp91}^{\text{phox}}$  y NADPH oxidasa. Esto desencadena un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido

nítrico, que rompen la membrana nuclear y de los gránulos, permitiendo la mezcla de las sustancias nucleares, granulares y citoplasmáticas. En este proceso, las histonas se citrulinan y escinden antes de la descondensación de la cromatina. La ruptura de la membrana plasmática permite que se complete la NETosis, expulsando las NETs formados principalmente por ADN, histonas y proteínas asociadas a NETs (elastasa de neutrófilos (NE), mieloperoxidasa (MPO) y catepsina G (CG))(Franchi *et al.*, 2019).

Tras la infección bacteriana los neutrófilos pueden ser activados a través de múltiples receptores TLR2, TLR4, Siglec-14, RAGE y CR3 dirigidos contra los PAMPs y los DAMPs. Los neutrófilos también tienen la capacidad de atrapar virus en sus endosomas, conduciendo a la decapsulación del virus y a la activación de los receptores TLR7 y TLR8 (Mandel *et al.*, 2022).

**Rol de las NETs en la tromboinflamación.** Las NETs promueven un estado de hipercoagulabilidad, ya que exacerban la activación plaquetaria y de las células endoteliales y promueven la formación de fibrina (Klavina *et al.*, 2022).

Las histonas que forman el cuerpo NET tienen una alta afinidad por los fosfolípidos, su unión a las membranas da como resultado la formación de poros y un influjo de iones, aumentando los niveles de calcio intracelular. Como resultado, las células endoteliales son hiperactivadas, lo que favorece la formación de trombos. Las histonas, principalmente H3 y H4 son potentes moléculas DAMPs que se unen a la superficie de las plaquetas a través de TLR, promoviendo también un influjo de calcio intracelular, que genera hiperactivación plaquetaria. Las plaquetas también pueden interactuar con C3b adherido a las NETs, promoviendo su activación. Se ha visto que las histonas extracelulares inhiben la vía anticoagulante de la PC al atenuar la generación de proteína C activada (PCa) por el complejo trombina-trombomodulina en las células endoteliales y por tanto, el estímulo a la generación de fibrina será mayor (Klavina *et al.*, 2022).

Las NETs contienen enzimas NE activas y CG, que potencian la agregación plaquetaria mediante la activación proteolítica de los receptores plaquetarios (De Nardi *et al.*, 2023). La NE ayuda a la formación de trombos al inhibir los anticoagulantes: la antitrombina (AT) y la proteína C activada (PCa) y el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI). Además, la NE se une al factor XII y estimula la formación de fibrina a través de la vía intrínseca de la coagulación (Klavina *et al.*, 2022). Mismo mecanismo por el cual el ADN de la NET participa

en la activación de la vía de contacto, ya que captura y activa el FXII y FXI. Estos eventos se manifiestan en la generación de trombina y el depósito de fibrina entre las NETs, que atraen nuevas plaquetas de la circulación (Klavina *et al.*, 2022).

Por otro lado, las estructuras NET - fibrina son significativamente más resistentes a la fibrinólisis inducida por plasmina. Por lo tanto, las NETs pueden iniciar o contribuir a la trombosis en curso, así como al daño tisular debido a la actividad de NE, MPO, histonas y ADN. Esta capacidad de las NETs para inducir trombosis es un mecanismo importante, necesario para la contención de patógenos. Sin embargo, la NETosis excesiva es un potente factor de tromboinflamación y complicaciones tromboembólicas posteriores (Mandel *et al.*, 2022).

La activación del inflamosoma mediada por NETs puede amplificar la respuesta inflamatoria a través de un circuito de retroalimentación. La estimulación del inflamosoma desencadena la síntesis y liberación de IL-18 e IL-1 $\beta$ , que a su vez mejoran la formación de NETs (Kohli *et al.*, 2022). En asociación con el inflamosoma, los neutrófilos poseen armamentos que incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS), mediadores lipídicos (eicosanoides), así como proteínas granulares como alarminas (catelicidinas, defensinas), MPO y serina proteasas. Estas enzimas se unen a las NETs y promueven/apoyan las funciones inflamatorias locales en el sitio de liberación de NETs (Kohli *et al.*, 2022).

### **Los Monocitos**

Los monocitos son células que forman parte del sistema fagocítico mononuclear que contribuyen a la inmunidad innata y adaptativa durante la defensa inmune, la inflamación y la remodelación de los tejidos, junto con los macrófagos y las células dendríticas convencionales (DC). En humanos, se identificaron por primera vez tres poblaciones de monocitos diferentes mediante la morfología y las expresiones diferenciales de los marcadores de superficie CD14 y CD16 (Mandel *et al.*, 2022).

Se han atribuido funciones específicas a los diferentes subconjuntos: se cree que los monocitos no clásicos patrullan las paredes de los vasos y tienen funciones de soporte de las células endoteliales, mientras que los monocitos clásicos tienen la capacidad de cruzar el endotelio y entrar en los tejidos en respuesta a señales apropiadas, como las proteínas quimioatrayentes de monocitos 1 y 3 (MCP-1/MCP-3), que contribuyen a las respuestas inmunológicas (Mandel *et al.*, 2022).

Las células mieloides típicamente expresan FT en su superficie, y la expresión y actividad de FT están reguladas por la exposición a PAMPs o citoquinas proinflamatorias. En un modelo murino, el FT de los monocitos fue crítico para iniciar la formación de TVP, destacando el papel complejo y multifacético desempeñado por las células inmunes innatas en la formación de coágulos patológicos (Klavina *et al.*, 2022).

En monocitos y macrófagos la proproteína convertasa subtilisina kexina 9 (PCSK9) ejerce un efecto proinflamatorio, independientemente de su acción sobre los receptores de LDL que regulan el colesterol plasmático. PCSK9 también aumenta la actividad procoagulante y la expresión de FT en células mononucleares de sangre periférica humana. Este efecto está mediado por la señalización de TLR4 y NF- $\kappa$ B. La expresión de FT, junto con otros componentes de la vía de coagulación extrínseca, también contribuye a la amplificación de las reacciones inflamatorias, destacando así la interacción entre plaquetas, coagulación e inflamación (Kuijpers *et al.*, 2022).

### **Los Linfocitos**

Aunque las células del sistema inmunitario adaptativo no parecen contribuir a la hemostasia normal, trabajos recientes han destacado un nuevo papel de las células T efectoras de memoria (TEM) y las células T reguladoras (Treg) en la modulación de la lisis de los coágulos venosos (Klavina *et al.*, 2022).

Las células TEM infiltrantes secretan IFN- $\gamma$ , independientemente de la estimulación antigénica, y reclutan monocitos y neutrófilos en el sitio de la lesión, retrasando la resolución del trombo. La deficiencia de células TEM mejora la trombólisis y promueve una mayor expresión de metaloproteinasa de matriz-9 (MMP-9) por parte de los monocitos. La supresión de MMP-9 en macrófagos por células T, células NK y IFN- $\gamma$  derivado de células linfoides innatas retrasa la resolución del coágulo (Klavina *et al.*, 2022).

Las células Treg también desempeñan un papel imprevisto en la mediación de la degradación eficiente del coágulo, y su agotamiento produce un retraso en la trombólisis. La dinámica de la población de Treg influye en el reclutamiento y la diferenciación de monocitos. Después de la estimulación con TGF- $\beta$ , una subpoblación de Treg produce proteína secretada ácida y rica en cisteína (SPARC), una proteína matricelular involucrada en el recambio celular, la remodelación de tejidos y la reparación de la matriz extracelular.

Las SPARC<sup>+</sup>Treg reclutan más monocitos CD11c<sup>+</sup> al trombo con MMP mejorada y actividad fibrinolítica (Klavina *et al.*, 2022).

### **Los Eritrocitos**

En comparación con otras células sanguíneas, la información sobre el papel de los eritrocitos durante la defensa del huésped y la formación de coágulos aún es escasa. La exposición al plasma de pacientes sépticos desencadena la exposición a la fosfatidilserina en la membrana celular de los eritrocitos, lo que confiere un fenotipo procoagulante, además de fomentar su fagocitosis y subsecuente eliminación de la circulación. Los eritrocitos expresan fosfatidilserina en sus superficies y producen trombina a través de la vía de meizotrombina. La meizotrombina es un intermedio entre la protrombina y la trombina de la superficie de los eritrocitos, y participa en la formación de coágulos activos (Iba & Levy, 2018).

Durante el movimiento a través de la sangre, los eritrocitos pueden cargarse como resultado del efecto triboeléctrico, esta carga atrae a las bacterias y las fija a la superficie del eritrocito, donde posteriormente son ingeridos y asesinados (Iba & Levy, 2018).

Estudios recientes han informado que los eritrocitos experimentan una erriptosis, un mecanismo de muerte celular similar a la apoptosis, que se caracteriza por la contracción celular y la externalización de fosfatidilserina que conduce a la adherencia a la pared vascular y a la fagocitosis por células con receptores de fosfatidilserina. Después de la incorporación a un trombo, los eritrocitos se lesionan, y la hemoglobina se libera y se oxida, liberando hemo libre en el coágulo y la circulación. El hemo libre circulante juega un papel bactericida e induce simultáneamente daño al tejido. Por lo tanto, el exceso de hemo libre induce eventos altamente tóxicos a través de la promoción del estrés oxidativo y la peroxidación de los lípidos, lo que finalmente conduce a la lesión de la membrana y la muerte celular (Iba & Levy, 2018).

### **Las Plaquetas**

En las últimas dos décadas, las plaquetas se han explorado ampliamente por su participación en diferentes procesos fisiológicos que incluyen inflamación, permeabilidad vascular y reparación de tejidos. Hay un número creciente de evidencia en la literatura que enfatiza el papel de las plaquetas como principales células centinelas y efectoras

involucradas en el puente de la hemostasia, la inflamación y el sistema inmune. Las plaquetas a través de diferentes receptores pueden responder tanto a los PAMPs como a los DAMPs liberados durante la inflamación no estéril (infección) y estéril (Sharma *et al.*, 2022).

Las plaquetas pueden detectar la invasión intravascular de un patógeno (infección parasitaria, bacteriana o viral), ya sea directamente a través de receptores: receptores de integrina y receptores de reconocimiento de patrones (PRR), o a través del patógeno: complejos de inmunoglobulina a través de receptores de Fc y receptores del complemento. El más caracterizado de estos receptores es el FcγRIIA, que se une a antígenos y microbios recubiertos de pentraxina o IgG (Patel *et al.*, 2021). En virtud de sus receptores para diversas clases de inmunoglobulinas y componentes del complemento, las plaquetas son células efectoras que unen eficazmente la inmunidad innata y adaptativa. Las plaquetas también pueden responder indirectamente a los patógenos a través de sus interacciones con los leucocitos y el endotelio vascular en el área de lesión o inflamación local (Sharma *et al.*, 2022).

Dado que las plaquetas transportan las transcripciones de todos los receptores patógenos tipo Toll, durante ciertas infecciones bacterianas, las plaquetas pueden inducir eventos protrombóticos, secretar citoquinas, quimiocinas y péptidos antimicrobianos, lo que lleva al secuestro y destrucción de bacterias (De Nardi *et al.*, 2023). Las vesículas extracelulares (VE), pueden formarse a partir de plaquetas activadas, las cuales son altamente protrombóticos debido a la exposición a fosfatidilserina tras su liberación, que es realizada activamente por la escramblasa TMEM16F. Estas VE también interactúan con los neutrófilos, lo que resulta en su agregación (Martinod & Deppermann, 2021).

El receptor transcrito tipo TREM-1 (TLT-1) se expresa altamente en las plaquetas y permanece secuestrado dentro de los gránulos alfa de las plaquetas en reposo y se transloca a la superficie después de la activación con LPS o trombina. La TLT-1 plaquetaria se une al fibrinógeno y facilita la agregación plaquetaria, y la forma soluble de TLT-1 (sTLT-1) actúa como un potente regulador endógeno de la inflamación asociada a la sepsis (Sharma *et al.*, 2022).

La activación plaquetaria intravascular puede ocurrir como una respuesta aberrante y, si no se controla puede provocar una exacerbación de la inflamación, promoviendo la disfunción endotelial y la trombosis (Sharma *et al.*, 2022).

### ***Interacciones Plaqueta – Endotelio***

El daño endotelial asociado a la inflamación es la base de varias complicaciones que causan hipoxia orgánica. En respuesta a la hipoxia, las células endoteliales liberarán más componentes adhesivos (FvW/FVIII) a la superficie vascular y la circulación, manteniendo condiciones proinflamatorias y trombóticas. El daño al endotelio está asociado con la eliminación de heparán sulfato de la glicocálix debido a las heparinasas, que son liberadas por plaquetas activadas y proporcionadas por varias bacterias (Kohli *et al.*, 2022).

El daño al endotelio da como resultado la liberación de mediadores tanto localmente en las superficies vasculares como en la circulación, lo que mejora aún más la adhesión de las plaquetas a los sitios afectados, especialmente en la microcirculación. Estos mediadores clave, derivados tanto de las plaquetas como del endotelio, incluyen el FvW, el factor plaquetario 4 (PF4, CXCL4) y la selectina P (Kohli *et al.*, 2022).

La interacción FvW - plaquetas es muy relevante en condiciones de alto flujo sanguíneo. Una mayor velocidad de cizallamiento y un aumento del número de plaquetas que se depositan en el FvW se presenta en condiciones tales como: cuando aumenta el tamaño de los multímeros de FvW, cuando es mayor el hematocrito o cuando más rápidas son las condiciones de flujo y menor es el diámetro del vaso. Tras su activación, las plaquetas liberan el procoagulante PF4, que neutraliza los glucosaminoglicanos (GAG) similares a la heparina cargados negativamente y su potencial anticoagulante, incluido la glucocálix. La selectina P es una molécula tromboinflamatoria que queda expuesta en las plaquetas y la superficie endotelial tras su activación, funcionando no solo como una molécula adhesiva, sino que también su unión a PSGL-1 induce la activación plaquetaria y mejora la agregación (Kohli *et al.*, 2022).

### ***Interacciones Plaqueta – Neutrófilo***

Las interacciones plaquetas - neutrófilos son cruciales en la defensa y la hemostasia del huésped. El número de NETs o complejos plaquetas - neutrófilos en la sangre se ha utilizado como marcador de la gravedad de la enfermedad. Se han observado mayores cantidades de complejos plaquetas - neutrófilos en enfermedades autoinmunes, afecciones inflamatorias agudas y crónicas y enfermedades cardiovasculares (Mandel *et al.*, 2022).

La evidencia apunta a un papel clave de las plaquetas en las respuestas inflamatorias e inmunes, de la misma manera que los neutrófilos. Las plaquetas promueven la actividad inflamatoria por su estrecha interacción con leucocitos, ya que el reclutamiento de leucocitos mediado por plaquetas se inicia mediante la unión de la selectina P plaquetaria a la glicoproteína selectina P de los leucocitos, lo que induce la activación de las integrinas (b1 y b2) y aumenta la adhesión del leucocito a la capa endotelial (De Nardi *et al.*, 2023).

La interacción de la selectina P de las plaquetas con el PSGL-1 de los neutrófilos no solo da como resultado la activación de la integrina de los neutrófilos mediante la señalización dependiente de la PKC; sino que las plaquetas activadas también liberan HMGB1, que activa los receptores RAGE y TLR4 de los neutrófilos (Figura 2.2). Además de HMGB1, las plaquetas activadas también secretan el componente C3a del sistema del complemento, que, a su vez, activa el receptor de neutrófilos C3a (Mandel *et al.*, 2022). Los gránulos de plaquetas  $\alpha$  contienen un conjunto de quimiocinas, que son potentes estimuladores de la actividad de los neutrófilos. Entre los más abundantes se encuentran el factor plaquetario 4 CXCL4 (PF4) y el péptido activador de neutrófilos-2 CXCL7 (NAP2). También, tras la secreción de los gránulos  $\delta$  de plaquetas, se liberan ADP y ATP, que pueden activar los receptores purinérgicos de los neutrófilos. Otras moléculas que pueden mediar en la activación de los neutrófilos tras la secreción de los gránulos plaquetarios incluyen el factor de crecimiento transformante beta (TGF $\beta$ ), el ligando del grupo de diferenciación 40 (CD40L) y la interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) (De Nardi *et al.*, 2023).

Tras la formación de heteroagregados, las plaquetas y los neutrófilos pueden activarse entre sí de forma recíproca. Una de las vías más elegantes de dicha influencia mutua es la síntesis transcelular de eicosanoides. El ácido araquidónico (AA) es un componente de los fosfolípidos de membrana, que es liberado por la fosfolipasa citosólica 2 (PLA2) tras la activación celular. En las plaquetas, el metabolismo del AA por la COX1 da como resultado la formación de tromboxano A2 (TxA2), un mediador secundario esencial de la activación plaquetaria. Sin embargo, tras la liberación de AA de los fosfolípidos plaquetarios, puede transferirse a los neutrófilos. Los neutrófilos abundan en la 5-lipoxigenasa (5LO), que es una proteína integral de la membrana nuclear. La actividad 5LO da como resultado la transición de AA a leucotrieno A4 (LTA4), que se metaboliza aún más en leucotrieno B4 (LTB4). Alternativamente, puede metabolizarse en leucotrieno C4 (LTC4). Tanto LTB4 como LTA4 son agentes proinflamatorios importantes, capaces de activar los neutrófilos y

provocar contracción y edema de las células del músculo liso. Tanto en los neutrófilos como en las plaquetas activadas, se forman especies reactivas de oxígeno (ROS), que mejoran la activación general de ambos tipos de células. Además, las ROS inducen la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B en los neutrófilos. La activación de NF- $\kappa$ B también puede desencadenarse por una interacción prolongada con las plaquetas a través de las integrinas PSGL1 y  $\beta$ 2. Esto conduce a la adquisición de un fenotipo proinflamatorio por parte de los neutrófilos, caracterizado por la producción de citoquinas proinflamatorias (Mandel *et al.*, 2022).

Combinados, estos estímulos mejoran significativamente la activación de neutrófilos inducida por PSGL-1, generando complejos plaquetas - neutrófilos y secreción de NETs. Las NETs contienen las proteasas catepsina G, elastasa de neutrófilos y mieloperoxidasa, que pueden activar las plaquetas y la cascada de coagulación. Múltiples circuitos de retroalimentación positiva están presentes en todos los niveles de este sistema y, por lo tanto, tanto las plaquetas como los neutrófilos participan en la inmunotrombosis y la tromboinflamación posterior (Mandel *et al.*, 2022).

El impacto de las interacciones plaquetas - neutrófilos no es unidireccional; las plaquetas también se ven afectadas por su interacción con los neutrófilos. Los neutrófilos activados liberan catelicidinas antimicrobianas como LL-37, ya sea por desgranulación o como parte de NETs. Estas catelicidinas secretadas promueven la activación plaquetaria a través de GPVI, y esto a su vez promueve interacciones plaquetas - neutrófilos adicionales (Martinod & Deppermann, 2021). Además de la activación plaquetaria directa, los neutrófilos activados pueden desencadenar la activación de la cascada de coagulación plasmática a través de la expresión de FT en su superficie, así como la secreción de microvesículas positivas para FT. Esto da como resultado la producción de trombina y la generación de fibrina, lo que mejora significativamente la formación de enlaces plaquetas - neutrófilos y la activación mutua (De Nardi *et al.*, 2023).

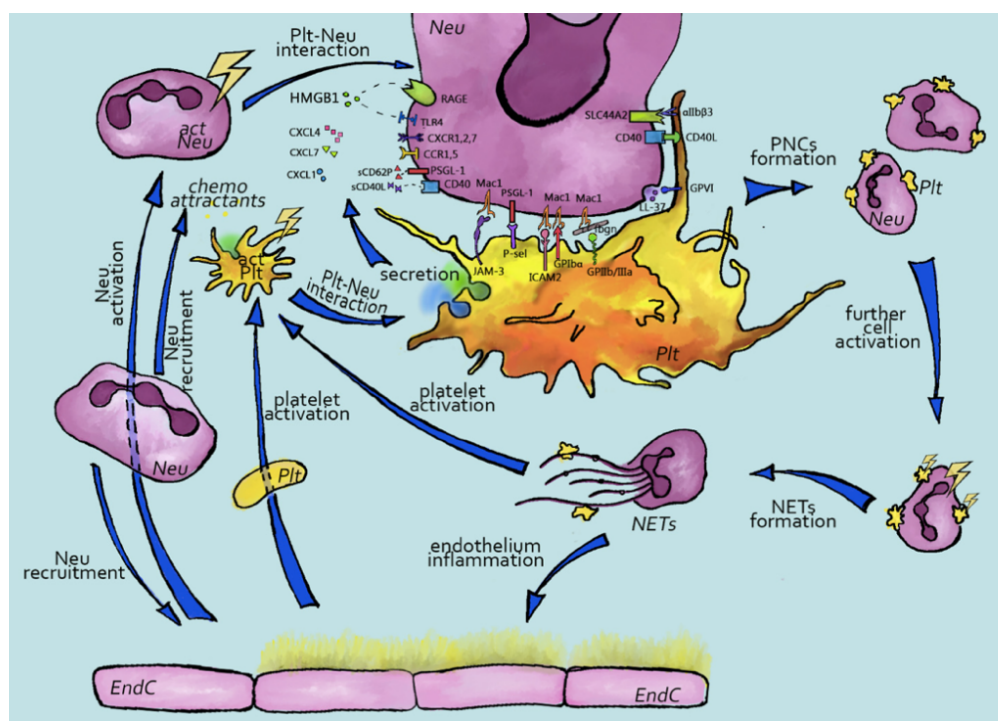
Aunque la interacción de plaquetas y neutrófilos es crucial, dependiendo de los estímulos originales de las plaquetas, no siempre son necesarios. De hecho, las bacterias gramnegativas se reconocen por la unión de LPS-TLR4 plaquetaria, lo que induce la formación de NETs debido a las interacciones de las plaquetas activadas con los neutrófilos a través de proteínas de superficie. Sin embargo, la estimulación con LPS también puede formar directamente NETs en ausencia de plaquetas; como ocurre en algunas infecciones

virales, que no necesita la interacción de las plaquetas para activar las NETs, ya que los neutrófilos pueden reconocer el ARN del virus a través del receptor TLR, incluidos los receptores intracelulares, como TLR7, TLR8 y TLR9. Tras el reconocimiento del virus, TLR específicos activan PAD 4 directamente (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

Estas interacciones entre plaquetas y neutrófilos son cruciales para la inflamación y la inmunidad. Actualmente, la interacción plaquetas - neutrófilos está bien caracterizada, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, en las que la respuesta tromboinflamatoria a menudo se describe como “un círculo vicioso” (De Nardi *et al.*, 2023).

## Figura 2.2

*Interacciones entre las plaquetas y los neutrófilos.*



*Nota.* Tras la activación plaquetaria, se da la exposición de la P-selectina, que interactúa con el receptor PSGL-1 de los neutrófilos, activándolos. Además de esta interacción, la NETosis se puede generar por la interacción de los receptores Mac-1, SLC44A2 y CD40 con moléculas de los gránulos plaquetarios. **Fuente:** Tomado de Mandel *et al.*, 2022.

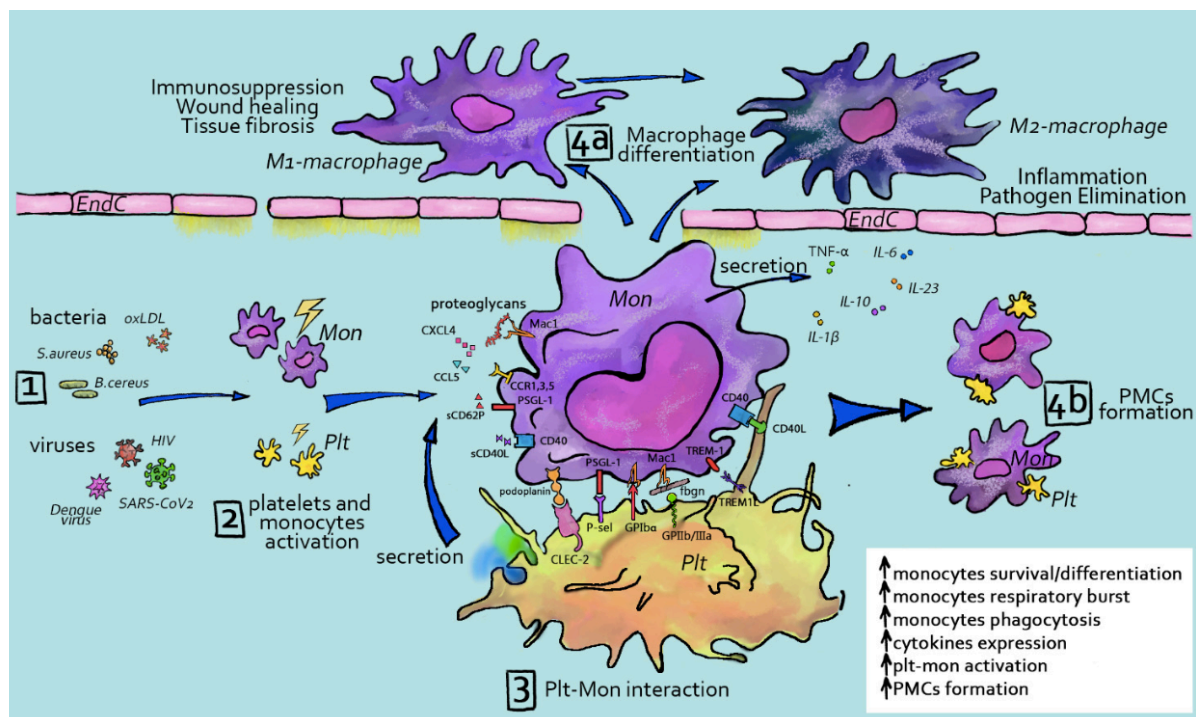
### ***Interacciones Plaqueta – Monocito/Macrófago***

Una vez activadas, las plaquetas pueden reclutar leucocitos e interactuar con ellos, incluidos monocitos y macrófagos, estimulando la activación mutua y la liberación de citoquinas. Tras la activación, la selectina P queda expuesta en la superficie de las plaquetas, donde puede unirse a su contrarreceptor en las células mieloides PSGL-1. Las interacciones P-selectina/PSGL-1 parecen ser el primer paso en la agregación plaquetas-monocitos. Esta primera asociación aumenta la expresión del complejo 1 activado por membrana (Mac-1) (integrina CD11b/CD18  $\alpha\text{M}\beta 2$ ) en la superficie de los monocitos, apoyando aún más sus interacciones con las plaquetas. Mac-1 se une al factor X de coagulación y al fibrinógeno. Este último, a su vez, está unido a la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta 3$  activada en la superficie de las plaquetas. Es importante destacar que Mac-1 interactúa con el receptor plaquetario GPIb a través de su dominio I, que es homólogo al dominio A1 del FvW y JAM-C (Martinod & Deppermann, 2021). Las plaquetas y los monocitos también entran en contacto a través de interacciones CD40L-CD40 (Figura 2.3). (Mandel *et al.*, 2022).

Tras su activación, las plaquetas se adhieren a los monocitos a través de moléculas puente como el fibrinógeno y la trombospondina. El fibrinógeno ayuda con la formación de complejos, uniendo Mac-1 en la superficie de los monocitos y la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta 3$  en las plaquetas. Además de las interacciones directas, las quimiocinas derivadas de plaquetas influyen en el reclutamiento de monocitos y en la adhesión y el comportamiento endotelial. El depósito de CCL5 plaquetario (RANTES) en el endotelio inflamado es relevante para el reclutamiento de monocitos. También las plaquetas liberan grandes cantidades de CXCL4 (PF4), la cual mejora la fagocitosis de monocitos y desencadena el estallido respiratorio mediante la activación de la fosfoinositol-3-quinasa (PI3K), Syk y p38 MAP quinasa. Además, el CXCL4 plaquetario induce la fosforilación de la señal extracelular quinasa 1 y 2 (ERK1/2), que media la supervivencia y diferenciación de los monocitos así como la señalización de Janus quinasa (JAK), que conduce a la producción y liberación de citoquinas y quimiocinas. También se observó que el PF4, en colaboración con la IL-4, provoca una rápida diferenciación de los monocitos en células presentadoras de antígenos especializadas con características fenotípicas y funcionales únicas que son diferentes de los macrófagos o CDc. Recientemente, se identificó que Mac-1 y proteoglicanos median en la unión de PF4 a los leucocitos (Mandel *et al.*, 2022).

**Figura 2.3**

*Interacciones entre las plaquetas y los monocitos/macrófagos.*



*Nota.* Varios factores como la infección viral o bacteriana (1) pueden contribuir a la activación de monocitos y plaquetas (2). Una vez activados, las plaquetas y los monocitos pueden interactuar a través de sus receptores expresados en la superficie celular y la liberación de factores solubles desde las plaquetas puede modular aún más la activación del monocito (3). Esta interacción puede guiar a los monocitos a extravasarse y diferenciarse hacia macrófagos (4a) o alternativamente a la formación de agregados plaquetas – monocitos (4b). **Fuente:** Tomado de Mandel *et al.*, 2022.

Una vez depositadas, las quimiocinas plaquetarias pueden formar agregados homófilos y heterófilos, lo que da como resultado una mayor estimulación de su actividad biológica. Por ejemplo, RANTES puede aumentar la unión de PF4 a la superficie de los monocitos, mientras que PF4 mejora drásticamente la detención de monocitos inducida por RANTES en las células endoteliales, mediada predominantemente por CCR1. Las plaquetas también se asocian con los neutrófilos para promover el reclutamiento de monocitos: las plaquetas CCL5 pueden formar heterodímeros con los neutrófilos HNP1 (alfa-defensina), estimulando la adhesión de los monocitos a través de CCR5. También, las plaquetas activadas estimulan

la secreción de la proteína quimiotáctica 1 (MCP-1) de los monocitos y la expresión superficial de la molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1) en las células endoteliales mediante la activación de la vía NF- $\kappa$ B, lo que provoca indirectamente el reclutamiento de monocitos. Por tanto, la adhesión plaquetaria al endotelio y las quimiocinas secretadas por las plaquetas contribuyen en gran medida a la posterior adhesión de los monocitos a la pared vascular (Mandel *et al.*, 2022).

### **MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN**

Los mecanismos moleculares que median la inmunotrombosis y la tromboinflamación se dan a través de moléculas que forman parte de los sistemas de cascadas proteolíticas del sistema hemostático (coagulación, contacto, fibrinólisis) y del sistema inmunológico en su componente humoral (complemento).

#### ***Componentes del Sistema Hemostático***

A continuación, se describen los mecanismos de inmunotrombosis y tromboinflamación en los que intervienen los factores y moléculas del sistema de coagulación.

**El Factor de von Willebrand (FvW).** Las múltiples acciones coordinadas del FvW en el reclutamiento de plaquetas y la vía de coagulación son fundamentales en la trombosis microvascular, incluidos los entornos tromboinflamatorios (Kohli *et al.*, 2022).

Se ha demostrado que el FvW participa en el reclutamiento de leucocitos. Las plaquetas activadas por unión a multímeros ultra largos del FvW (UL-FvW) median el reclutamiento de leucocitos en condiciones estáticas y de flujo. Además de su papel indirecto en el reclutamiento de leucocitos, el FvW también regula directamente este proceso. La unión del dominio D3 del FvW a PSGL-1 en los leucocitos favorece su rodamiento y posteriormente, el FvW interactúa con la integrina  $\beta_2$  en los leucocitos para promover su adhesión firme. En presencia de patógenos, los multímeros del FvW también se unen a las NETs para formar una red que puede reclutar tanto plaquetas como leucocitos y promover la trombosis (Yang *et al.*, 2020).

Los multímeros largos del FvW, especialmente el UL-FvW, exhiben actividad protrombótica. La actividad del FvW está regulada por ADAMTS13 que escinde específicamente el enlace peptídico Tyr1605-Met1606 en el dominio A2. El tridominio A1A2A3 es esencial, ya que

contiene sitios de unión para GPIIb en las plaquetas (A1), colágeno en la matriz subendotelial (A1 y A3) y el enlace peptídico escindido por ADAMTS13 (Yang *et al.*, 2020).

**$\alpha$ -Trombina (FIIa).** Es un potente activador de las plaquetas, lo que facilita la función procoagulante plaquetaria y la generación de fibrina a través de la expresión superficial de fosfatidilserina. La  $\alpha$ -trombina puede escindir numerosos sustratos que pueden tener funciones pro/anticoagulantes o pro/antiinflamatorias (Tabla 2.1). La trombina puede potenciar su propia generación a través de múltiples mecanismos, incluido el circuito de activación por retroalimentación trombina - FXI. Muchas de las funciones biológicas de la  $\alpha$ -trombina están mediadas por receptores activados por proteasas (PAR) acoplados a proteína G. Se han identificado cuatro PAR y pueden ser activados por una amplia gama de proteasas. PAR1, PAR3 y PAR4 se activan mediante trombina y catepsina G. Además, PAR1 y PAR4 pueden activarse mediante plasmina y potencialmente FXa en el caso de PAR1. En contraste, PAR2 se activa mediante tripsina, triptasa, FVIIa y FXa (Jackson *et al.*, 2019).

La  $\alpha$ -trombina tiene numerosos efectos dentro de la vasculatura, escindiendo componentes de las cascadas de coagulación, complemento y fibrinolítica y mediante la activación de numerosos tipos de células, incluidas células endoteliales, plaquetas, leucocitos (monocitos, neutrófilos y macrófagos), células del músculo liso vascular, y fibroblastos (Jackson *et al.*, 2019).

Parte de los efectos proinflamatorios de la  $\alpha$ -trombina está mediado por la estimulación de las células endoteliales. La  $\alpha$ -trombina activa las células endoteliales predominantemente a través de la proteólisis PAR1, induciendo la expresión de FT y la movilización del cuerpo de Weibel-Palade, lo que lleva a una mayor expresión de selectina P y la liberación del FvW. La  $\alpha$ -trombina también induce la liberación endotelial de quimiocinas, citoquinas y factores de crecimiento, y regula positivamente la expresión de moléculas de adhesión, incluidas VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina. Además, la  $\alpha$ -trombina estimula la actividad procoagulante plaquetaria a través de PAR1 y PAR4. La escisión de PAR sobre las plaquetas por la  $\alpha$ -trombina desencadena la liberación del contenido de los gránulos, incluidos ADP, serotonina, P-selectina, ligando CD40 y la propia  $\alpha$ -trombina, la generación de tromboxano A<sub>2</sub>, y la liberación de una amplia gama de moléculas proinflamatorias, incluidas quimiocinas y factores de crecimiento. Además, la  $\alpha$ -trombina es un potente activador de la integrina plaquetaria  $\alpha$ IIb $\beta$ 3, que promueve la rápida agregación plaquetaria (Jackson *et al.*, 2019).

**Tabla 2.1***Principales sustratos de la trombina.*

<b>Sustrato</b>	<b>Acción de la trombina</b>
<b>Fibrinógeno</b>	Escisión de fibrinógeno a fibrina.
<b>Factor V</b>	Activación de FV (FVa).
<b>Factor VIII</b>	Activación de FVIII (FVIIIa).
<b>Factor XI</b>	Activación de FXI (FXIa).
<b>Factor XIII</b>	Activación de FXIII (FXIIIa).
<b>ADAMTS13</b>	Inactivación de ADAMTS13.
<b>GPV</b>	Escisión de la subunidad GPV del receptor del FvW (GPIIb/IIIa).
<b>PARs</b>	Escisión limitada de receptores activados por proteasa.
<b>Proteasa Nexin 1<sup>1</sup></b>	Inhibidor de la actividad de la trombina, FXa y FXIa.
<b>Proteína C</b>	Activación de la proteína C, mediante el complejo trombina-trombomodulina.
<b>TAFI</b>	Activación del TAFI, mediante el complejo trombina-trombomodulina.
<b>Inter-<math>\alpha</math>-inhibidor (IAI) de cadena pesada 1 (HC1)<sup>2</sup></b>	Escisión de matrices hialuronanas (HA) asociadas a IAI-HC1.
<b>C5</b>	Escisión de C5, generando los intermediarios C5T y C5BT.

<sup>1</sup> Expresado en monocitos, plaquetas y células vasculares. Se localiza principalmente en la superficie celular como resultado de la alta afinidad por los GAG.

<sup>2</sup> La escisión de HC1 disuelve la matriz inflamatoria generada durante la inflamación. Esto conduce a una reducción de la adhesión de leucocitos.

**Fuente:** Modificado y traducido de Jackson *et al.*, 2019.

**Factor tisular (FIII).** La detección de PAMPs como el LPS, mediante PRR como TLR4, desencadena la inmuntrombosis debido a la inducción rápida de FT a nivel de ARNm. Esto ocurre por la activación inducida por PAMPs del factor de transcripción NF- $\kappa$ B en monocitos y macrófagos, neutrófilos, células endoteliales y células epiteliales, las principales fuentes de FT (Ryan & O'Neill, 2022).

El FT se modifica en un proceso denominado descifrado, que se produce en parte a través de cambios en la composición de lípidos en la capa externa de la membrana celular, lo que aumenta la actividad procoagulante del FT. Luego, el FT descifrado se libera de las células inmunes a través de poros piroptóticos inducidos por inflamósoma, mediante la activación de la proteína 3 que contiene el dominio NOD, LRR y pirina (NLRP3, a través de caspasa-

1) o inflamosomas no canónicos (a través de caspasa-11). Los monocitos y macrófagos son la principal fuente de FT circulante (Ryan & O'Neill, 2022).

Después de su liberación a través de poros piroptóticos, el FT descifrado se expresa en la circulación en las vesículas de la membrana externa y forma un complejo de superficie celular de alta afinidad con FVII/VIIa para activar proteolíticamente los factores IX a IXa y X a Xa, lo que da como resultado en la generación de trombina. Luego, la trombina activa los PAR, que son críticos para la interacción entre la inflamación y la coagulación, aumentando la secreción de citoquinas proinflamatorias pero también activando las plaquetas. La trombina también escinde el fibrinógeno en fibrina, que genera un coágulo formando una malla en el sitio de la infección, junto con plaquetas activadas y neutrófilos que expulsan NETs durante la NETosis. Las NETs propagan la trombosis al capturar FT y vesículas extracelulares positivas para FT de la circulación, lo que impulsa aún más la coagulación (Ryan & O'Neill, 2022).

***Liberación de factor tisular por activación del inflamosoma.*** La evidencia clínica y experimental ha determinado que la muerte celular mediada por los inflamosomas es un desencadenante clave de la inmutrombosis y la trombosis microvascular. Se requieren dos señales clave para la activación de la coagulación mediada por el inflamosoma: inducción de la proteína FT y la activación de caspasa inflamatoria que inducen la liberación de FT a través de la piroptosis (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023). La activación del inflamosoma canónica y no canónica es fundamental para la liberación de FT de las células inmunitarias.

Se ha determinado que la caspasa-11 se expresa altamente en macrófagos humanos en pacientes con sepsis grave, lo que sugiere su importancia en la inmutrombosis. La activación de los inflamosomas canónicos (con proteínas del sistema de secreción EprJ tipo III de *Escherichia coli* (*E.coli*)) y no canónicos (con LPS) en macrófagos desencadena la liberación de FT a través de piroptosis, lo que conduce a una trombosis grave y letalidad. Varios estudios han demostrado que activación de la caspasa-1 es un requisito indispensable para que se lleve a cabo la piroptosis y liberación de FT (Ryan & O'Neill, 2022).

La escisión de GSDMD por medio de caspasas durante la piroptosis no solo produce poros sublíticos en la membrana celular, sino que también aumenta la actividad procoagulante del FT mediante la externalización de fosfatidilserina, un fosfolípido de la membrana celular que

se expresa principalmente en la membrana celular interna durante la homeostasis. Este aumento de la actividad del FT mediado por GSDMD se produce mediante la entrada de calcio en la célula (Ryan & O'Neill, 2022).

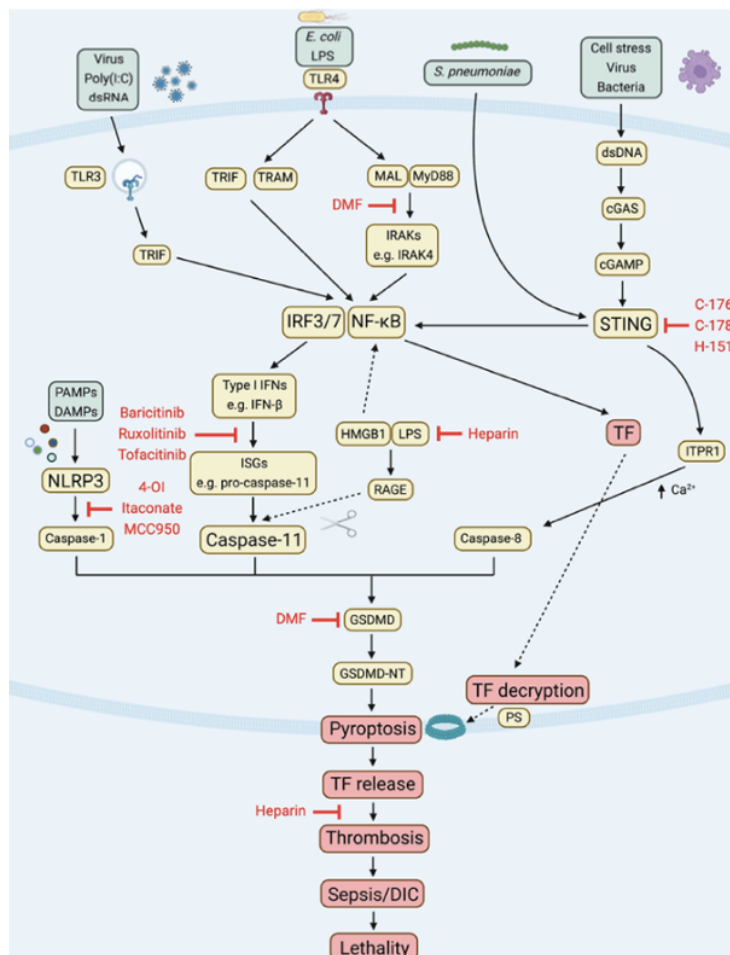
**cGAS-STING.** La activación del sensor de ADN GMP-AMP cíclico sintasa (cGAS)-STING está implicado como un factor impulsor de la sepsis en modelos de coagulopatías humanas. STING mantiene la respuesta procoagulante del huésped al regular la liberación de calcio de los macrófagos y monocitos para impulsar la escisión de GSDMD. Esto ocurre en monocitos y macrófagos mediante la unión de STING con el receptor de inositol 1,4,5-trifosfato tipo 1 (ITPR1), el principal canal de liberación de calcio del retículo endoplasmático. Se forma un complejo STING-ITPR1 después de la infección con la bacteria Gram negativa *E. coli* o la bacteria Gram positiva *Streptococcus pneumoniae*, que activa la caspasa-8. La unión de STING-ITPR1 aumenta la liberación de calcio del RE al citosol, lo que desencadena la escisión de GSDMD mediante la activación de caspasa-1/11 o caspasa-8 (Figura 2.4) (Ryan & O'Neill, 2022).

**HMGB1.** La HMGB1 (proteína 1 de la caja del grupo de alta movilidad) es una proteína que actúa como DAMP y que está relacionada con la coagulación en los pacientes sépticos. La HMGB1 derivada de plaquetas, hepatocitos y células mieloides media la trombosis inducida por LPS de una manera dependiente de TLR4 y MyD88. La HMGB1 contribuye a la sepsis por gramnegativos al unirse al LPS. Esto ocurre a través de la endocitosis de HMGB1-LPS, mediada por el receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE), y la posterior ruptura de la membrana endolisosomal inducida por HMGB1, liberando LPS en el citosol. Luego, la caspasa-11 detecta el LPS citosólico, lo que desencadena una piroptosis no canónica inducida por el inflamosoma y libera FT para impulsar la coagulación (Ryan & O'Neill, 2022).

**Otros factores de la coagulación.** La mayoría de las funciones proinflamatorias del factor Xa y la trombina están mediadas por los receptores activados por proteasas (PAR), que median la coagulación e inflamación. Los PAR se expresan por células como plaquetas, leucocitos y células endoteliales. El factor X activa PAR1 y PAR2, mientras que la trombina activa PAR3, con ambas activaciones que conducen a la liberación de citoquinas inflamatorias expresadas por las células (De Nardi *et al.*, 2023). Estas citoquinas atraen monocitos y neutrófilos, además de actuar sobre la adhesión de leucocitos y en la expresión de receptores por células presentadoras de antígeno. También se vuelven capaces de

**Figura 2.4**

*Liberación del factor tisular mediada por el inflamósoma y STING.*



*Nota.* La detección de una amplia gama de microorganismos mediante PRR desencadena cascadas de señalización inmune innata que convergen para activar IRF3/7 y NF-κB. IRF3/7 estimula la expresión de IFN de tipo I. Esto conduce a la liberación de IFN-β, que actúa a través del complejo de señalización JAK-STAT para impulsar la transcripción de cientos de genes estimulados por INF, incluida la caspasa-11. La activación de STING también puede impulsar este proceso. Luego, la caspasa-11 se escinde y se activa tras el reconocimiento del LPS citosólico (que ocurre a través de HMGB1 y RAGE), lo que desencadena la escisión y activación de GSDMD, lo que resulta en piroptosis. La escisión de GSDMD también puede desencadenarse mediante la activación de caspasa-1 o caspasa-8. Simultáneamente, NF-κB induce TF, antes de que TF se active postraduccionalmente, en un proceso denominado descifrado. Luego se libera TF procoagulante a través de los poros piroptóticos para provocar la trombosis, que puede provocar tromboinflamación, sepsis y coagulación intravascular diseminada. **Fuente:** Tomado de Ryan & O'Neill, 2022.

alterar la permeabilidad vascular, favoreciendo los procesos inflamatorios (De Nardi *et al.*, 2023).

La fibrina también juega un papel en la restricción bacteriana, ya que las bacterias pueden atraparse dentro del coágulo formado. Además, la fibrina promueve la quimiotaxis y la adhesión de los leucocitos como macrófagos, células dendríticas y neutrófilos (De Nardi *et al.*, 2023).

El factor XIIIa impide la degradación de la fibrina y mejora las condiciones para la adhesión de los leucocitos a los vasos, además actúa sobre los monocitos, mejorando su estructura y, en consecuencia, sus funciones fagocíticas (De Nardi *et al.*, 2023).

**El sistema de contacto y el poliP.** El sistema de contacto, también denominado sistema calicreína-cinina plasmática, consta de tres serinas proteinasas: los factores de coagulación XII (FXII) y XI (FXI), la precalicreína plasmática (PK) y el cofactor no enzimático quinínogeno de alto peso molecular (HK). Los componentes de este sistema y sus interacciones se han dilucidado a partir de experimentos *in vitro*, lo que indica que este sistema es protrombótico al activar la vía intrínseca y proinflamatorio al producir el péptido bioactivo bradiquinina (Wu, 2015).

El sistema de contacto impulsado por el factor XII (FXII) y su polifosfato activador (poliP) pueden servir como paradigma que conecta la coagulación y la inflamación. Las proteínas del sistema de contacto se ensamblan en las superficies celulares. La interacción con activadores de contacto no solubles expuestos en la superficie (poliP, agregados de proteínas mal plegadas y heparina) y solubles transmitidos por plasma (sulfato de condroitina sobresulfatado) conducen a la activación de la proteasa FXII. También, la activación de la cascada de coagulación se puede iniciar mediante la exposición de superficies cargadas negativamente, como la liberación de ARN o ADN de células dañadas o moribundas, o la secreción de polifosfatos inorgánicos cargados negativamente por las plaquetas. El FXIIa, a su vez, desencadena la trombosis a través de la vía de coagulación intrínseca mediada por el FXI (Maas *et al.*, 2018).

La activación de este sistema también produce una potente bradisinina nonapeptídica proinflamatoria (BK) a través de la escisión de HK por PK. La bradisinina y las cininas relacionadas actúan sobre dos tipos de receptores denominados B1R y B2R, ambos receptores acoplados a proteína G (Wu, 2015).

B2R se expresa constitutivamente en diversas células vasculares y no vasculares y se desensibiliza rápidamente. B1R es inducido por citoquinas inflamatorias y resistente a la desensibilización. Estos receptores de bradicinina participan en la regulación de diversos procesos fisiológicos y patológicos. El modo de acción de las quininas se basa en las interacciones entre las quininas y sus receptores específicos, lo que puede conducir a la activación de varios sistemas de segundos mensajeros. Durante las reacciones inflamatorias, los leucocitos activados y las células endoteliales expresan B1R, que es sensible a los péptidos derivados de la bradicinina. Cuando se activa la cinina B2R, la permeabilidad vascular aumenta, entre otras cosas a través de la relajación inducida por óxido nítrico de las células del músculo liso perivascolar. Existe evidencia de que existe una formación continua de bradicinina dependiente de FXII *in vivo*, ya que los niveles de bradicinina se reducen en un 50% en ratones con deficiencia de FXII (Wu, 2015).

El inhibidor de la serpina C1 esterasa (C1INH) es el principal inhibidor plasmático de FXIIa y PK (Maas *et al.*, 2018).

**Los anticoagulantes naturales y agentes fibrinolíticos.** El inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), la proteína C activada, la antitrombina, el activador de plasminógeno tisular (t-PA) y el inhibidor del activador de plasminógeno (PAI-1), además de actuar como anticoagulantes naturales o agentes fibrinolíticos, también juegan un papel en la respuesta inmune (De Nardi *et al.*, 2023).

Se ha determinado que el TFPI tiene propiedades destructivas contra diferentes bacterias y hongos, como el *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. La plasmina, además de su efecto fibrinolítico, facilita la activación y la migración de los leucocitos. El activador tisular del plasminógeno (t-PA) es capaz de activar los neutrófilos y de promover la liberación de citoquinas proinflamatorias por monocitos. El receptor del activador de plasminógeno tipo uroquinasa (u-PAR) juega un papel importante en la adhesión y migración de leucocitos (De Nardi *et al.*, 2023).

**La proteína C activada.** La proteína C activada (PCa) es bien conocida por sus funciones anticoagulantes y citoprotectoras. La actividad anticoagulante de la PCa depende de su capacidad para inactivar FVa y FVIIIa, inhibiendo así la generación de trombina. La PCa confiere señalización citoprotectora en gran medida a través del receptor 1 activado por proteasa (PAR1) en las células endoteliales. La PCa desencadena una compleja red de

señalización de PI3K, que inhibe la muerte celular y promueve la citoprotección al prevenir las ROS mitocondriales y las caspasas proapoptóticas asociadas al inflamosoma. Además, se ha demostrado que la PCa previene la liberación de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6), así como de factores profibróticos (TGF- $\beta$ , CTGF, PDGF) en el miocardio (Kohli *et al.*, 2022).

Estudios recientes han demostrado nuevos mecanismos antiinflamatorios de la PCa, ya que se observó que PCa limita la activación del inflamosoma NLRP3 inducida por hipoxia reoxigenación (H/R), funcionando como un regulador negativo endógeno (Kohli *et al.*, 2022).

Por otro lado, se ha determinado que los restos de condroitina (un glicosaminoglicano) son importantes para la unión de trombina y trombosmodulina, que son necesarias para producir PCa. La heparina y el sulfato de condroitina interactúan con los residuos de arginina en la trombina y regulan su actividad, controlando así también la activación de la proteína C. Además, las serpinas que son capaces de inhibir eficazmente la PCa, están a su vez reguladas por interacciones con GAG, como la heparina o el heparán sulfato. La interacción del FXa con fosfolípidos aniónicos influye en su unión a los GAG, modulando así alostéricamente el sitio activo del FXa y mejora su capacidad para activar la proteína C. Estos hallazgos sugieren que la activación de la proteína C esta modulada indirectamente por los GAG, lo cual proporciona un nuevo blanco para regular la trombosis y los mecanismos celulares antiinflamatorios (Kohli *et al.*, 2022).

### **Componentes del Sistema de Complemento**

A lo largo de los años se han descrito numerosas interacciones entre el complemento y las cascadas de coagulación. Dado que se cree que ambas vías evolucionaron a partir de un ancestro común, no sorprende que existan similitudes estructurales y funcionales entre ellas (Figura 1.3). Estructuralmente, ambas vías están compuestas de potentes serina proteasas, que circulan como zimógenos inactivos. Funcionalmente, ambos sistemas pertenecen a la primera línea de defensa y están destinados a actuar localmente en el lugar de la infección/lesión para limitar los daños colaterales (Donat *et al.*, 2020).

La trombina es capaz de convertir C3 y C5 en fragmentos C3a y C5a biológicamente activos *in vitro*, y estos fragmentos son capaces de inducir quimiotaxis y activación de neutrófilos. También se ha encontrado que la trombina escinde C5 en un sitio diferente al de las

convertasas C5 normales y que el fragmento C5b no convencional resultante induce la formación de un complejo MAC más potente que el C5b canónico. Las formas activas de FX, FXI y plasmina también pueden generar C3a y C5a, lo que contribuye al reclutamiento de neutrófilos (de Bont *et al.*, 2019).

Por el contrario, el sistema del complemento también parece desempeñar un papel indirecto en la formación de fibrina. Múltiples experimentos murinos han demostrado que la activación reducida del complemento conduce a un menor reclutamiento de células inmunitarias y plaquetas en el sitio de la lesión, perjudicando así la formación de fibrina y la cicatrización de las heridas (de Bont *et al.*, 2019).

Las plaquetas también pueden activar el sistema del complemento en sus propias membranas, ya sea a través de la vía alternativa o clásica. La vía activada depende del tipo de estimulación porque las plaquetas también contienen un inhibidor de C1q en sus gránulos  $\alpha$ . Cuando la activación plaquetaria induce la exposición de la selectina P de los gránulos  $\alpha$ , también se libera el inhibidor de C1q, lo que lleva a la inhibición de la vía clásica. La relevancia biológica de la activación del complemento podría estar relacionada con la eliminación de las plaquetas debido a que la opsonización con factores del complemento atrae neutrófilos y otros fagocitos que pueden eliminar las plaquetas (de Bont *et al.*, 2019).

**C3b.** En respuesta a los mecanismos de defensa del sistema del complemento, los patógenos han desarrollado estrategias para evadir el sistema del complemento, como el reclutamiento del factor H del complemento en su superficie para prevenir la opsonización de C3b (de Bont *et al.*, 2019).

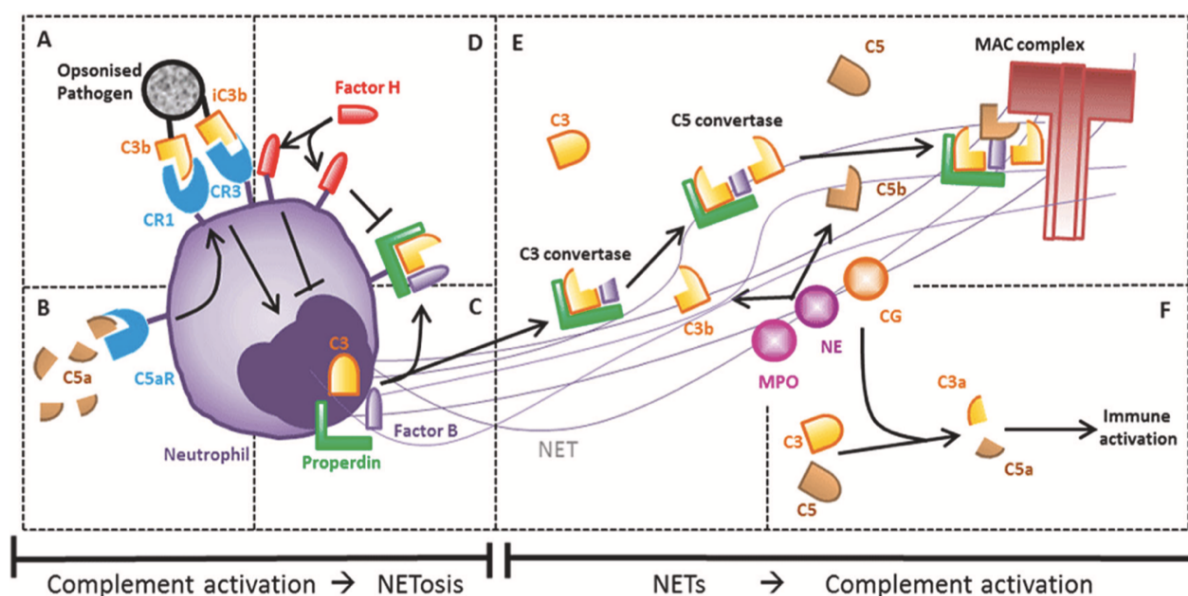
Recientemente se demostró que la opsonización del complemento no sólo induce la fagocitosis sino que también ayuda a inducir la NETosis (Figura 2.5). Las bacterias opsonizadas con IgG sérica son inductores de NETosis más potentes que las bacterias no opsonizadas, y este efecto se refuerza cuando el patógeno se preincuba con suero en lugar de solo IgG, lo que sugiere que la opsonización del complemento C3b (mediante la activación de la vía clásica o alternativa) también facilita la formación de NETs. También se ha encontrado que la adición de un antagonista de CR1, que previene la detección de microbios opsonizados con C3b por los neutrófilos, disminuye la NETosis. Asimismo, el bloqueo del receptor 3 del complemento (CR3), que se une a la opsonina iC3b, inhibe la NETosis en respuesta a ciertos patógenos. Dado que este efecto no se observa con otros

patógenos, es probable que se necesiten múltiples receptores del complemento para detectar diferentes patógenos (de Bont *et al.*, 2019).

**C1q.** La proteína C1q tiene la capacidad de unirse y activar las plaquetas. Los datos acerca de la interacción de C1q con las plaquetas son contradictorios. Algunas investigaciones demuestran que C1q mejora la activación plaquetaria y regula positivamente la expresión de selectina P, mientras que otros estudios sugieren que C1q mitiga la coagulación al inhibir la agregación plaquetaria inducida por colágeno (Donat *et al.*, 2020).

### Figura 2.5

*Representación esquemática la interacción entre las NETs y el complemento.*



**Nota.** (A) La opsonización por C3b y iC3b afecta la formación de NETs. (B) C5a induce la regulación positiva de los receptores del complemento. (C) C3, el factor B y la properidina producen y estabilizan la convertasa C3 en membrana de los neutrófilos y las NETs. (D) El factor H puede reclutarse en la membrana de los neutrófilos para prevenir la activación del complemento. (E) Las NETs forman una plataforma en la que puede ocurrir la activación del complemento. (F) Las proteínas NET pueden generar anafilatoxinas C3a y C5a para alarmar al sistema inmunológico. **Fuente:** Tomado de Bont *et al.*, 2019.

También se ha visto que la unión de C1q a las NETs evita que sean degradados por la ADNasa I. C1q probablemente protege el ADN de las ADNasas o, alternativamente, C1q inhibe la ADNasa I directamente. Esta actividad de C1q podría ser relevante para la

participación de las NETs en enfermedades autoinmunes, ya que los pacientes autoinmunes a menudo tienen anticuerpos contra los componentes NETs a los que se puede unir C1q. Como resultado, las NETs formados en estos pacientes estarán protegidos de la degradación y, por tanto, mantendrán el circuito proinflamatorio característico de las enfermedades autoinmunes. Aunque se trata de un modelo atractivo, los experimentos con C1q, autoanticuerpos contra NETs y ADNasa I no han mostrado evidencia directa de este concepto hasta la fecha (de Bont *et al.*, 2019).

Además, se ha demostrado que C1q interactúa con FvW formando un complejo que es capaz de inducir el rodamiento y la adhesión de las plaquetas. Esta observación es importante ya que los componentes activados del complemento, incluido C1q y la coagulación se encuentran con frecuencia de forma concomitante en las complicaciones tromboticas que acompañan a los trastornos inflamatorios como la sepsis bacteriana y el lupus eritematoso sistémico (LES) (Donat *et al.*, 2020).

Por otro lado, se ha descrito que C1q interactúa con el factor XII, por lo que se propone un efecto inhibitor sobre la formación de coágulos. También la interacción de C1q con moléculas cargadas negativamente, como los derivados de heparina o el sulfato de condroitina A, limitan la activación del complemento pero también activan las plaquetas (Donat *et al.*, 2020).

**C5a.** Cuando se escinde C5, se libera en la fase líquida la anafilatóxina C5a, que estimula el reclutamiento de células inflamatorias e induce el estallido oxidativo de neutrófilos y macrófagos. El C5a además de ser un potente agente quimiotáctico para los neutrófilos, se ha determinado es capaz de inducir la generación de NETs para promover el desarrollo de trombosis arterial en modelos murinos. Con la inhibición del receptor C5aR1, el área del trombo disminuye, aumenta el flujo sanguíneo en la luz del vaso y se atenúa la formación de NETs en los trombos (Chen *et al.*, 2022).

STAT3 es un factor de transcripción unido a genes, que también se encuentra ubicado en la mitocondria (mito-STAT3), el cual se cree reduce la producción de algunos tipos de ROS (mito-ROS) aumentando la polarización de la membrana y la producción de ATP, induciendo la formación de supercomplejos respiratorios en las mitocondrias, minimizando la fuga de electrones en la cadena de transporte de electrones mitocondrial y mejorando la actividad del lactato deshidrogenasa. Diferentes formas de ROS (NADPH oxidasa-ROS o mito-ROS), se cree son fundamentales para la formación de NETs (Chen *et al.*, 2022).

Actualmente se sabe que C5a regula el estrés oxidativo y causa cambios inflamatorios a través de la vía STAT3. También se ha demostrado que en la trombosis arterial, C5a atrae quimiotácticamente a los neutrófilos y desencadena la liberación de NETs, lo que contribuye a la trombosis al promover la coagulación y estabilizar los coágulos. La promoción inducida por C5a de la liberación de NETs depende de la producción de Mito-ROS. C5a induce la producción de mito-ROS al inhibir la actividad mitocondrial de STAT3 a través de la activación de su receptor C5aR en los neutrófilos (Chen *et al.*, 2022).

### ***La Proteína C Reactiva***

La PCR no es sólo un marcador de inflamación, sino que también las isoformas desestabilizadas de la PCR poseen propiedades proinflamatorias y protrombóticas, además de múltiples efectos biológicos significativos en la regulación de los aspectos centrales de la patogénesis de la aterosclerosis y el tromboembolismo venoso (TEV), al activar directamente las plaquetas y desencadenar la vía clásica del complemento (Dix *et al.*, 2022).

La PCR circula como una forma pentamérica funcionalmente inerte (pPCR), que relaja su conformación a pPCR\* después de unirse a las membranas enriquecidas con fosfolina y luego se disocia a PCR monomérico (mPCR), con los dos últimos siendo isoformas desestabilizadas que poseen características altamente proinflamatorias (Dix *et al.*, 2022).

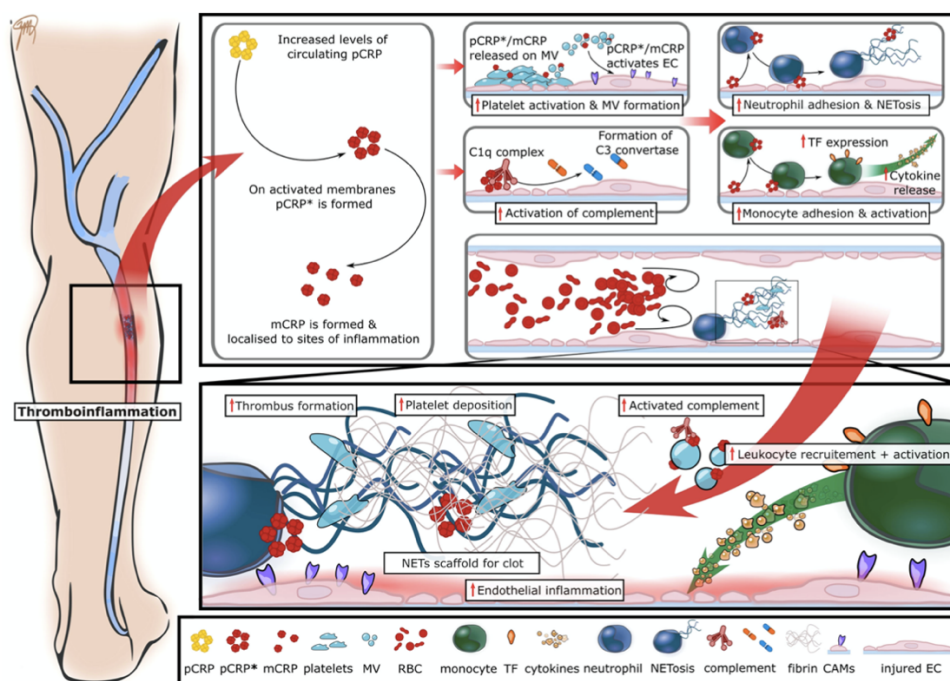
La formación de mPCR expone una variedad de neoepítomos interprotómeros que explican sus potentes funciones proinflamatorias y protrombóticas. Se cree que pPCR y pPCR\* pueden representar las formas circulantes de PCR, mientras que es probable que mPCR se genere en sitios de inflamación y se una predominantemente a tejido. Se ha demostrado que pPCR\* y mPCR inducen inflamación endotelial y facilitan la adhesión y trans migración de leucocitos *in vivo* (Figura 2.6) (Dix *et al.*, 2022).

Cada protómero de PCR contiene un sitio de unión a la fosfolina expuesta en células apoptóticas inflamadas y paredes celulares bacterianas. La cara de "unión" del pentámero de PCR, incluyen dos residuos críticos, Phe-66 y Glu-81, que median las interacciones entre el grupo metilo y el nitrógeno cargado positivamente de la fosfolina, respectivamente. La cara opuesta del pentámero de la PCR es la cara "efectora" y tiene la capacidad de unirse e interactuar con la cabeza globular de la subunidad C1q del complemento y los receptores

Fc $\gamma$ , dotando así a la PCR de la capacidad de regular las funciones inmunes innatas (Dix *et al.*, 2022).

### Figura 2.6

*El papel propuesto de la PCR en la inmunotrombosis y la patogénesis del TEV.*



*Nota.* Los niveles circulantes de PCR aumentan rápidamente en el contexto de inflamación y la pCRP se une a las superficies celulares alteradas, como las células endoteliales (CE) inflamadas y las plaquetas activadas, donde se disocia en las isoformas proinflamatorias y protrombóticas pCRP\* y mCRP. Estas isoformas proinflamatorias amplifican una mayor activación del endotelio y las plaquetas y se unen al complemento C1q, iniciando así la activación del complemento. Estos cambios dan como resultado un mayor reclutamiento y activación de leucocitos, lo que en última instancia conduce a una mayor formación de factor tisular y NETs en los tejidos, lo que resulta en una mayor formación de trombos. **Fuente:** Tomado de Dix *et al.*, 2022.

La función biológica de la PCR parece depender significativamente de los cambios conformacionales que pueden ocurrir en respuesta a una variedad de estímulos, incluida la unión a membranas ricas en fosfolina, la exposición a un microambiente ácido, calor o urea, o la unión a proteínas mal plegadas como la beta amiloide. Tras la unión de pPCR a membranas enriquecidas con fosfolina con una curvatura similar a la observada en

microvesículas derivadas de plaquetas, endotelios y leucocitos, pPCR relaja su conformación pentamérica general para formar pPCR\*. Esta desestabilización estructural inicia la exposición de neoepítomos en la interfaz de los protómeros de PCR adyacentes, permitiendo así la unión de C1q al poro central de pPCR\* con la posterior activación de la vía clásica del complemento (Dix *et al.*, 2022).

La aplicación *in vitro* de mPCR a las células endoteliales inhibe la producción de óxido nítrico y aumenta la producción de las quimiocinas proinflamatorias interleucina-8 (IL-8) y la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1). Además, la expresión de las moléculas de adhesión como la proteína de adhesión de las células vasculares-1 (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), muestran una regulación positiva en respuesta a la estimulación de mPCR, que sirven para facilitar la adhesión de leucocitos. Estas isoformas proinflamatorias de PCR también sirven para mejorar la activación de leucocitos, ya que mPCR puede estimular directamente los monocitos y los neutrófilos, lo que resulta en la activación de la integrina de leucocitos AMB2 (MAC-1), que es un socio de unión crítico para la glucoproteína Ib (GPIb) en las plaquetas. Se ha propuesto que mPCR puede contribuir a la trombosis a través de su capacidad para activar las plaquetas, por medio del receptor plaquetario CD36. (Dix *et al.*, 2022).

Los trombos de plaquetas también pueden actuar como un andamio para la disociación de PCR que a su vez actúa para mejorar el crecimiento del trombo. Además, las microvesículas enriquecidas en lisofosfatidilcolina, y derivadas de plaquetas y monocitos activados, pueden unirse y desestabilizar pPCR para producir las isoformas de PCR proinflamatorias e inducir respuestas inflamatorias en las células endoteliales (Dix *et al.*, 2022).

### **Las Quimiocinas**

Las quimiocinas son impulsores moleculares de la inmunotrombosis y la tromboinflamación desde una perspectiva celular, donde las células endoteliales, las plaquetas, los glóbulos rojos y los leucocitos pueden ser tanto la fuente como el objetivo de las quimiocinas (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

Independientemente de la unión a sus receptores, las quimiocinas pueden inducir la trombosis formando complejos inmunes activadores de plaquetas con heparina u otros polianiones. Además, las quimiocinas pueden unirse a las NETs y alterar su estructura. También cambian la carga eléctrica de la superficie celular de las plaquetas e interactúan

con factores de la coagulación, modulando así el equilibrio de la fibrinólisis y la coagulación (Figura 2.7). CXCL12 activa CXCR4 en plaquetas independientemente de la actividad clásica de quimiocinas migratorias y causa agregación y trombosis a través de las vías de señalización PI3KB y BTK (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

Las interacciones típicas del receptor de quimiocinas - quimiocinas están involucradas en los procesos que contribuyen a la adhesividad del endotelio en la fase inicial de la trombosis venosa, donde los neutrófilos y los monocitos se acumulan posteriormente en números masivos. Más tarde, la reorganización y la resolución de un trombo requieren la migración celular coordinada reclutando leucocitos a trombos existentes (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

**Interacciones quimiocinas – endotelio.** Las quimiocinas se producen y se unen a las células endoteliales para afectar la acumulación de trombos y la resolución. Las quimiocinas inflamatorias son transportadas y presentadas por ACKR1 a la superficie luminal, o son liberadas y depositadas por plaquetas y leucocitos, o liberadas directamente por células endoteliales y también presentadas por GAG (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

CCL2 y CXCL8 contribuyen en la interacción con el factor tisular (FT) y la P-selectina a la acumulación protrombótica de monocitos y neutrófilos en el endotelio y se encuentran en etapas posteriores también involucradas en la resolución de trombos (Figura 2.7). CXCL1/CXCL2 y CCL2 activan CXCR1/CXCR2 y CCR2, respectivamente. Estas quimiocinas son importantes para la resolución del trombo al organizar la infiltración de monocitos en el trombo venoso, lo que da como resultado una reducción del tamaño del trombo y del contenido de colágeno (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

En condiciones de estado estacionario, las células endoteliales arteriales, venosas y capilares expresan la quimiocina transmembrana CX3CL1 que está regulada positivamente en la disfunción endotelial. Contribuye a la activación de las plaquetas a través de su receptor CX3CR1, mientras que la acumulación de plaquetas está mediada por un mecanismo dependiente del FvW-GPIb, independiente de su receptor CX3CR1 (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

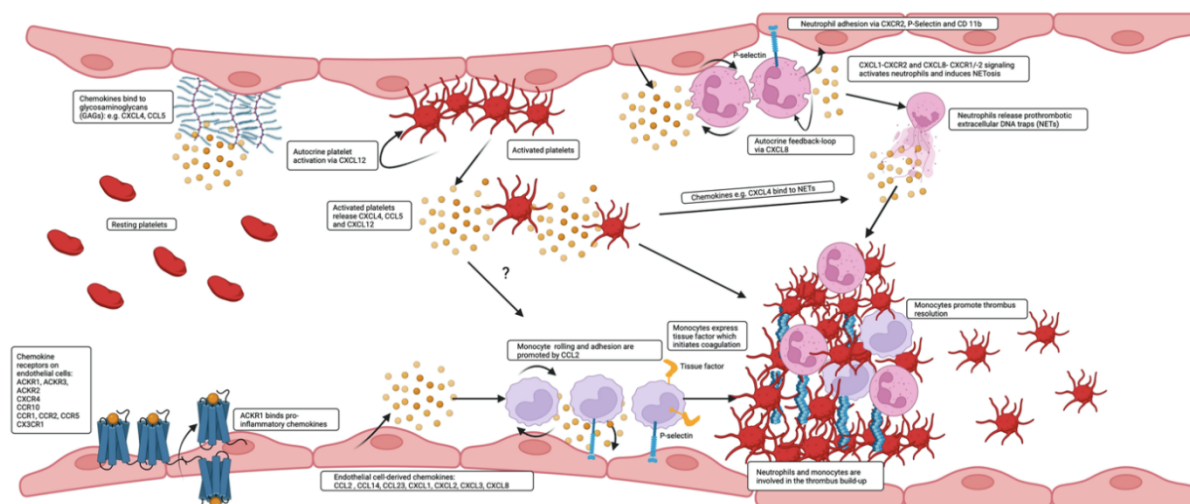
Las quimiocinas pueden liberarse de las células circulantes, incluidas las plaquetas, y depositarse en la superficie endotelial/glucocálix. CCL5 y CXCL4, que se liberan de las

plaquetas activadas o de sus micropartículas y se unen a las células endoteliales para posteriormente activar y reclutar leucocitos (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

**Interacciones quimiocinas – GAGs y PCa.** Los GAG son anticoagulantes altamente efectivos que se unen a proteínas antitrombóticas, incluida la antitrombina y el cofactor II de heparina induciendo cambios conformacionales que multiplican su efecto inhibitor. Este efecto anticoagulante puede revertirse por las quimiocinas, que se unen firmemente a la heparina. Por ejemplo, CXCL4, una quimiocina que se encuentra en alta abundancia en el plasma sanguíneo puede servir como un neutralizador efectivo de heparina (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

### Figura 2.7

*Rol de las quimiocinas en la formación y resolución de trombos.*



*Nota.* El endotelio presenta una gran variedad de quimiocinas. Las quimiocinas inflamatorias son transportadas y presentadas por ACKR1 a la superficie luminal o son liberadas y depositadas por plaquetas y leucocitos o liberadas directamente por células endoteliales y además presentadas por GAG. CCL2 y CXCL8 contribuyen en interacción con el factor tisular (FT) y la selectina P a la acumulación protrombótica de monocitos y neutrófilos en el endotelio y, en etapas posteriores, también participan en la resolución del trombo. **Fuente:** Tomado de Leberzammer & von Hundelshausen, 2023.

CXCL4 también se une a las proteínas del sistema de coagulación que son simultáneamente antiinflamatorios y fibrinolíticos, como la proteína C activada (PCa), lo que

puede provocar efectos opuestos. CXCL4 tiene dos efectos sobre la regulación PCa. Por un lado, CXCL4 mejora la generación de PCa dependiente de trombina/trombomodulina en la superficie endotelial e *in vitro* interactuando con el dominio GLA de la proteína C y con el sulfato de condroitina unido a la trombomodulina. Esto puede modularse por la presencia de histonas donde los niveles bajos de histonas y los altos niveles de CXCL4 mejoran la formación de PCa. Las histonas extracelulares activan las plaquetas e inducen la trombosis a través de un mecanismo dependiente del complemento (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

Contrariamente, CXCL4 también puede fomentar la coagulación de la sangre al impedir el efecto de la proteína S en la función anticoagulante de PCa a través de su interacción con el dominio GLA de PCa. Mejorar la generación de PCa mientras bloquea simultáneamente sus propiedades anticoagulantes tiene sentido si PCa tiene múltiples efectos funcionales. De hecho, a través de su dominio GLA, PCa/proteína C se une a EPCR y PAR-1 en las células endoteliales, lo que confiere efectos citoprotectores. Es posible que CXCL4 sirva como un antagonista natural, bloqueando el riesgo de sangrado inherente a PCa sin poner en peligro las funciones protectoras. Esto es importante en condiciones de inmunotrombosis/tromboinflamación, inducida por plaquetas activadas, cuando los neutrófilos expulsan NETs. En estas condiciones, las histonas y CXCL4 modulan aditivamente la tasa de formación de PCa. Al inhibir la EPCR de neutrófilos, PAR-3 y MAC-1, PCa disminuye la NETosis. En consecuencia, en situaciones que dan como resultado la activación de plaquetas, este mecanismo podría servir como un factor regulador crucial (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

**Activación del Factor X por variantes de CXCL7.** Las isoformas truncadas N-terminales B-TG y CTAP III pero no NAP-2 de la quimiocina CXCL7 se unen y activan el factor de coagulación X, sin pasar por alto el factor VIII y IX para soportar la generación de trombina inducida por la vía de contacto. Este efecto es específico para CXCL7 ya que CXCL4 no promueve la generación de trombina (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

**Complejos trombogénicos FvW/CXCL4.** Los multímeros del FvW que se forman después de una lesión endotelial se decoran con CXCL4. CXCL4 se une al dominio A2 del FvW, evitando así su degradación por ADAMTS13. Además, se han identificado complejos circulantes de FvW/CXCL4 en pacientes con púrpura trombocitopénica, lo que sugiere que

CXCL4 contribuye a la trombosis microvascular al inhibir ADAMTS13 (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

**Quimiocinas y plaquetas.** CXCL4 y CXCL7 son quimiocinas características de las plaquetas y son las quimiocinas circulantes más abundantes en la sangre. El modelo de carga propone que la distancia entre plaquetas varía dependiendo del grado de deposición superficial de CXCL4. En el caso de niveles altos o bajos de CXCL4, las plaquetas se cargan uniformemente positiva o negativa, lo que genera fuerzas repulsivas, mientras que un nivel de deposición moderado permitiría la atracción a través de cargas mixtas positivas y negativas (Leberzammer & von Hundelshausen, 2023).

### **CAPÍTULO III. PATOLOGÍAS MEDIADAS POR TROMBOINFLAMACIÓN EN ADULTOS Y NIÑOS**

La trombosis aparece como una manifestación clínica causada por mecanismos tromboinflamatorios en una gran diversidad de patologías con distintas etiologías inflamatorias: estériles (neoplásica, autoinmune, etc.) y no estériles (infecciosa), algunas de las cuales tienen mayor prevalencia en la etapa adulta y otros en la infancia. Un amplio espectro de trastornos humanos se asocia con complicaciones tromboinflamatorias, muchas de las cuales tienen disfunción microvascular.

En la respuesta tromboinflamatoria que se observa en diversas patologías, el nivel de generación de trombina  $\alpha$  es un determinante clave. Por ejemplo, enfermedades como la sepsis, la lesión por isquemia-reperfusión (IR) y el rechazo de trasplantes de órganos se asocian con una activación generalizada de la coagulación en toda la microcirculación, que se acompaña de una intensa respuesta trombótica e inflamatoria. En los extremos de este espectro, el trastorno trombótico microvascular como la púrpura trombocitopenia trombótica (PTT), exhibe una generación limitada de trombina  $\alpha$  y se asocia con una respuesta inflamatoria limitada en la fase temprana de la enfermedad. En el otro extremo del espectro, las enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico (LES), se consideran principalmente trastornos inflamatorios, con un papel limitado de la trombina  $\alpha$  (Figura 3.1) (Jackson *et al.*, 2019).

Si bien la inmunotrombosis es descrita como una serie de mecanismos que colaboran con la inmunidad innata principalmente a nivel de la microvasculatura, las patologías mediadas por tromboinflamación surgen tanto en los pequeños como en los grandes vasos sanguíneos (venas y arterias).

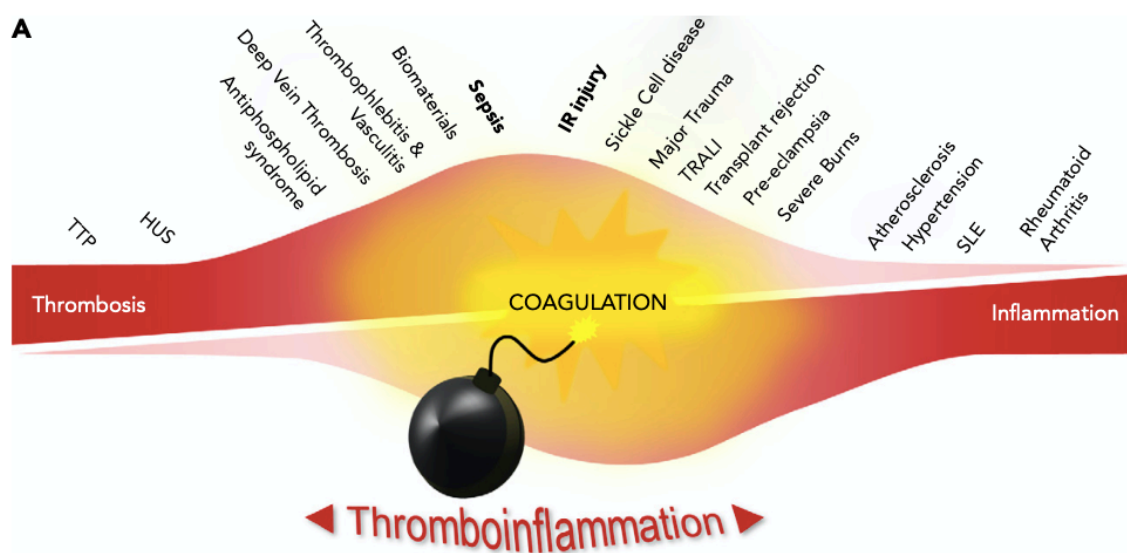
La lesión de tejidos u órganos por diversos mecanismos patogénicos se asocia comúnmente con respuestas tromboinflamatorias microvasculares. La obstrucción microvascular puede estar mediada por todos los elementos celulares de la sangre, incluidas las plaquetas, los neutrófilos y los glóbulos rojos, y la oclusión estable suele estar relacionada con la activación de la coagulación y la generación de fibrina (Jackson *et al.*, 2019).

Independientemente del daño primario a los tejidos u órganos (infección, isquemia o traumatismo), el resultado final de estos trastornos está fuertemente influenciado por el

alcance de las respuestas trombóticas e inflamatorias microvasculares (Jackson *et al.*, 2019).

### Figura 3.1

*Enfermedades humanas que presentan mecanismos tromboinflamatorios.*



*Nota.* Un amplio espectro de trastornos humanos se asocia con complicaciones tromboinflamatorias, muchas de las cuales tienen disfunción microvascular. **Fuente:** Tomado de Jackson *et al.*, 2019.

A continuación, se hace una revisión de las principales enfermedades descritas hasta la actualidad donde se describen mecanismos tromboinflamatorios, abordando inicialmente patologías que se presentan en la edad adulta y posteriormente describiendo los hallazgos descritos en la literatura en la población pediátrica.

### **TROMBOINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS CON INFLAMACIÓN NO ESTÉRIL (ENFERMEDADES INFECCIOSAS)**

La coagulopatía provocada por una infección aguda surge de la activación aberrante de múltiples mecanismos procoagulantes que se amplifican aún más por el daño endotelial inducido por la inflamación y la disminución de la actividad anticoagulante sistémica.

La sepsis se caracteriza por una producción excesiva de citoquinas en respuesta a la infección, lo que provoca disfunción de tejidos y órganos. Una característica destacada de la sepsis es la desregulación hemostásica, la trombocitopenia y la coagulación intravascular

diseminada (CID). La CID se asocia con un peor resultado y una mayor tasa de mortalidad (Klavina *et al.*, 2022). Durante la sepsis grave, se producen al mismo tiempo respuestas proinflamatorias y antiinflamatorias destinadas a eliminar el patógeno pero también a restringir la reacción inmune para evitar un daño excesivo (Martinod & Deppermann, 2021).

Las plaquetas tienen un papel protagónico en la fisiopatología de los pacientes sépticos. Se ha descrito que durante las primeras fases de la sepsis hay niveles elevados de agregados de plaquetas y neutrófilos, los cuales disminuyen significativamente con la progresión de la enfermedad. El aumento de agregados plaquetas – leucocitos (PLA) en pacientes sépticos se correlaciona inversamente con la supervivencia y los pacientes desarrollan insuficiencia orgánica múltiple probablemente debido a un aumento del secuestro. La asociación de los agregados de plaquetas y monocitos con la mortalidad depende de la edad de los pacientes, siendo mayor la mortalidad en los pacientes de mayor edad, pero no en los jóvenes (Sharma *et al.*, 2022).

Los pacientes con sepsis exhiben niveles elevados de sTLT-1, que se correlaciona fuertemente con la puntuación CID y niveles altos de dímero D. También, las plaquetas liberan vesículas extracelulares ricas en IL-1b, lo que mejora la activación de las CE y la propagación de la respuesta inflamatoria (Sharma *et al.*, 2022). El gen ITGA2B, que codifica la integrina  $\alpha_{IIb}$ , es una de las transcripciones con mayor regulación positiva durante la sepsis. Los niveles más altos de plaquetas ITGA2B se correlacionan con una mayor mortalidad tanto en ratones como en humanos (Martinod & Deppermann, 2021).

En modelos murinos de sepsis, la depleción de plaquetas y la trombocitopenia se asocian con una respuesta más grave a la enfermedad, lo que destaca el papel protector de las plaquetas en la sepsis. La transfusión temprana de plaquetas tiene un efecto protector. La transfusión de plaquetas reduce la trombocitopenia y disminuye los niveles plasmáticos de diversas citoquinas inflamatorias como la IL-6 y el TNF- $\alpha$  mejorando la supervivencia (Sharma *et al.*, 2022).

Otros de los múltiples mecanismos y hallazgos que se observan en la sepsis que conducen a un estado tromboinflamatorio que se han descrito son (Klavina *et al.*, 2022):

- a. Existe una regulación positiva aberrante de la expresión de FT en las células inmunes innatas circulantes y el endotelio tras la exposición a estímulos

proinflamatorios. Esto se ha considerado durante mucho tiempo un desencadenante importante de la CID.

- b. Hay una activación del endotelio por patógenos y citoquinas que contribuye a un entorno protrombótico. Varias citoquinas promueven la liberación de UL-FvW en la superficie de las células endoteliales.
- c. Los pacientes con sepsis tienen niveles más bajos de ADAMTS13 circulante y actividad de ADAMTS13, lo que contribuye al mantenimiento de las cadenas de FvW en el espacio intravascular.
- d. Las NETs formadas durante la sepsis contribuyen al daño orgánico generalizado y al desarrollo de CID.
- e. Muchas proteínas anticoagulantes plasmáticas endógenas y receptores celulares se agotan durante la sepsis, lo que lleva a una actividad de trombina y generación de fibrina desreguladas.
- f. Receptores anticoagulantes importantes, como la trombomodulina (TM) y el receptor endotelial de PC (EPCR), se escinden de la superficie de las células endoteliales en condiciones inflamatorias. Las formas solubles de ambos receptores están elevadas en el plasma de individuos con sepsis. El agotamiento de EPCR y TM de la superficie de las células endoteliales restringe la activación de la PC, desviando el equilibrio hemostático hacia la generación de trombina.

### ***Infecciones Virales (COVID-19)***

Para explicar cómo las infecciones virales producen tromboinflamación, se usa como modelo clínico la infección causada por el virus SARS-CoV-2 con base en los recientes hallazgos descritos tras la pandemia de COVID-19.

El COVID-19 es causado por el Síndrome Respiratorio Agudo Severo-Coronavirus-2 (SARS COV-2), un virus de ARN monocatenario de sentido positivo que exhibe proteínas de membrana, proteínas SPIKE, proteínas de nucleocapside y proteínas de envoltura. El virus utiliza el receptor celular de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) para la internalización, ayudado por una proteasa transmembrana, serina 2 (proteasa TMPRS2). ACE2, que media la internalización de SARS-COV2, se expresa altamente en numerosas células humanas, incluidas las células alveolares tipo II, las células endoteliales, las células

nasales, orales, esofágicas, ileales, las células de miocardio y las células túbulares renales. Cuando el SARS-CoV-2 ingresa a las células endoteliales, rápidamente causa lesión vascular directa y daña las células epiteliales de las vías respiratorias, el tejido más comúnmente lesionado debido a sus numerosos receptores ACE2, generando inflamación severa, aumento de la permeabilidad vascular y mala oxigenación pulmonar (Figura 3.2) (Georgescu & Simionescu, 2021).

Los hallazgos histopatológicos de los pulmones revelan la presencia de numerosos trombos de fibrina en vasos pequeños, es decir, capilares y depósitos de fibrina intra-alveolar (Georgescu & Simionescu, 2021). Inicialmente fue descrita la trombosis dentro de los vasos sanguíneos pequeños (microangiopatía trombótica rica en plaquetas) en los pulmones, sin embargo, luego se incluyeron también eventos macrovasculares (Sharma *et al.*, 2022).

El papel de SARS-CoV-2 en la estimulación de la tromboinflamación se da inicialmente cuando el virus infecta directamente las células endoteliales vasculares a través de ACE2 y conduce al daño celular y la apoptosis. También induce la disfunción endotelial al estimular la liberación de niveles elevados de quimiocinas y citocinas proinflamatorias. La disfunción endotelial en pacientes con COVID-19 grave se ha demostrado mediante niveles elevados en plasma de marcadores de activación y lesión de las células endoteliales, que incluyen FvW, P-selectina soluble y TM soluble. Esto conduce a la pérdida de propiedades antitrombóticas del endotelio normal y cambia el endotelio de antitrombótico a protrombótico (Ma & Willey, 2022).

Los niveles de expresión de FT pulmonar en pacientes con Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA) asociada a COVID-19 son significativamente más altos que en pacientes con neumonía o SDRA asociado a sepsis bacteriana. La expresión de FT en los pulmones de los pacientes con COVID-19 también se asocia con trombos ricos en fibrina y factor plaquetario 4 (Ma & Willey, 2022). En los macrófagos derivados de monocitos humanos el virus aumenta notablemente la actividad procoagulante de FT en la superficie celular y la liberación de microvesículas que contienen FT (Ma & Willey, 2022).

La infección por SARS-CoV-2 inicia la producción de citocinas proinflamatorias, que a su vez inducen la expresión de FT en las células mononucleares y las células endoteliales, produciendo así la generación de trombina y la coagulación. Simultáneamente, los factores de coagulación FT-FVIIa y la trombina se unen a PARS en plaquetas y células endoteliales, lo que lleva a la activación/agregación de plaquetas que amplifican aún más la liberación

de citocinas inflamatorias. Estos procesos forman un potente bucle positivo que contribuye a la inflamación y la trombosis no controladas en COVID-19, lo que respalda la lógica de la terapia anti inflamación y anticoagulación en casos graves de COVID-19 (Ma & Willey, 2022).

Consistentemente, la infección SARS-CoV-2 también está implicada con la regulación negativa de anticoagulantes endógenos, incluidos TM endotelial, EPCR y ATIII. Se ha observado que los niveles reducidos de ATIII en pacientes con COVID-19 se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. Entre los pacientes hospitalizados de COVID-19, que posteriormente fallecieron, especialmente los individuos obesos, mostraron niveles más bajos de ATIII en comparación con los supervivientes. Se ha encontrado que una forma soluble de EPCR (sEPCR) de células endoteliales, que existe en condiciones normales en plasma, se eleva en condiciones inflamatorias. sEPCR se une a PC y PCa con igual afinidad. Su unión a PCa inhibe la actividad anticoagulante de este último, mientras que su unión a la PC impide la activación de PC por complejos de trombina/TM. Por lo tanto, el desprendimiento de EPCR de las células endoteliales en respuesta a la inflamación convierte la EPCR unida a la membrana anticoagulante a sEPCR procoagulante. Un aumento en la sEPCR en plasma se asocia con un aumento de la mortalidad en el choque séptico mediado por neumonía neumocócica, así como la gravedad de la enfermedad en pacientes con COVID-19 (Ma & Willey, 2022).

La disfunción plaquetaria observada en pacientes con COVID-19 se relaciona con hiperreactividad plaquetaria, destrucción plaquetaria y formación de complejos inmunes plaquetarios en pacientes (Sharma *et al.*, 2022). Los pacientes con COVID-19 grave a menudo presentan trombocitopenia, a pesar de tener una mayor generación de megacariocitos y formación de proplaquetas (Klavina *et al.*, 2022).

Las plaquetas en pacientes con COVID-19 pueden activarse a través de múltiples mecanismos que involucran la reacción inflamatoria sistémica, el endotelio disfuncional y la liberación endotelial de FvW, la trombina generada a partir de la activación de la coagulación y los efectos directos del SARS-CoV-2 sobre las plaquetas. La agregación plaquetaria es una característica distintiva de la trombosis asociada a la COVID-19. El FvW, liberado en respuesta a una lesión vascular, desempeña un papel crucial en la mediación de la adhesión de las plaquetas al colágeno extracelular. Se ha observado un aumento en los niveles plasmáticos de FvW en pacientes con COVID-19 y se asocia con la gravedad de la

enfermedad. También se observan altas concentraciones de FvW en la mayoría de los tejidos de autopsia de pacientes con COVID-19, incluidos los pulmones, el corazón y los riñones (Ma & Willey, 2022).

In vitro, el SARS-CoV-2 puede ser internalizado por las plaquetas de forma tanto dependiente como independiente de ACE2. Esta internalización conduce a la muerte celular programada de las plaquetas y a la liberación de contenidos intracelulares protrombóticos, así como a la generación de microvesículas. Además, las citoquinas inflamatorias, como IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , pueden hiperactivar las plaquetas, lo que provoca una pronunciada adhesión, cambios morfológicos y agregación. Tras la activación, las plaquetas también liberan muchos mediadores inflamatorios, como IL-1 $\beta$ , PF4, y expresan las moléculas de superficie P-selectina y CD40L, lo que facilita sus interacciones con las células endoteliales y los leucocitos. Consistentemente, se han observado niveles significativamente más altos de P-selectina soluble en plasma y CD40L, marcadores de activación plaquetaria, en pacientes críticamente enfermos con COVID-19 en comparación con sujetos no críticos (Ma & Willey, 2022).

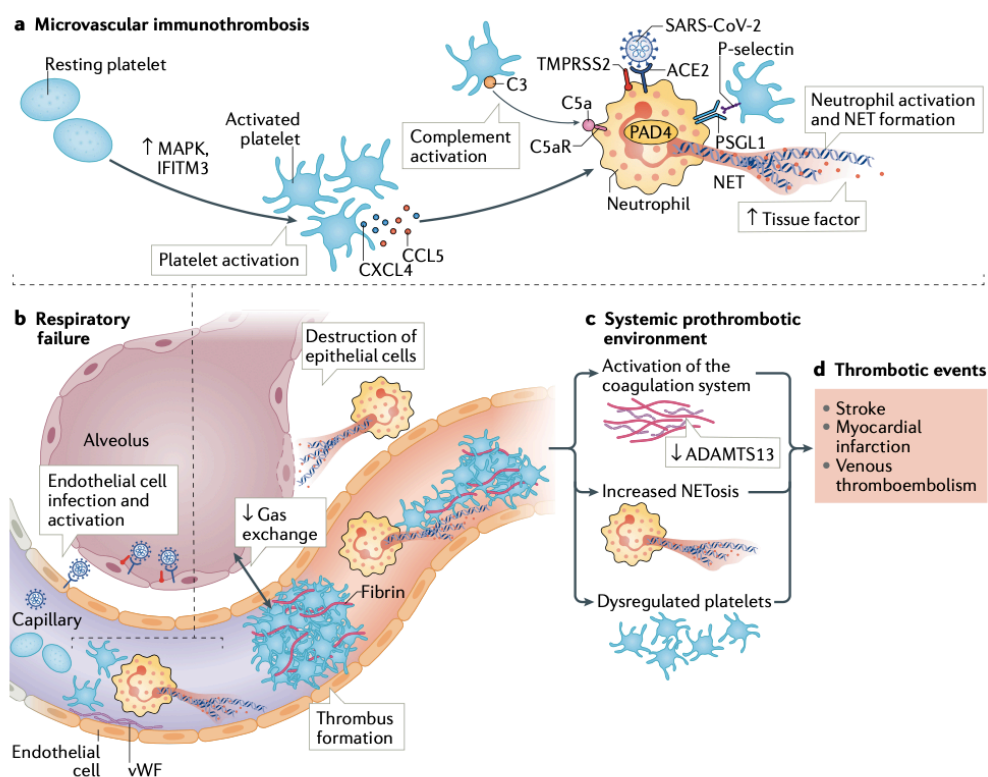
Los agregados circulantes de plaquetas-neutrófilos, plaquetas-monocitos y plaquetas-células T son significativamente mayores en pacientes con COVID-19 en comparación con controles sanos. Además, la interacción plaquetas-monocitos está fuertemente asociada con la regulación positiva de la expresión del FT de los monocitos, la elevación de los marcadores de coagulopatía y la gravedad de la enfermedad. El inflamósoma monocítico NLRP3, provoca piroptosis y liberación de citoquinas proinflamatorias, como IL-1b e IL-18, y lactato deshidrogenasa (LDH). También las plaquetas se muestran más sensibilizados a liberar citoquinas proinflamatorias y expresar niveles más altos de moléculas de adhesión que se ha demostrado que facilitan las interacciones leucocitos-plaquetas-células endoteliales, lo que conduce a un reclutamiento adicional de células inflamatorias, liberación de citoquinas, formación de NETs y disfunción de las células endoteliales (Ma & Willey, 2022).

Las autopsias de muestras de pulmón en pacientes que sucumbieron a COVID-19 han confirmado la presencia de microtrombos que contienen NETs con infiltración de neutrófilos y plaquetas. En comparación con los controles, los pacientes con trombosis asociada a COVID-19 tenían niveles sanguíneos significativamente más altos de marcadores NET (ADN libre de células, complejos MPO - ADN, histona H3 citrulinada) y activación de

neutrófilos (calprotectina). Además, los niveles de marcadores NET se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. La incubación de neutrófilos, aislados de adultos sanos, con plasma de pacientes con COVID-19 induce una formación robusta de NETs, mientras que el plasma de adultos sanos no (Ma & Willey, 2022). Los pacientes con COVID-19 con neutrofilia tienen un peor pronóstico (Martinod & Deppermann, 2021).

### Figura 3.2

*Insuficiencia respiratoria y coagulopatía sistémica en COVID-19.*



*Nota.* La tromboinflamación que se produce en el pulmón inducida por la infección por el coronavirus 2 (SARS-CoV-2) desencadena eventos trombóticos en todo el cuerpo. **Fuente:** Tomado de Stark & Massberg, 2021.

La activación del complemento está estrechamente regulada y la sobreactivación del sistema provoca hiperinflamación. Los pacientes con COVID-19 grave tienen niveles elevados de C5a circulante y C5b-9 soluble que se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. El sistema del complemento contribuye al reclutamiento de neutrófilos y algunas de sus proteínas (C3a y C5a), regulan positivamente la actividad del FT, activando

aún más neutrófilos, que liberan IL-8 (De Nardi *et al.*, 2023). El propio SARS-CoV-2 es capaz de activar directamente el sistema del complemento a través de las tres vías: la lectina, la clásica y la alternativa (Ma & Willey, 2022).

Un estado inmunotrombótico persistente en pacientes con COVID-19 puede contribuir al síndrome posviral o "COVID prolongado", una característica común en los pacientes con COVID-19 caracterizada por fatiga y síntomas de enfermedades crónicas que pueden durar semanas y meses después de la infección. La causa subyacente de esta fatiga no está clara, pero puede surgir en parte debido al daño al endotelio resultante de la hipoxia crónica y la inflamación. Individuos con "COVID prolongado" exhiben una endotelopatía persistente caracterizada por proteólisis desregulada por el FvW, disfunción endotelial y la persistencia de monocitos activados y poblaciones de células T (Klavina *et al.*, 2022).

### ***Infecciones Bacterianas***

Durante la infección, las bacterias desencadenan la activación de plaquetas a través de PF4 y TLR y pueden iniciar la NETosis en los neutrófilos. El ADN cargado negativamente, decorado con histonas, mieloperoxidasa (MPO) y elastasa de neutrófilos (NE), es un potente inductor de autoactivación del FXII, así como los polifosfatos liberados por bacterias. Ambos son activadores de "contacto", es decir, una superficie cargada negativamente capaz de vincular e inducir un cambio conformacional en FXII para que se active automáticamente FXIIa en presencia de  $Zn^{+2}$ . Luego, FXIIa convierte la precalicreína (PK) en calicreína que permite una hetero-activación recíproca de FXII, lo que lleva a una gran cantidad de FXIIa y a partir de entonces la activación de FXI unida a GPIIb plaquetas. Una gran cantidad del FXIIa generado puede convertir FXI unido a plaquetas en FXIa, involucrado en la generación de trombina y la generación de fibrina. La elastasa de neutrófilos (NE) liberada con las NETs también puede mejorar la adhesión, la activación de las plaquetas y la coagulación con la inhibición TFPI y trombosmodulina. Además, los polifosfatos mejoran la activación de FXI unido a plaquetas por FXIIa y puede incorporarse en la red de fibrina, lo que refuerza su estructura. Por otro lado, el sistema de calicreína/quininógeno también se activa. El FXIIa y la calicreína convierten el quininógeno de alto peso molecular (HK) en bradiquinina biológicamente activa (BK). La BK no está involucrada en la generación de trombina, sino principalmente en la respuesta inflamatoria a través de dos receptores acoplados a proteínas G (B1R y B2R). La BK da como resultado una mayor permeabilidad vascular, vasodilatación (mediada por PGI<sub>2</sub> y óxido nítrico

después de la inducción de iNOS), la formación de edema y, en última instancia, la hipotensión (Delabranche *et al.*, 2017).

Está bien reconocido un vínculo entre las plaquetas y la sepsis. La adhesión de las bacterias a las plaquetas puede estar mediada por receptores de adhesión plaquetaria (GPIIb y  $\alpha$ IIb $\beta$ 3) con o sin sus ligandos afines, a menudo se necesita Fc $\gamma$ RIIA para la activación plaquetaria inducida por bacterias, dependiendo de la cepa bacteriana y de la presencia o ausencia de anticuerpos IgG contra la bacteria. Las plaquetas tienen una actividad bactericida innata, que se atribuye parcialmente al reconocimiento por Fc $\gamma$ RIIA de las bacterias opsonizadas y su activación de las plaquetas (Patel *et al.*, 2021).

Uno de los componentes principales de la acción efectora de las plaquetas en la sepsis es mediante el apoyo y la activación de NETs en los neutrófilos, activándolos a través de múltiples vías. Las plaquetas, a su vez, son activadas por componentes de las NETs y por anticuerpos contra complejos PF4/aniónicos (a través de Fc $\gamma$ RIIA), entre otros componentes. Estas plaquetas son muy proagregantes, secretoras, inflamatorias y procoagulantes (Patel *et al.*, 2021).

Además, estudios recientes han proporcionado una base mecánica para la liberación de FT de la superficie celular en la sangre durante la infección bacteriana, destacando el papel crucial de la formación de inflamosomas no canónicos en la modulación de la liberación de micropartículas ricas en FT de las células mieloides activadas (Klavina *et al.*, 2022).

### ***Infecciones Parasitarias***

La desregulación de la coagulación se observa comúnmente entre los pacientes con malaria y representa una complicación a menudo fatal de la enfermedad. Ensayos clínicos en pacientes infectados con *Plasmodium falciparum* han demostrado un estado de hipercoagulabilidad. Los estudios de pacientes y animales infectados con malaria respaldan el papel del aumento de la activación de las células endoteliales y la secreción de UL-FvW en el secuestro de glóbulos rojos infectados en la microvasculatura para promover la oclusión vascular cerebral. (Klavina *et al.*, 2022).

Se ha descrito el vínculo entre las plaquetas y la malaria, aunque las plaquetas también se han relacionado con los esquistosomas y los tripanosomas. La trombocitopenia es una manifestación común de la infección parasitaria, así como la manifestación de trombosis. El hallazgo de que los pacientes con malaria tienen IgG asociadas a las plaquetas,

marcadores de activación plaquetaria, y que los pacientes tienen secuestro de plaquetas en la microvasculatura, sugiere que en las plaquetas, FcγRIIA tiene un papel no caracterizado en la patogénesis de la infección por malaria (Patel *et al.*, 2021).

### ***Infecciones Fúngicas***

El vínculo entre las plaquetas y la infección por hongos se ha establecido cuando los hongos se unen a las plaquetas y las activan. La trombosis es un sello distintivo de algunas infecciones por hongos fatales. Como ocurre con otros microorganismos, las plaquetas muestran actividad antimicótica tras su activación. Si bien los hongos pueden activar las plaquetas, el mecanismo preciso puede diferir según la especie. Mientras que *Mucor circinelloides* y los componentes de la pared celular de la levadura inducen la activación plaquetaria a través del FcγRIIA plaquetario, otras especies pueden activar las plaquetas independientemente del FcγRIIA. La trombosis es un hallazgo en el 11% de los casos de mucormicosis (Patel *et al.*, 2021).

## **TROMBOINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS CON INFLAMACIÓN ESTÉRIL**

### ***Aterosclerosis***

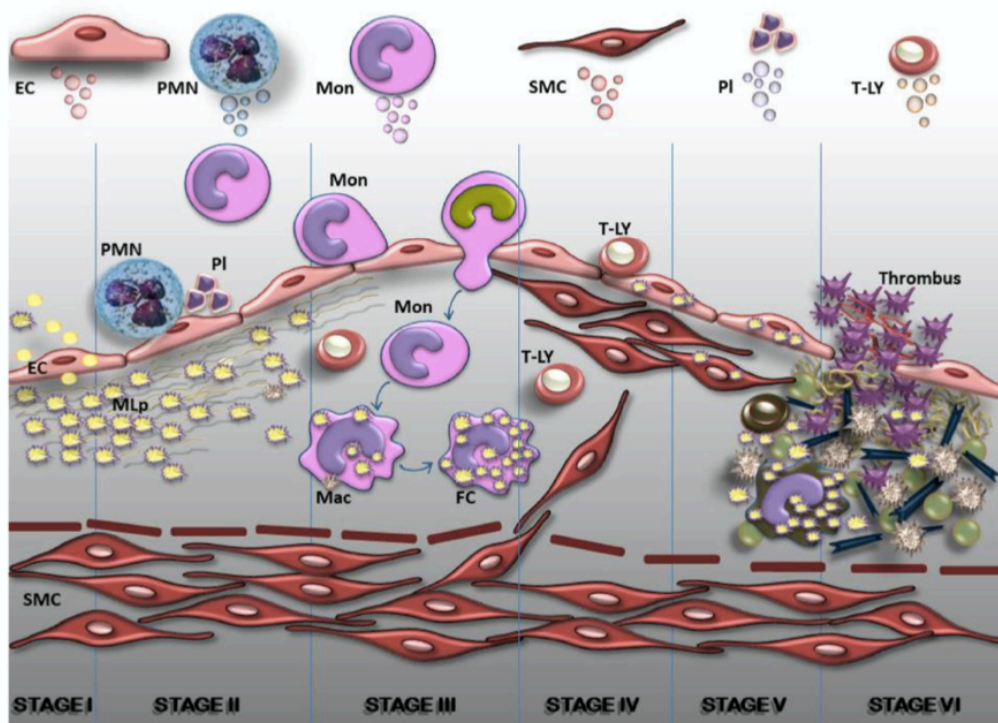
La enfermedad arterial coronaria y especialmente los síndromes coronarios agudos, se caracterizan por una importante carga inflamatoria estéril. La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria de las arterias impulsada por la deposición de lípidos. En pacientes con aterosclerosis la respuesta inflamatoria e inmune conducen a la disfunción endotelial y los lípidos oxidados son el origen de la formación de placas ateroscleróticas. Hay una acumulación de plaquetas y leucocitos en el sitio de la aterosclerosis, lo que promueve el crecimiento y la progresión de la placa (Sharma *et al.*, 2022).

Aunque continuo, el proceso aterogénico se puede dividir arbitrariamente en seis etapas principales: (1) Activación de células endoteliales (CE) debido a la acumulación en plasma de lipoproteínas de baja densidad modificadas oxidativamente (MLp) que inducen cambios en la función constitutiva de las CE (es decir, transcitosis y acumulación subendotelial de MLp), (2) Disfunción de las CE manifestada por la expresión de nuevas moléculas de adhesión celular, (3) Inflamación robusta, es decir, reclutamiento de las células inmunes circulantes, (4) Migración de células del músculo liso (SMC) de la capa media a la íntima, formando la placa fibrosa, (5) El desarrollo de la placa fibro-lípido calcificada hecha de

células inmunes y residentes apoptóticas, y deposición de calcio, (6) La placa fibro-lípido calcificada se vuelve inestable, generando ruptura, exposición de la matriz extracelular vascular, adherencia de las plaquetas y formación de trombo (Figura 3.3) (Georgescu & Simionescu, 2021).

### Figura 3.3

*Desarrollo de la placa aterosclerótica y formación del trombo.*



*Nota.* Al principio del proceso de aterogénesis, desde el engrosamiento de la capa íntima hasta las etapas finales donde se tiene un núcleo necrótico del fibroateroma, lesiones fibrocalcificadas y las placas vulnerables, la inflamación y la inmunidad innata están involucradas. **Fuente:** Tomado de Georgescu & Simionescu, 2021.

El evento más temprano que ocurre al inicio de la aterosclerosis es el aumento de la concentración, transporte y deposición en plasma dentro del espacio subendotelial de las lipoproteínas de baja densidad bioquímicamente modificadas y oxidadas. Este cambio en el microambiente induce la activación de las CE que modifica su función constitutiva, por ejemplo, el aumento de la permeabilidad. Tras la transcitosis a través del endotelio, el MLp acumulado dentro del subendotelio interactúa con la matriz extracelular, y posiblemente

como un mecanismo de seguridad, se desarrolla una lámina basal hipertrófica. En este punto, la CE está expuesta en la superficie apical y basal a la MLp oxidada agresiva. Esto conduce a la disfunción de la CE, manifestada por una reacción de defensa, es decir, la expresión superficial de las moléculas de adhesión, incluidos ICAM-1, VCAM-1, E-Selectina, P-Selectina y otros. Estos cambios son el comienzo de una reacción inflamatoria robusta. Los neutrófilos circulantes se adhieren a la superficie de la CE, interactúan con las plaquetas plasmáticas y desencadenan el reclutamiento de monocitos y linfocitos. Ambas, células del musculo liso y CE secretan citoquinas quimioatrayentes como el MCP-1 y M-CSF proporcionando un medio para la adhesión de monocitos y linfocitos T al endotelio y su posterior diapédesis en la íntima de la pared del vaso (Georgescu & Simionescu, 2021).

En la íntima, los monocitos migrados se diferencian en macrófagos activados que expresan receptores scavengers, que abordan la MLp oxidada, se sobrecargan con lípidos y se convierten en células espumosas derivadas de macrófagos. Además de los macrófagos derivados de monocitos, las células inmunes, incluidas las células dendríticas, los mastocitos, las células T y las células B, también se infiltran en la íntima y la adventicia de la placa aterosclerótica (Georgescu & Simionescu, 2021).

Las células espumosas secretan citoquinas (PDGF, IL-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ ) que estimulan la proliferación de SMC y la migración a la forma de la capa fibrosa. Las SMC sintetizan abundantes proteínas de la matriz extracelular, en particular, colágeno y fibronectina, que contribuyen a fortalecer la capa fibrosa. Con el tiempo, la placa aterosclerótica, formada por células espumosas derivadas de macrófagos, lípidos, centros de calcificación y restos celulares, se vuelve vulnerable. Los macrófagos y los linfocitos T que se localizan preferentemente en los bordes de la placa secretan metaloproteinasas de la matriz (MMP) que degradan las proteínas de la matriz extracelular e inhiben la proliferación de SMC y la síntesis de colágeno, que debilita la capa fibrosa (Georgescu & Simionescu, 2021).

Esto eventualmente conduce a la desestabilización de la capa de células endoteliales (CE) subyacente, lo que resulta en inestabilidad/ruptura de la placa y exposición de la matriz extracelular (MEC) y factores procoagulantes, incluido el FT. La exposición intravascular de FT conduce a la activación de la coagulación y la generación de trombina. Las plaquetas responden a la exposición de la MEC y a la generación de trombina. Estas se unen a las

CE activadas, a los leucocitos e inician la transformación de los monocitos en macrófagos. Las plaquetas promueven la formación de células espumosas e internalizan los fosfolípidos oxidados. También reclutan células progenitoras que, según las condiciones, pueden diferenciarse en células espumosas o CE en el sitio de la lesión. Por tanto, las plaquetas no sólo promueven la progresión, sino que también regulan el inicio y el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas. Las plaquetas se reclutan mediante la interacción GPVI-laminina, en la placa intacta, promoviendo la ateroprogresión. La ruptura de la placa en el sitio de las lesiones fisuradas desencadena el reclutamiento de plaquetas mediante la interacción GPVI-colágeno (Sharma *et al.*, 2022).

Recientemente, se ha descrito el inflammasoma de las plaquetas, donde la expresión de sus componentes (NLRP3), finalmente conduce a altos niveles de IL-1 $\beta$ . Entre los desencadenantes de la activación del inflammasoma se encuentran estados hipóxicos, bajo cizallamiento oscilatorio y la interacción de los cristales de colesterol con monocitos y neutrófilos. La señalización a través de un receptor de reconocimiento de patrones o un receptor de citoquinas inicialmente conduce a la regulación positiva de NLRP3 y pro-IL-1 $\beta$  a través de la señalización de NF- $\kappa$ B, con un estímulo adicional necesario para la inducción del ensamblaje de inflammasoma. Como resultado, el endotelio expuesto a IL-1 $\beta$  promueve el reclutamiento y la adhesión de leucocitos a través de la liberación de citoquinas, quimiocinas y moléculas de adhesión. La liberación de IL-1 $\beta$  ayuda a la producción de IL-6, que actúa sobre la función metabólica de los hepatocitos, guiando a la producción de fibrinógeno y PAI-1, entre otros factores procoagulantes mientras regula de forma negativa la producción de antitrombina, estableciendo así un estado hipofibrinolítico (Oikonomou *et al.*, 2020).

También se ha descrito un papel protrombótico de la PCR, ya que se asocia con la regulación positiva de FT, los niveles disminuidos de las prostaglandinas (PGI2) y la óxido nítrico sintasa endotelial, y el deterioro del equilibrio de la coagulación, tal como se expresa por la relación de Tromboxano A2/ PGI2. La interrupción de este equilibrio en el contexto de la disfunción endotelial, inducida por la isquemia miocárdica entre otras etiologías, también es crucial en la agregación plaquetaria y su posterior activación. Se ha encontrado que la cantidad de ARNm de la PCR en las placas ateromatosas es excesivamente mayor en comparación con las regiones no ateroscleróticas, lo que implica una asociación de este

reactivo de fase aguda con el desarrollo de tromboinflamación. No se ha demostrado el papel causal de la PCR en la aterosclerosis (Oikonomou *et al.*, 2020).

La liberación de citoquinas en el contexto de la isquemia desencadena la activación de las células endoteliales y la secreción de altos niveles de FvW de los cuerpos de Weibel Palade. Además, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) antagonizan la secreción de FvW a través de un aumento en la producción de óxido nítrico. Sus niveles, sin embargo, son más bajos en las circunstancias inflamatorias, favoreciendo el fondo ya protrombótico. Además, HDL puede prevenir la autoasociación de FvW y atenuar la formación de cadenas de FvW, lo que limita la adhesión de plaquetas. Además, la modificación de HDL en condiciones inflamatorias crónicas, conduce a las moléculas de HDL deficientes en apolipoproteína A-I, que es responsable del antagonismo de la autoasociación de FvW. En cuanto a la lipoproteína de baja densidad (LDL), sus niveles crecientes en los estados inflamatorios se han asociado con la potenciación de la autoasociación de FvW, lo que mejora la trombosis. La inflamación puede intensificar aún más la trombosis al bloquear la escisión de FvW por ADAMTS13 debido al aumento de los niveles de IL-6 o la oxidación de FvW, lo que lo hace no escindible y, por lo tanto, lo que lleva a la adhesión de las plaquetas. En general, varias proteínas de coagulación (fibrinógeno, factor VIII, proteínas S) están elevadas durante la inflamación, mediadas por las acciones de las citoquinas, que finalmente contribuyen al estado protrombótico (Oikonomou *et al.*, 2020).

El análisis histológico de trombos de animales y humanos muestra fibrina, NETs y FvW entrelazados y localizados en la matriz sólida de los trombos. El FvW ejerce múltiples efectos estabilizadores del trombo formando un puente entre la pared del vaso y las NETs, mientras que las histonas liberadas con las NETs promueven la liberación del FvW de las CE y la activación plaquetaria. Existe una interacción directa entre el FvW y las NETs, Tanto el ADN como las histonas se unen al VWF, reteniendo así las NET en el sitio de la inflamación (Wagner & Heger, 2022).

Se ha demostrado que la histona H4 en las NETs causa la muerte de las células del músculo liso de la íntima, acelerando la desestabilización de la placa aterosclerótica. Esto podría proporcionar la respuesta sobre cómo las infecciones agudas, que resultan en una NETosis excesiva, aumentan el riesgo de una enfermedad cardiovascular preexistente (Wagner & Heger, 2022).

### ***Accidente Cerebro Vascular (ACV)***

Los accidentes cerebrovasculares isquémicos pueden ser causados por la ruptura de la placa aterosclerótica o por la formación de coágulos de sangre en el corazón (por ejemplo, durante la fibrilación auricular), ambos eventos en los que las plaquetas están involucradas de manera crítica. Múltiples experimentos respaldan el papel importante de las células T en la inflamación y la trombosis en modelos de accidente cerebrovascular experimental con oclusión transitoria de la arteria cerebral media (Martinod & Deppermann, 2021).

La interacción heterotípica entre las plaquetas y las células inmunes impulsa la progresión del accidente cerebrovascular aguas abajo del trombo oclusivo original. Mecánicamente, la hipoxia inducida por el trombo oclusivo iniciará la liberación del FvW endotelial, que al exponerse a la sangre capturará plaquetas a través de su receptor, la GPIb. Posteriormente, las plaquetas se activan fuertemente por señalización a través de su receptor de colágeno, la GPVI, en combinación con la trombina generada localmente. Esto induce un fenotipo de plaquetas procoagulante, que genera subsecuentemente fibrina y recluta neutrófilos a través de una gran cantidad de receptores presentes en la superficie de plaquetas activadas. Una vez reclutados, los neutrófilos se activan mediante patrones moleculares asociados al daño de plaquetas como HMGB1, induciendo la formación de NETs, las cuales son protrombóticas y neurotóxicas cuando se forman en el cerebro (Denorme *et al.*, 2023).

Además de su colaboración con las células inmunes innatas, se ha visto que las plaquetas también interactúan con otras células inmunes como los linfocitos. El CD40L expresado en la superficie de las plaquetas les permite interactuar con el CD40 de las células T. Recientemente se demostró que las células T exacerbaban el accidente cerebrovascular isquémico de una manera dependiente de las plaquetas, independiente del reconocimiento del antígeno de las células T. Durante el accidente cerebrovascular las células Treg interactúan con las plaquetas para alterar la reperusión tisular (Martinod & Deppermann, 2021).

Un estudio en ratones confirmó que el FvW derivado de plaquetas contribuye de manera importante a la tromboinflamación después de un accidente cerebrovascular a través de un proceso dependiente de GPIb, mientras que el bloqueo de la integrina plaquetaria  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  no reduce el tamaño del infarto y, por el contrario, aumenta la incidencia de hemorragia intracerebral y muerte. Otro actor importante en la tromboinflamación después de la

isquemia es el receptor GPVI de las plaquetas, pues su bloqueo a través de un anticuerpo específico condujo a una reducción significativa del tamaño del infarto después un accidente cerebro vascular. El agotamiento del GPVI no provoca un aumento de las complicaciones hemorrágicas, convirtiéndolo en un objetivo atractivo para el tratamiento del accidente cerebrovascular (Martinod & Deppermann, 2021).

Se ha descrito que los marcadores de NETs (ADN libre de células, nucleosomas y citH3) están significativamente aumentados en el plasma de pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo en comparación con sujetos sanos. Además, Laridan *et al.* demostraron que los neutrófilos y las NET están presentes en abundancia en los trombos cerebrales, lo que respalda su importancia en pacientes con accidentes cerebrovasculares isquémicos (Laridan *et al.*, 2017).

En resumen, los estudios clínicos han encontrado fuertes asociaciones con varios componentes de la vía de la inmunotrombosis y los resultados del accidente cerebrovascular isquémico. Los pacientes que experimentan un accidente cerebrovascular isquémico y tienen niveles desregulados del FvW o una mayor expresión de GPVI en la superficie plaquetaria tienen más probabilidades de sufrir un accidente cerebrovascular o tener peores resultados después del accidente cerebrovascular. Además, los niveles elevados de biomarcadores NETs o una capacidad reducida para degradar las NETs también se asocian con peores resultados en el accidente cerebrovascular isquémico (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

### ***Tromboembolismo Venoso (TEV)***

El FvW por su interacción con GPIIb/3, es crucial para la acumulación de plaquetas a lo largo del endotelio activado. La hipoxia local, como la que ocurre en el TEV por estasis, puede desencadenar la liberación de cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales. La hipoxia sistémica es un factor de riesgo conocido de TEV. La combinación de plaquetas activadas junto con una mayor activación de leucocitos y células endoteliales en el medio hipóxico proporciona condiciones óptimas para el desarrollo de trombos (Martinod & Deppermann, 2021).

A diferencia de la trombosis arterial, donde las interacciones plaquetarias homotípicas son los primeros pasos cruciales en la iniciación del trombo, en la trombosis venosa las plaquetas probablemente desempeñan su papel principal al interactuar con los leucocitos.

Las interacciones plaquetas-neutrófilos contribuyen a la formación de NETs en la trombosis venosa, tanto por interacción directa como por liberación de HMGB1 por las plaquetas. La forma redox de HMGB1 parece influir en su capacidad para inducir trombosis. Específicamente, el disulfuro HMGB1 facilita la NETosis al unirse al receptor RAGE de los neutrófilos (Figura 3.4). Además, la existencia de un circuito de retroalimentación positiva entre las plaquetas y la HMGB1 derivada de plaquetas, liberada de forma autocrina, puede dar lugar a un reclutamiento adicional de plaquetas en las paredes de los vasos. También se ha demostrado que la interacción entre CLEC2 plaquetario y podoplanina endotelial contribuye y aún está por verse si esto afecta la formación de NETs (Martinod & Deppermann, 2021).

Las plaquetas se reclutan como pequeños agregados o como células individuales y se unen a la vasculatura formando agregados plaquetas-leucocitos (PLA) heterotípicos mediante su receptor GPIIb. Los monocitos ayudan a la progresión de la TVP predominantemente expresando FT que desencadena la vía de coagulación extrínseca. Los neutrófilos, por otro lado, ayudan a la formación de trombos al interactuar con las plaquetas y liberar NETs (Sharma *et al.*, 2022).

Existe una fuerte conexión entre la formación de NETs y la TVP. Los trombos venosos profundos murinos de un modelo de estenosis venosa contienen NETs en la parte rica en glóbulos rojos del trombo, junto con el FvW, pero no en la parte blanca rica en plaquetas. Las zonas ricas en eritrocitos y plaquetas, denominadas líneas de Zahn, se consideran características distintivas de los trombos venosos tempranos. La distribución de plaquetas, neutrófilos y NETs dentro del trombo sugiere un reclutamiento y activación de neutrófilos mediados por plaquetas seguido de NETosis y reclutamiento de glóbulos rojos, enredados en las NETs. Los neutrófilos en el trombo se unen al FXII y la formación de NETs inducida/apoyada por plaquetas conduce a la activación del FXII, propagando la coagulación. Por lo tanto, la formación de NETs en la TVP puede no ser el desencadenante inicial de la formación de trombos, pero definitivamente promueve la trombosis, y las plaquetas reclutan y activan los neutrófilos para la NETosis (Martinod & Deppermann, 2021).

Un estudio de trombos venosos humanos procedentes de TVP y embolia pulmonar mostró una abundancia de NETs en la etapa de organización de la formación de trombos, que se caracteriza por la infiltración de células inmunitarias en el coágulo en formación. Las NETs



Los estudios recientes que abarcan modelos murinos *in vivo* de TVP muestran que la activación del complemento también regula el desarrollo de TVP y que los componentes del complemento desempeñan un papel distinto en la formación de trombos. La activación de C3 da como resultado el depósito de plaquetas y fibrina, mientras que la activación de C5 da como resultado una mayor expresión de FT en los monocitos (Sharma *et al.*, 2022).

En conclusión, el impulsor inicial de la trombosis venosa es la activación del sistema de coagulación, con una contribución significativa de las plaquetas que interactúan con el sistema inmunológico innato. Estos contribuyen directamente, tanto sistémicamente (en circulación) como localmente (vasculatura venosa), al inicio y progresión de la TVP y la respuesta tromboinflamatoria asociada.

### **TROMBOINFLAMACIÓN EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES**

El aumento del riesgo de tromboembolismo venoso (TEV) es característico de muchas enfermedades autoinmunes. El TEV a menudo representa una complicación mortal de la enfermedad (Klavina *et al.*, 2022).

Una gran cantidad de enfermedades autoinmunes que cursan con trombosis han sido descritas con mecanismos tromboinflamatorios en su fisiopatología (Scherlinger *et al.*, 2023). Algunas de ellas son:

- a. Lupus eritematoso sistémico.
- b. Síndrome anti fosfolípidos.
- c. Enfermedad inflamatoria intestinal.
- d. Artritis reumatoide (Scherlinger *et al.*, 2023).
- e. Diversos tipos de vasculitis sistémica (Síndrome de Behçet's, vasculitis asociadas a ANCA, vasculitis de vasos grandes, poliarteritis nodosa, enfermedad de Kawasaki, fibrosis retroperitoneal) (Emmi *et al.*, 2015).
- f. Miopatías inflamatorias (Nowak *et al.*, 2016).

A continuación, se describen tres de las enfermedades autoinmunes con tromboinflamación, mejor detalladas en la literatura científica.

### ***Lupus Eritematoso Sistémico (LES)***

El LES es un síndrome autoinmune causado por la generación de autoanticuerpos contra ácidos nucleicos y proteínas de unión a ácidos nucleicos. La presentación del LES puede variar mucho, pero comúnmente se asocia con inflamación excesiva, trombocitopenia, enfermedad cardiovascular (ECV), enfermedad renal y trombosis (Patel *et al.*, 2021). Aunque la trombosis en el LES se describe como de origen multifactorial, existe evidencia de una influencia patogénica de la interacción plaquetas - NETs sobre la coagulación. El TEV es una comorbilidad común en pacientes con LES y el riesgo de su desarrollo se asocia comúnmente con la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aPL). Los aPL más críticos identificados como que confieren riesgo trombótico son los anticuerpos anticardiolipinas (aCL), el anticoagulante lúpico (aLA) y la anti- $\beta_2$ -glicoproteína I (anti- $\beta_2$ -GPI). En el síndrome de aPL primario, los neutrófilos son propensos a la formación espontánea de NETs. La anti- $\beta_2$ -GPI logra desencadenar directamente la NETosis a través del eje TLR4/MyD88/MAPK en los neutrófilos y estas NETs expresaron FT y promovieron la generación de trombina, estimulando también las plaquetas. Además, algunos aPL, por ejemplo, los anti- $\beta_2$ -GPI, inducen la activación de RAGE y la reubicación de HMGB1 en las plaquetas (Wienkamp *et al.*, 2022).

Los pacientes con LES presentan disfunción endotelial, caracterizada por una mayor expresión de fibrinógeno y moléculas de adhesión celular: ICAM, VCAM, VEGF y FvW. Además, se ha demostrado que los neutrófilos en el LES causan daño endotelial directo (Klavina *et al.*, 2022).

Los neutrófilos en el LES tienen una mayor capacidad para producir NETs. Un subconjunto de pacientes con LES también es resistente a la degradación de las NETs. Se han descrito dos posibles mecanismos de deterioro de la degradación de NETs en el LES: la presencia de un inhibidor de la ADNasa y anticuerpos anti-NETs. Los pacientes con LES tienen un aclaramiento reducido de NETs con un perfil inmunológico alterado. Los marcadores de NETosis y el aumento de CD40L se asocian con la gravedad de la enfermedad (Kapoor *et al.*, 2018).

La interacción entre los anticuerpos antifosfolípidos y los receptores de monocitos facilita el descifrado del FT y promueve la coagulación (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023). Algunos estudios han identificado un complejo formado por el receptor endotelial de la proteína C y el ácido

lisofosfatídico (EPCR-LBPA) expresado en las superficies de las células de monocitos como un receptor de aPL que facilita su internalización y sus posteriores actividades proinflamatorias y procoagulantes. Los aPL que se unen a EPCR-LBPA activan la señalización de FT-FVIIa-FXa-PAR2 mediante el descifrado de FT con esfingomielinasa ácida para promover la coagulación (Patel *et al.*, 2021).

Las plaquetas tienen un profundo impacto en la patogénesis y el pronóstico del LES. Las plaquetas aisladas de estos pacientes muestran marcadores de activación. En particular, los pacientes muestran niveles elevados de micropartículas plaquetarias proinflamatorias que pueden actuar como complejos inmunes, potenciando la enfermedad. Hay datos sólidos que sugieren que el FcγRIIA plaquetario es fundamental en la patogénesis de este síndrome. Las plaquetas tienen niveles elevados de IgG unidas a la superficie que se correlacionan con marcadores de activación plaquetaria. De hecho, las plaquetas parecen promover activamente la activación/desregulación inmune en el LES en parte porque las plaquetas son una fuente importante de la elevada sCD40L observado en sueros de LES. Las plaquetas también promueven respuestas inflamatorias más localizadas al interactuar directamente con los leucocitos y las células endoteliales, donde pueden promover fenotipos inflamatorios (Patel *et al.*, 2021).

Por otro lado, el complemento también juega un papel importante en el LES. Algunos anticuerpos en el LES inducen la activación del complemento además de la formación de complejos inmunes que se depositan en los glomérulos renales, activando la cascada clásica del complemento y provocando lesión renal y nefritis lúpica; una causa importante de morbilidad y mortalidad en el LES. Los productos de activación del complemento en las plaquetas pueden explicar el mayor riesgo de trombosis venosa como resultado de la activación plaquetaria que también se observa en el LES. (Keragala *et al.*, 2018).

Los factores séricos de pacientes con lupus inducen autofagia dirigida por respuestas reguladas en el desarrollo y daño del ADN 1 (REDD1) y NETosis en neutrófilos, y las NETs resultantes están decorados con FT e IL17A, lo que conduce a coagulación y fibrosis. Otro factor de riesgo de trombosis en el LES puede ser la existencia de los llamados "granulocitos de baja densidad" (LDG). La aparición de LDG es elevada en el LES, así como en otras enfermedades autoinmunes. Estos neutrófilos están asociados con la fracción de células mononucleares de sangre periférica después de la centrifugación en gradiente de densidad (por lo tanto, "baja densidad") y muestran una capacidad elevada para formar

NETs. El aumento de la formación de NETs en la circulación sanguínea de pacientes con LES puede aumentar el riesgo de daño de las células endoteliales y activación plaquetaria, lo que puede contribuir a la manifestación elevada de trombosis venosa y arterial (Wienkamp *et al.*, 2022).

Los pacientes con LES también muestran una actividad reducida de ADAMTS13, y esto también puede estar implicado en eventos trombóticos. Se ha demostrado que las NETs influyen negativamente en la actividad de ADAMTS13, pero aún no se ha dilucidado como lo hacen. Para empeorar las cosas, incluso los pacientes con LES sin desarrollar el síndrome de aPL exhiben un estado protrombótico, que se refleja en plaquetas activadas y aumento de los agregados de plaquetas y leucocitos al inicio, así como una mayor generación de trombina a través del FT en micropartículas y NETs (Wienkamp *et al.*, 2022).

El aumento de la exposición de fosfatidilserina en las membranas plasmáticas de las plaquetas puede ser otra razón para la hipercoagulabilidad observada. Las NETs también pueden ser reconocidos por la inmunidad adaptativa como un autoantígeno y conducir a la producción de anticuerpos anti-ADNbc, que a su vez activan las plaquetas y promueven la trombosis (Wienkamp *et al.*, 2022).

### **Síndrome Antifosfolípido (SAF)**

El síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAF) es un trastorno autoinmune asociado con un alto riesgo de trombosis y pérdida recurrente del embarazo que ocurre en presencia de anticuerpos antifosfolípidos (Kapoor *et al.*, 2018). Este síndrome está muy relacionado con el LES, siendo que en su clasificación el SAF secundario se identifica cuando ocurre en pacientes con LES, mientras que el SAF primario por el contrario es un trastorno independiente en ausencia de LES. El SAF se caracteriza por la presencia de aPL, detectados funcionalmente por el aLA, y serológicamente por aCL y anti- $\beta_2$ -GPI (Patel *et al.*, 2021).

En el SAF se describe el concepto de “dos golpes” (tanto en modelos animales como en pacientes) que postula que los aPL proporcionan el primer golpe, creando un estado procoagulante generalizado. Posteriormente, un segundo impacto (a veces crítico), como una lesión vascular o un estímulo inflamatorio, cambia la sangre circulante hacia un estado procoagulante. Aunque este estímulo desencadenante no es evidente en muchos casos de SAF trombótico, se ha identificado un factor precipitante como cirugía, infección, embarazo

o retirada de la anticoagulación en el 50 al 80% de los episodios de SAF catastrófico (SAFC) (Knight & Kanthi, 2022).

Los estudios en humanos son consistentes con una fisiopatología compleja en este síndrome, por lo que múltiples mecanismos tromboinflamatorios han sido descritos, los cuales se muestran de forma resumida en la Tabla 3.1.

En el SAF la señalización inflamatoria del FT a través del receptor 2 activado por proteasa (PAR-2) es un evento crítico que produce activación de neutrófilos, lesión del trofoblasto y muerte fetal. Esto está respaldado por la observación de ratones knockout/F2r11 tratados con antifosfolípidos que exhiben menos activación de neutrófilos y embarazos normales (Keragala *et al.*, 2018)

Dentro de las complicaciones más comunes en el SAF, se describe la trombocitopenia. El grado de trombocitopenia es atribuible a la activación plaquetaria de bajo grado y su posterior eliminación, o a la eliminación autoinmunitaria a través de anticuerpos antiglicoproteína plaquetaria (Knight & Kanthi, 2022).

**Tabla 3.1**

*Mecanismos destacados de la fisiopatología del SAF.*

<b>Célula o molécula</b>	<b>Hallazgos de aPL <i>in vitro</i></b>	<b>Hallazgos en pacientes</b>
<b>Células endoteliales</b>	Incremento de la expresión de FT y moléculas de adhesión.	Aumento de micropartículas derivadas del endotelio.
<b>Plaquetas</b>	Induce activación bajo estrés cortante.	Incremento de agregados plaqueta-leucocitos.
<b>Monocitos</b>	Activa la expresión de FT y citoquinas pro inflamatorias	Incremento de la expresión del FT por monocitos.
<b>Neutrófilos</b>	Promueve la liberación de NETs.	Altos niveles de NETs circulantes y anticuerpos anti-NETs.
<b>Sistema del complemento</b>	Desencadena la lisis celular mediada por test modificado de Ham.	Altos niveles de moléculas del complemento escindidas.
<b>Sistema de coagulación</b>	Interfiere con los inhibidores de la coagulación, especialmente con la proteína C y la antitrombina.	Altos niveles de la forma de tior libre del factor Xia.
<b>Sistema fibrinolítico</b>	Interfiere con la actividad del activador tisular del plasminógeno.	Altos niveles de PAI-1.

**Fuente:** Modificado y traducido a partir de Knight & Kanthi, 2022.

### ***Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII)***

La EII es un trastorno causado por una desregulación inmune que resulta en inflamación del intestino. Es un término general que incluye tanto la colitis ulcerosa como la enfermedad de Crohn. Los pacientes con EII tienen un riesgo tres veces mayor de TEV en comparación con los individuos no afectados y el riesgo de TEV es mayor durante una "crisis" en comparación con los intervalos entre las crisis de la enfermedad (Kapoor *et al.*, 2018).

Las personas con EII se caracterizan por niveles elevados de células inmunitarias proinflamatorias, como células T, células linfoides innatas, monocitos y macrófagos, y citoquinas, como TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-17a, IL-36 $\alpha$ , IL-18, IL-6 e IL-8. Varias proteínas procoagulantes y antifibrinolíticas plasmáticas, incluidas PAI-1, fibrinógeno y protrombina, se elevan durante una "crisis" de EII, en el que los síntomas aumentan de forma aguda (Klavina *et al.*, 2022).

Un número aumentado de micropartículas procoagulantes FT<sup>+</sup> son liberados de plaquetas y los leucocitos en pacientes con EII. Estas micropartículas también pueden estimular la NETosis de los neutrófilos (Klavina *et al.*, 2022). Numerosos estudios destacan los neutrófilos como una etiología del estado de hipercoagulabilidad observado en pacientes con EII. Las micropartículas obtenidas de pacientes con EII activa acortaron notablemente los tiempos de coagulación y se asociaron con una mayor generación de trombina, fibrina y factor Xa. También se ha visto que los pacientes con EII activa tienen niveles significativamente más altos de ADN extracelular libre (cfADN), nucleosomas y formación de NETs en comparación con los pacientes no activos (Kapoor *et al.*, 2018).

La desregulación y la hiperactividad plaquetarias también contribuyen al estado protrombótico observado en la EII. Se ha observado un aumento de la activación plaquetaria en pacientes con EII, correlacionándose el estado de activación plaquetaria con la gravedad de la enfermedad (Klavina *et al.*, 2022). La activación de las plaquetas observada en el período activo de la enfermedad no solo regula la coagulación, sino que también mejora la inflamación de la mucosa. Las plaquetas inician y apoyan los procesos inflamatorios mediante la secreción de numerosas sustancias biológicamente activas. Además, durante la activación, las plaquetas desarrollan receptores para quimiocinas, citocinas y componentes de complemento, lo que les permite participar en variables

cascadas inflamatorias en la EII. Las moléculas liberadas de la plaqueta activada inducen un fenotipo inflamatorio en células endoteliales y leucocitos (Matowicka, 2016)

Mientras que la inflamación crónica interrumpe el equilibrio hemostático para promover la trombosis, la capacidad de muchas proteasas de coagulación para modular la función celular, particularmente la respuesta inflamatoria directamente a través de la señalización celular, sugiere un mecanismo adicional por el cual la activación de la proteasa de la coagulación aberrante o la pérdida de respuestas de señalización anticoagulante aberrante, puede modular la respuesta inmune de la mucosa. La vía de PCa se ha implicado como un regulador importante de la inmunidad mucosa, regulando las respuestas inflamatorias en el endotelio, el epitelio y las células inmunes innatas y adaptativas (Klavina *et al.*, 2022).

## **TROMBOINFLAMACIÓN EN ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS**

### ***Anemia Hemolítica Autoinmune y Aloinmune***

La anemia hemolítica autoinmune (AIHA) es un trastorno bien conocido con una estrecha relación entre la coagulación y el complemento. Esto se aprecia más en la enfermedad de aglutininas frías (EAF), donde los anticuerpos IgM aglutinan los glóbulos rojos, lo que provoca su destrucción, mediada por complemento. Los anticuerpos IgM aglutinan los eritrocitos a una temperatura óptima de 3 a 4 °C, y potencialmente más alta dependiendo de la amplitud térmica del anticuerpo. Estos anticuerpos IgM unidos a antígeno son potentes activadores del complemento, se unen a C1q y activan la cascada clásica del complemento (Keragala *et al.*, 2018).

La hemólisis aloinmune conduce a una hemólisis extravascular a través de varios mecanismos, incluida la lisis mediada por el complemento, la fagocitosis de eritrocitos recubiertos de C3b por macrófagos o la destrucción de glóbulos rojos cubiertos de IgG por el sistema reticuloendotelial. La producción resultante de anafilatoxinas, la liberación de citoquinas que provocan inflamación, la vía de contacto y la activación del sistema de quininas y la fibrinólisis se manifiestan clínicamente con una respuesta inflamatoria sistémica, CID, hemorragia, alteración microvascular con insuficiencia renal y shock (Keragala *et al.*, 2018).

El mayor riesgo de trombosis en la anemia hemolítica es bien reconocido. Los pacientes con anemia hemolítica tienen un riesgo 2-6 veces mayor de tromboembolismo venoso en

comparación con los pacientes sin AIHA. La hemólisis mediada por el complemento desempeña un papel central en el impulso de esta trombogenicidad. La lisis de eritrocitos da como resultado la exposición a fosfatidilserina y la liberación de micropartículas portadoras de factor tisular, las cuales activan las plaquetas y las vías de coagulación. El hemo libre circulante también puede funcionar como una convertasa del complemento, activando otras vías del complemento. Además, la hemólisis es bien conocida por sus efectos directos sobre la lesión de las células endoteliales, sus efectos vasoconstrictores y la liberación de especies reactivas de oxígeno, creando una superficie endotelial protrombótica y alterando la función vasomotora (Keragala *et al.*, 2018).

### ***Hemoglobinuria Paroxística Nocturna***

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un trastorno hematopoyético clonal adquirido debido a una mutación somática del gen PIGA ligado al cromosoma X. Esto da como resultado una deficiencia parcial o absoluta de todas las proteínas ancladas a GPI, lo que deja a muchas células vulnerables a una destrucción no regulada mediada por el complemento. Si bien las citopenias, la aplasia y las distonías del músculo liso son manifestaciones comunes de la HPN, la trombosis, especialmente en sitios inusuales, sigue siendo una complicación temida asociada con una morbilidad y mortalidad significativas (Keragala *et al.*, 2018).

El mecanismo de la trombosis en la HPN es complejo, multifacético y un área de investigación en curso. Entre estos mecanismos tenemos activación plaquetaria, hemólisis mediada por complemento, toxicidad vascular por hemoglobina libre, agotamiento de óxido nítrico, ausencia de otras proteínas ligadas a GPI, como el receptor activador del plasminógeno tipo uroquinasa, con deterioro de la fibrinólisis junto con disfunción endotelial general. Es probable que todos contribuyan a la trombosis en este trastorno. La activación del complemento en las superficies celulares da como resultado la formación de MAC con la posterior lisis celular. Tanto la formación de MAC como la generación de C5a también pueden inducir la expresión del factor tisular así como de PAI-1, promoviendo así la trombosis y la antifibrinólisis. El C5a generado mejora aún más el fenómeno protrombótico mediante la producción de citoquinas IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ . De estos, la IL-6 puede promover la generación de trombina y también puede inhibir la actividad de ADAMTS13. En general, se produce un círculo vicioso en el que la trombosis activa el complemento, que luego provoca más trombosis e inflamación (Keragala *et al.*, 2018).

### **Drepanocitosis**

La drepanocitosis es un estado de hipercoagulabilidad con una importante incidencia de eventos tromboembólicos. Este estado protrombótico, que implica la activación de las plaquetas y el sistema de coagulación, puede desempeñar un papel en algunas de las complicaciones de la enfermedad, incluido el accidente cerebrovascular isquémico y tromboembolismo venoso. Se ha sugerido que la exposición anormal al PS en la superficie de los glóbulos rojos falciformes y las micropartículas derivadas de eritrocitos circulantes inducen una generación excesiva de trombina (Conran & Belcher, 2018).

Existe una actividad anormal del complemento en la drepanocitosis. La trombina puede evitar la activación del complemento por la vía alternativa o clásica y escindir directamente C3 y C5 en fragmentos biológicamente activos. La activación por la vía alternativa y por la trombina se acelera en superficies de membrana ricas en fosfatidilserina. Es importante destacar que C5a puede activar todas las células implicadas en la vasooclusión (leucocitos, plaquetas y células endoteliales), iniciar la expresión de selectina P, provocar la liberación de mediadores del dolor (histamina, triptasa y sustancia P) de los mastocitos y mejorar la capacidad vascular permeabilidad (Conran & Belcher, 2018)

En la drepanocitosis está bien documentada las crisis vaso oclusivas debido a la conformación alterada de los eritrocitos producto de la polimerización de HbS en condiciones hipóxicas. Sin embargo, los datos recientes han revelado que múltiples interacciones entre el endotelio vascular, los leucocitos y la placa también contribuyen a la patobiología. Se cree que el hemo liberado de la hemólisis de los glóbulos rojos falciformes puede estimular la formación de NETs, lo que posiblemente empeora la oclusión de vaso, sin embargo, actualmente no hay datos que sugieran un papel para las NETs en la trombosis de pacientes con drepanocitosis. Por otro se ha propuesto que si bien el tratamiento con hidroxiurea aumenta la hemoglobina fetal lo que disminuye la polimerización de la HbS, también altera la función de neutrófilos mediante la adhesión eliminada al endotelio o cambios en la migración de neutrófilos (Kapoor *et al.*, 2018).

El estado inflamatorio crónico que presentan los pacientes con drepanocitosis proviene de múltiples fuentes: las alteraciones de los glóbulos rojos, la hemolisis y los productos de la hemoglobina, los procesos vaso oclusivos y la injuria por isquemia-reperusión, infecciones, histamina, estrés oxidativo, entre otras. Estas fuentes de inflamación llevan a la activación

celular del endotelio, leucocitos y plaquetas, desarrollándose mecanismos tromboinflamatorios que generan trombosis (Conran & Belcher, 2018).

### ***Síndrome Urémico Atípico***

En el síndrome urémico atípico (SHUa) la microangiopatía trombótica resultante es resultado de la desregulación de la vía alternativa de activación del complemento y la actividad de la convertasa C3. La activación incontrolada del complemento da como resultado un daño progresivo de las células endoteliales y una alteración de la microvasculatura, lo que a su vez impulsa la coagulación y las complicaciones trombóticas. En pacientes sanos las plaquetas suelen estar protegidas de la destrucción mediada por el complemento mediante la acción del factor H y otros reguladores de membrana. Como este mecanismo está gravemente comprometido en el SHUa, las plaquetas están sujetas a un ataque no regulado, por lo que se ha planteado que es probable que este fenómeno dé como resultado la trombocitopenia y la producción de microtrombos ricos en plaquetas que se observan en este trastorno (Keragala *et al.*, 2018).

### **TROMBOINFLAMACIÓN EN NEOPLASIAS MALIGNAS**

Desde hace mucho tiempo se sabe que el desarrollo de cáncer va acompañado de un mayor riesgo de trombosis, y esto se reconoce como síndrome de Trousseau. Existe un estado de hipercoagulabilidad en muchos pacientes con diagnóstico de cáncer. Las razones de esto aún no se comprenden completamente y pueden dividirse en factores relacionados con el paciente, relacionados con el tratamiento y relacionados con el cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que la secreción de factores procoagulantes mediada por tumores, como el FT, es responsable de la trombosis inducida por el cáncer. Sin embargo, los tumores malignos también pueden inducir tromboinflamación mediante la activación de plaquetas y/o neutrófilos seguida de la formación de NETs (Wienkamp *et al.*, 2022).

El cáncer es un factor de riesgo importante y establecido para el TEV. Los componentes celulares sanguíneos (glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas) están alterados en pacientes con cáncer y pueden producir un estado de hipercoagulabilidad por diversos mecanismos (Kapoor *et al.*, 2018).

Se ha demostrado que las células tumorales interactúan con las plaquetas manipulando su fisiología, mientras que, por otro lado, las plaquetas activadas parecen apoyar el

crecimiento y la invasión tumoral. En particular, las células tumorales pueden activar las plaquetas a través de la secreción de factores como ADP o mediante interacción directa. Receptores de ITAM de plaquetas GPVI y CLEC-2, que se unen a la podoplanina expresada en el frente invasivo de muchos tumores, participan en la patogénesis del cáncer. La agregación plaquetaria y la secreción de PDGF y TGF- $\beta$  a través de la activación de CLEC-2 apoyan la proliferación de células tumorales y la transición epitelial-mesenquimatosa. La HMGB1 liberada por las células tumorales moribundas, por otro lado, interactúa con TLR4 en plaquetas y media la interacción de las células de plaquetas - tumor, promoviendo la metástasis. A través de estas interacciones, las plaquetas se activan y secretan factores que modulan el microambiente tumoral. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformador (TGF) se liberan de gránulos  $\alpha$  de plaquetas activadas y estimulan la angiogénesis tumoral (Mandel *et al.*, 2022).

Como parte de las sustancias procoagulantes que secretan los tumores, se ha visto que, por ejemplo, en el cáncer de páncreas se secreta trombina, un potente activador de las plaquetas. Además, la expresión de COX-2 en los cánceres puede conducir a la síntesis posterior de TXA<sub>2</sub>, lo que no solo da como resultado la progresión del tumor, sino también la activación y agregación de plaquetas. Las células de cáncer de ovario secretan ADP, que puede unirse a P2Y<sub>1</sub> y P2Y<sub>12</sub> en las plaquetas, y esto da como resultado un circuito de retroalimentación positiva, en el que las plaquetas liberan más ADP de los gránulos densos. En las células de cáncer colorrectal se da secreción de FT procoagulante como parte de micropartículas (MP) en células tumorales circulantes. Las MP tumorales proporcionan una superficie procoagulante debido a la presentación de fosfatidilserina en la capa exterior de la membrana. Las células cancerosas que expresan podoplanina pueden interactuar con las plaquetas a través de CLEC-2, y esto conduce a la activación plaquetaria. Por lo tanto, el eje plaquetario podría ser una forma directa para que los tumores promuevan la trombosis, o el tumor puede actuar indirectamente a través de la formación de NETs (mediada por plaquetas) (Wienkamp *et al.*, 2022).

Las plaquetas pueden ayudar al proceso de metástasis del cáncer a través de múltiples mecanismos:

- a. Mejoran la transición epitelial a mesenquimal y promueven la supervivencia de las células tumorales en la circulación, la extravasación y colonización en el sitio secundario.
- b. Las células cancerosas que interactúan con plaquetas pueden escapar de NK y otras células inmunes en circulación.
- c. Las plaquetas unidas a las células cancerosas aumentan la adhesión de las células cancerosas en el endotelio y facilitan la metástasis del cáncer.
- d. Las interacciones entre las plaquetas y las células tumorales también son necesarias para el reclutamiento de granulocitos al sitio metastásico. Con la ayuda adicional de los granulocitos, las células cancerosas pueden formar un nicho metastásico temprano para establecer focos metastásicos
- e. Los conjugados de células de plaquetas - cáncer también reclutan monocitos en el nicho metastásico temprano a través de quimiocinas liberadas de plaquetas. Los monocitos/macrófagos reclutados mejoran la extravasación de las células cancerosas al producir VEGF que aumenta la permeabilidad de los vasos y mejora la formación de focos metastásicos.

Las células en el cáncer de páncreas pueden inducir NETosis y esto aumenta aún más después de que las plaquetas entran en contacto con células de cáncer de páncreas, lo que sugiere que las plaquetas activadas, después del contacto con las células tumorales, pueden propagar la formación de NETs. La formación de NETs mediada por plaquetas está relacionada con el desarrollo de TEV en pacientes con glioma de alto grado, y esto depende, al menos en parte, de la interacción de la selectina P y el PSGL-1. La expresión de fosfatidilserina mediada por NETs en plaquetas y células endoteliales, así como el aumento de la expresión de FT, el complejo trombina - antitrombina y la formación de fibrina, pueden ser la causa del elevado riesgo de desarrollo de TEV en este caso. Anteriormente se mostraron resultados similares en pacientes que padecían cáncer colorrectal, y en este caso la HMGB1 de plaquetas contribuyó de manera importante a la formación de NETs (Wienkamp *et al.*, 2022).

Los neutrófilos representan una especie celular dominante en el infiltrado local que rodea al tumor. Además, se ha descubierto que las NETs están presentes dentro del tumor y se cree que modulan el microambiente del cáncer, el crecimiento del cáncer y cuando están

en la circulación, se ha demostrado que facilitan las metástasis. La sobreexpresión del factor estimulante de colonias de granulocitos tumorales (G-CSF) y la presencia de citoquinas inflamatorias como el factor activador de plaquetas (PAF) y la IL-8 pueden representar el estímulo inicial para preparar un subconjunto de neutrófilos hacia la generación de NETs (Kapoor *et al.*, 2018).

Las NETs pueden capturar células tumorales circulantes (CTC) después de la cirugía de manera dependiente de las plaquetas. Las plaquetas, activadas por el estrés quirúrgico y la inflamación local, forman agregados con las CTC de forma dependiente de GPIIb/IIIa en el torrente sanguíneo. Aquí, las NETs formadas de forma independiente de las plaquetas en los pulmones capturaron los agregados de plaquetas - CTC y promueven aún más la metástasis. La activación de las plaquetas fue iniciada por TLR4 y posteriormente dependió de la activación de ERK5, lo que resultó en una mayor activación de GPIIb/IIIa (Wienkamp *et al.*, 2022).

Se ha visto que los exosomas derivados de células cancerosas de ratones hembra inyectados con células de cáncer de mama 4T1 inducen NETs en neutrófilos después de la estimulación previa con G-CSF. Además, estos animales tenían un mayor número de neutrófilos circulantes, junto con un aumento del ADN plasmático y de la MPO basales, ambos asociados con la NETosis. El G-CSF y la IL-8 derivados de tumores también pueden participar en la activación de los neutrófilos para que se sometan a NETosis en el cáncer. De hecho, el bloqueo de CXCR1 o CXCR2 en neutrófilos tras la coincubación con sobrenadante de varias líneas celulares de carcinoma productoras de quimiocinas anuló la formación de NETs, lo que justifica la participación de los ligandos CXCR1 y CXCR2 en la formación de NETs mediada por tumores (Wienkamp *et al.*, 2022).

Las NETs, a su vez, inducen un estado de hipercoagulabilidad en pacientes con cáncer, como se ha demostrado en pacientes que padecen glioma, que puede provocar eventos trombóticos como TEV o microtrombosis arterial. En un modelo animal de tumores del intestino delgado, se ha visto que los ratones sufren de hiperactivación crónica de la coagulación y aumento del consumo de plaquetas, como resultado de la NETosis producida por los neutrófilos activados por el factor del complemento C3a (Wienkamp *et al.*, 2022).

Durante la tromboinflamación en cáncer, el propio tumor se beneficia de la activación de plaquetas o neutrófilos para inducir trombosis o NETs, respectivamente. La formación de NETs está asociada con la progresión de la enfermedad en pacientes con cáncer gástrico.

Las NETs promueven la migración de células de cáncer gástrico e indujeron la transición epitelial a mesenquimatosa mediante la regulación negativa de E-cadherina y una mayor expresión de vimentina en una línea celular de cáncer gástrico humano. Además, las células cancerosas latentes de un tumor primario pueden despertar años después de la diseminación debido a eventos inflamatorios, ya que se ha demostrado que las NETs participan significativamente en este proceso de despertar. La elastasa de los neutrófilos y la metaloproteinasa de matriz 9 (MMP9), a través de la escisión proteolítica y la remodelación de la laminina, inducen la progresión del ciclo celular en células cancerosas previamente inactivas. Por tanto, la aparición no sólo de neutrófilos, sino especialmente de NETs en el entorno tumoral parece correlacionarse con la progresión de la enfermedad y un peor resultado clínico. Además, las células tumorales circulantes utilizan este mecanismo para protegerse del sistema inmunológico, o simplemente como una base para la inducción de metástasis (Wienkamp *et al.*, 2022).

En conjunto, la evidencia proporcionada da la impresión de que atacar las plaquetas o la formación de NET en el cáncer, además del tratamiento del cáncer, puede ejercer un efecto beneficioso general con respecto a la progresión de la enfermedad y la formación de metástasis (Wienkamp *et al.*, 2022).

## **TROMBOINFLAMACIÓN EN OTRAS PATOLOGÍAS**

### ***Alergias***

La desregulación de la actividad hemostática y fibrinolítica es evidente en muchas enfermedades alérgicas, incluida la urticaria crónica espontánea, el asma y la dermatitis. Aun así, los mecanismos inflamatorios subyacentes a esta desregulación hemostática, como los niveles elevados de FT soluble, PAI-1 y TAFI que se encuentran en el esputo de los pacientes con asma, no se conocen bien (Klavina *et al.*, 2022).

En las vías respiratorias, la expresión de FT es inducida por IL-13, una de las principales citoquinas implicadas en la patogénesis del asma. Paralelamente, el FX también está implicado en la disfunción de las vías respiratorias, y la señalización del FXa aumenta la proliferación de fibroblastos de las vías respiratorias mediante la producción de factor de crecimiento autocrino derivado de plaquetas (PDGF) y la síntesis de procolágeno mediante la activación de PAR1, lo que produce fibrosis de las vías respiratorias y reducción de la distensibilidad pulmonar. Además, existe una mayor activación de la trombina y niveles

reducidos de PCa en pacientes con asma. La hiperactividad plaquetaria y el depósito de fibrina exacerban el asma y contribuyen a la hiperreactividad bronquial, la constricción, la remodelación de las vías respiratorias y la inflamación. De manera similar, los productos de degradación de la fibrina (FDP) contribuyen a la desregulación de las vías respiratorias, promoviendo la infiltración de leucocitos, la liberación de citoquinas proinflamatorias y PAI-1 (Klavina *et al.*, 2022).

Las alergias en la piel, como la dermatitis atópica y la dermatitis de contacto, son trastornos inflamatorios crónicos de la epidermis. Estas afecciones se desencadenan por la exposición de la piel a alérgenos potenciales, que pueden inducir una respuesta inmune mediada por células T exagerada. Al igual que la inflamación de las vías respiratorias, el aumento de la expresión y actividad del FT de las células mieloides se asocia con la patogénesis de la alergia cutánea, y los monocitos aislados de pacientes con UCE expresan significativamente más actividad del FT que los controles sanos. Las proteasas de coagulación también pueden inducir la desgranulación de mastocitos y basófilos de la piel humana a través del complemento C5a y C5aR, causando edema. De manera similar, se ha demostrado que la trombina y el fibrinógeno desempeñan un papel patológico en la dermatitis de contacto (Klavina *et al.*, 2022).

### ***Enfermedades Neurodegenerativas***

La actividad y señalización aberrantes de las vías de coagulación se han implicado en la patogénesis de varios trastornos neurológicos. La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad degenerativa y desmielinizante del sistema nervioso central (SNC) mediada por inmunidad. Los pacientes con EM tienen un riesgo dos veces mayor de TEV en comparación con la población general. Los pacientes con EM muestran un aumento en el depósito de fibrina alrededor de las lesiones activas de EM, actividad fibrinolítica alterada, niveles elevados de FT soluble en el SNC, TM soluble circulante y actividad elevada del FvW que refleja endoteliopatía. Las vías proinflamatorias y de coagulación se coactivan durante la patogénesis de la EM (Klavina *et al.*, 2022).

Se han observado niveles elevados de fibrina post mortem en cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA), y la señalización de esta proteína está relacionada con la deposición de A $\beta$  y tau. También se han observado niveles elevados de FXII en el plasma de pacientes con EM y pueden contribuir al estado tromboinflamatorio observado en el SNC

de los individuos afectados. La vía de contacto también está implicada en la patogénesis de la EA. Se ha detectado FXII en placas de A $\beta$ , se ha observado un aumento de la actividad de la calicreína plasmática en el parénquima cerebral de la EA y mayores niveles de escisión de HK en el líquido cefalorraquídeo en pacientes con EA en comparación con los controles sin enfermedad. Los estudios *in vitro* han encontrado que A $\beta$  puede desencadenar la actividad de calicreína dependiente de FXIIa y la escisión de HK mediada por calicreína. Los estudios *in vivo* han respaldado estos hallazgos, sugiriendo que las placas de A $\beta$  pueden mediar la regulación positiva de la activación por contacto (Klavina *et al.*, 2022).

Actualmente existen pruebas del papel de los neutrófilos y la NETosis en la patología de la EA. Se han encontrado neutrófilos, NETs y MPO asociada a NETs en placas que rodean la microvasculatura en cerebros de pacientes con EA post mortem y en modelos murinos de EA (Klavina *et al.*, 2022).

### ***Estrés y Alteraciones del Ritmo Circadiano***

El estrés es un factor de riesgo de enfermedades neurodegenerativas, enfermedades metabólicas, cáncer y enfermedad tromboembólica, todas estas abordadas anteriormente en el contexto de que forman parte del grupo de enfermedades donde la tromboinflamación tiene un papel patológico importante en su fisiopatología. Tanto el estrés agudo como el crónico provocan un cambio en la distribución de las células inmunitarias entre la circulación y el tejido. A nivel molecular, se han descrito aumentos significativos en la actividad de FVII y FVIII y mayores niveles de FvW y dímero D en personas con estrés agudo en comparación con personas sin estrés. Con base en esto hallazgos se entiende que el estrés agudo puede promover cambios transitorios en la hipercoagulabilidad del plasma (Klavina *et al.*, 2022).

Por otro lado, la alteración circadiana perturba la función normal de las células inmunitarias, y los datos emergentes sugieren un papel compartido en la desregulación de la hemostasia. La expresión rítmica de genes asociados con la coagulación también puede contribuir al aumento de la incidencia de enfermedad cardiovascular aguda en las horas de la mañana del día (Man *et al.*, 2021).

Los ritmos circadianos están involucrados en el control de procesos inflamatorios y metabólicos, lo que puede influir en la patología de la arteriosclerosis y la trombosis. Los genes de reloj circadiano son críticos para mantener la relación robusta entre la variación diurna y el sistema cardiovascular (Man *et al.*, 2021). Según estudios con modelos murinos,

cuando se realizó un cambio en los horarios de luz, los ratones mostraron disminución del tiempo de protrombina, de la concentración de fibrinógeno plasmático y aumento el tiempo de sangrado, lo que ilustra cómo los cambios en la coagulación pueden ser impulsados por la alteración del ritmo circadiano. En humanos, las concentraciones de PAI-1, t-PA y fibrinógeno en la sangre varían durante 24 horas. PAI-1 está sujeto a fluctuaciones diurnas, independientemente de cualquier comportamiento asociado durante el día o la noche, lo que sugiere que la capacidad de formación y eliminación de trombos variará con la hora del día (Klavina *et al.*, 2022).

Se ha demostrado que los neutrófilos humanos y de ratón tienen diferentes propensiones a formar NETs según la hora del día. Los neutrófilos de ratón aislados durante la noche forman más NET que los neutrófilos diurnos, mientras que en los neutrófilos humanos se observa lo contrario (de acuerdo con sus ritmos circadianos que son opuestos). Los monocitos inflamatorios también contribuyen a la formación de trombos venosos y su número está sujeto a oscilaciones diurnas. La agregación plaquetaria y las interacciones entre neutrófilos y monocitos son un brazo integral de la inmunotrombosis, y su actividad y distribución también son circadianas. La expresión de plaquetas de los marcadores de superficie de activación, incluidos GPIIb-IIIa, GPIb y P-selectina, es más alta en la mañana (8 am – 9 am). En contraste, el umbral para la agregación plaquetaria es más bajo en la noche (8 pm) (Klavina *et al.*, 2022).

### ***Enfermedad de injerto contra huésped***

La incidencia de tromboembolismo venoso entre los pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) varía del 0,5 al 13%, y su ocurrencia se asocia típicamente con el desarrollo de la enfermedad del injerto contra huésped (EICH). En aquellos que desarrollan tromboembolismo venoso después del trasplante, hay una incidencia del 65% en EICH. Además, existe un mayor riesgo de otros eventos trombóticos asociados con la gravedad del EICH y el grupo de sangre del donante, así un donante no O compatible a un receptor ABO exhibe una relación de peligro 2.7 veces más alta de complicación trombótica en comparación con el donante O compatible con un receptor O. La microangiopatía trombótica asociada al trasplante es una complicación común de HSCT y se asocia con la activación del complemento después de una lesión endotelial durante la EICH. La asociación entre la gravedad de la exposición a la inflamación y el riesgo de trombosis en pacientes con EICH se ejemplifica por el umbral reducido para la NETosis de neutrófilos en

pacientes con EICH y el consiguiente rol en la mayor hipercoagulabilidad plasmática. Los receptores pediátricos después de HSCT tienen niveles elevados de ADN de doble cadena en plasma (ADNdc), un marcador para las NETs, junto con un mayor riesgo de microangiopatía trombótica, inicio de EICH gastrointestinal y mortalidad (Klavina *et al.*, 2022).

### **ENFERMEDADES CON MECANISMOS TROMBOINFLAMATORIOS DESCONOCIDOS**

Conforme se ha ido avanzando en el conocimiento de los mecanismos de inmunotrombosis y tromboinflamación, se ha conseguido explicar y entender la fisiopatología de múltiples enfermedades. Sin embargo todavía existen patologías donde se reconoce claramente el papel que juega la tromboinflamación en su desarrollo, pero se desconoce los mecanismos precisos por los cuales se lleva a cabo el desarrollo de la trombosis. A continuación, se describen algunas de estas enfermedades:

En pacientes con síndrome metabólico (SM) y diabetes se ha descrito que la hiperglucemia conduce a un estado de hipercoagulabilidad. Si bien no se comprende completamente los mecanismos exactos que vinculan la hiperglucemia y una mayor propensión a la coagulación, se sabe que tanto la diabetes mellitus 2 como la enfermedad cardiovascular son enfermedades inflamatorias y que la sobrecarga crónica de ácidos grasos libres y glucosa puede desencadenar vías inflamatorias directamente o mediante una mayor producción de ROS. El estrés endotelial y los aumentos en la actividad plaquetaria preceden a la inflamación y los síntomas abiertos de la SM y es probable que sean el primer golpe. Así la activación endotelial y la resistencia a la insulina son probablemente causales en la inflamación metabólica crónica de bajo nivel observada y, por lo tanto, las complicaciones metabólicas y cardiovasculares vinculadas al consumo de una dieta occidental (Grandl & Wolfrum, 2018).

### **INMUNOTROMBOSIS Y TROMBOINFLAMACIÓN EN NIÑOS**

El papel potencial de la inmunotrombosis en la salud y la enfermedad sigue siendo subestimado en pacientes pediátricos. Existen pocos estudios de calidad sobre tromboinflamación en síndromes de inflamación que ocurren durante la infancia o directamente después del nacimiento.

### **Los Neonatos**

Los recién nacidos representan más casos de infección grave que todos los demás grupos de edad pediátrica combinados. Para los recién nacidos a término y de muy bajo peso al nacer (MBPN), los expertos estiman el riesgo de sepsis en 1 a 3 casos/1.000 nacidos vivos y 10 a 17 casos/1.000 nacidos vivos, respectivamente. Los recién nacidos con MBPN también demuestran altas tasas de secuelas inflamatorias del nacimiento prematuro: enterocolitis necrotizante, enfermedad pulmonar crónica neonatal o retinopatía del prematuro, entre otras. Por lo tanto, los recién nacidos corren un mayor riesgo de sufrir una infección grave, pero también un alto riesgo de sufrir síndromes proinflamatorios que crean daño tisular en el tracto gastrointestinal, los pulmones y los ojos, lo que sugiere que la inmunotrombosis juega un papel en la salud y la enfermedad de los pacientes pediátricos (Yost, 2019).

La CID es una consecuencia directa de la inmunotrombosis regulada positivamente debido a un mayor nivel de NETs en comparación con los pacientes sépticos sin CID. Los recién nacidos son más vulnerables a la CID ya que su sistema hemostático está equilibrado y dinámico, pero no es tan estable como el adulto (Franchi *et al.*, 2019).

Se ha confirmado que en recién nacidos existe una formación retrasada o ausente de NETs en PMN estimulados *in vitro* luego del aislamiento de la sangre del cordón umbilical de recién nacidos a término o prematuros. También se ha identificado que existen déficits de destrucción bacteriana específicos de NETs, totales y extracelulares, en los PMN "neonatales". La formación fallida de NETs es ahora entendida como parte de la lista de deficiencias inmunes asociadas con recién nacidos y lactantes, por lo que los estudios actuales van dirigidos a aumentar la inmunotrombosis como una posible intervención terapéutica (Franchi *et al.*, 2019).

En la evaluación de recién nacidos prematuros, se ha encontrado que la formación de NETs estimulados por LPS es deficiente en los PMN aislados a partir de sangre del cordón umbilical, contrario a los PMN obtenidos de sangre periférica incluso 14 días después del parto, mostrando estos últimos resultados similares a los obtenidos en PMN aislados de adultos sanos. Además, se ha encontrado que el plasma sanguíneo del cordón umbilical inhibía la formación de NETs estimulada por LPS (Yost, 2019).

Un fragmento carboxi terminal de 29 aminoácidos de alfa-1-antitripsina, un inhibidor de la serina proteasa, con propiedades inhibitoras de NETs, ha sido identificado como el responsable de la inhibición de NETs en neonatos, denominándolo factor inhibidor de NETs neonatal (nNIF). El nNIF inhibe la formación de NETs en PMN *in vitro* luego de la inducción por una variedad de agonistas inflamatorios clínicamente relevantes como bacterias, hongos, virus, hemo (un DAMP) y agonistas farmacológicos, sin embargo, nNIF no inhibe otras funciones clave de los neutrófilos, como la quimiotaxis, la fagocitosis, la generación de especies reactivas de oxígeno, la destrucción microbiana mediada por fagolisosomas intracelulares o las interacciones entre neutrófilos y plaquetas (Yost, 2019).

En la actualidad algunos estudios de modelos preclínicos en ratones con infección peritoneal patógena por *E. coli* han demostrado que la inhibición de NETs por nNIF han mejorado significativamente la supervivencia y ha disminuido las puntuaciones de gravedad de la enfermedad clínica, por lo que estos hallazgos parecen sugerir que la inhibición dirigida de la inmunotrombosis dentro del contexto clínico adecuado podría proporcionar protección en síndromes de inflamación desregulada como la sepsis. Por tanto, nNIF y otros compuestos capaces de inhibir específicamente la formación de NETs pueden representar objetivos para el desarrollo de fármacos terapéuticos (Yost, 2019).

#### **CAPÍTULO IV. NUEVAS OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA EL MANEJO DE LA ENFERMEDAD TROMBOINFLAMATORIA**

Las terapias anticoagulantes clínicamente aprobadas en la actualidad, si bien son muy efectivas, se asocian con un mayor riesgo de hemorragia porque la coagulación sanguínea, la agregación plaquetaria y el entrecruzamiento de fibrina son esenciales durante la hemostasia normal. Se ha visto que el riesgo de hemorragia potencialmente mortal aumenta significativamente con el tratamiento de la sepsis y la CID. Debido a este riesgo, se necesitan nuevos enfoques para mejorar la hemostasia desequilibrada sin aumentar el riesgo de hemorragia (Ryan & O'Neill, 2022).

Las terapias anticoagulantes comunes ejercen su función disminuyendo la actividad de los factores de coagulación en la vía común de la cascada de la coagulación (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

A pesar del creciente reconocimiento y comprensión de la naturaleza protrombótica de la enfermedad inflamatoria, persisten desafíos importantes en el manejo eficaz de los pacientes afectados, y se necesitan con urgencia nuevos enfoques terapéuticos para los mecanismos patogénicos clave en la trombosis impulsada por la respuesta inmune.

Como algunos de los mediadores moleculares de la inmunotrombosis son distintos y al menos parcialmente prescindibles para la hemostasia normal, apuntar a la inmunotrombosis en lugar de a la hemostasia podría proporcionar nuevas opciones para tratar y prevenir la trombosis patológica (Chen *et al.*, 2022). Además dirigirse a la inmunotrombosis puede proporcionar una opción más segura. (Ryan & O'Neill, 2022).

Se espera que las nuevas terapias no sólo se dirijan a los mecanismos de coagulación, sino que simultánea o independientemente transmitan potentes efectos citoprotectores que rodean los mecanismos inflamatorios proporcionando beneficios clínicos (Kohli *et al.*, 2022).

Sin embargo, el surgimiento de terapias potenciales con funciones inmunotrombóticas de amplio alcance y el desarrollo de fármacos en esta área, se ve desafiado por nuestra incipiente comprensión de los parámetros moleculares y celulares clave que controlan los nodos compartidos de las vías proinflamatorias y procoagulantes

## CONSIDERACIONES EN LA TERAPIA DE ENFERMEDADES TROMBOINFLAMATORIAS

Como se mencionó anteriormente, el conocimiento preciso de los mecanismos desregulados y/o aberrantes que surgen en las enfermedades tromboinflamatorias, permite establecer dianas específicas que sean atacadas para contrarrestar la enfermedad y lograr la recuperación exitosa del paciente. Sin embargo, se deben tener varias consideraciones presentes al utilizar los nuevos fármacos que se vayan aprobando para este tipo de enfermedades.

Inicialmente los clínicos deben asegurarse de que el diagnóstico del paciente sea correcto y que, dentro de la fisiopatología de la enfermedad, se esté presentando en el momento preciso de la terapia mecanismos que sean blancos específicos de esta. Así, por ejemplo, en el caso de pacientes con sepsis, es importante determinar si el paciente presenta o no coagulopatía inducida por sepsis, ya que no tiene sentido anticoagular a un paciente que no tenga activación excesiva de coagulación y microtrombosis diseminada. Por lo tanto, los pacientes deben estar estratificados e incluidos en una terapia solo si es probable que se beneficien (Helms *et al.*, 2023).

Por otro lado, el tratamiento debe aplicarse en la etapa oportuna de la enfermedad para ejercer de mejor forma su función, sea esta profiláctica, antitrombótica o antiinflamatoria. Así en el caso de sepsis bacteriana, la anticoagulación en una etapa muy temprana de la hemostasia adaptativa para la prevención de la inmunotrombosis puede ser perjudicial, mientras que, en una etapa trombótica posterior, puede ser beneficiosa (Helms *et al.*, 2023).

## FÁRMACOS ANTITROMBÓTICOS Y ANTIINFLAMATORIOS CLÁSICOS

**Aspirina.** Además de la actividad antiplaquetaria incuestionable que ejerce inhibiendo la producción de tromboxano A<sub>2</sub> por medio de las enzimas ciclooxigenasas, el tratamiento con ácido acetilsalicílico puede regular a la baja niveles de PCR, destacando las propiedades antiinflamatorias de esta molécula (Figura 4.1). Aunque la aspirina puede tener beneficios en un subconjunto de pacientes con neumonía y en pacientes críticos, parece tener un impacto limitado sobre la gravedad de la sepsis y no mejorar la supervivencia (Jackson *et al.*, 2019).

**La heparina no fraccionada.** Es un GAG natural que se une a la antitrombina III (ATIII), induciendo un cambio conformacional que conduce a un aumento de 1000 veces en la

capacidad de la ATIII para inhibir la trombina, el FXa y otras serinas proteasas de la coagulación (Jackson *et al.*, 2019).

Dentro de las limitaciones con terapia se ha observado que, en los casos de pacientes con sepsis, la terapia con heparina no reduce la mortalidad, las lesiones orgánicas o la estancia hospitalaria y se asocia con un mayor riesgo de hemorragia. Por otro lado, existe el riesgo de desarrollar en algunos pacientes un cuadro denominado trombocitopenia inducida por heparina (HIT), que surge como una complicación (trombocitopenia, trombosis) producto del tratamiento (heparina) (Helms *et al.*, 2023).

**Heparinas de bajo peso molecular (HBPM).** Han demostrado ser muy eficaces y seguras en la reducción de la gravedad de pacientes sépticos, disminuyendo también la mortalidad, sin embargo, a expensas de un aumento del sangrado. Aún está por demostrar el beneficio más amplio del tratamiento con heparina no fraccionada en la tromboinflamación (Helms *et al.*, 2023).

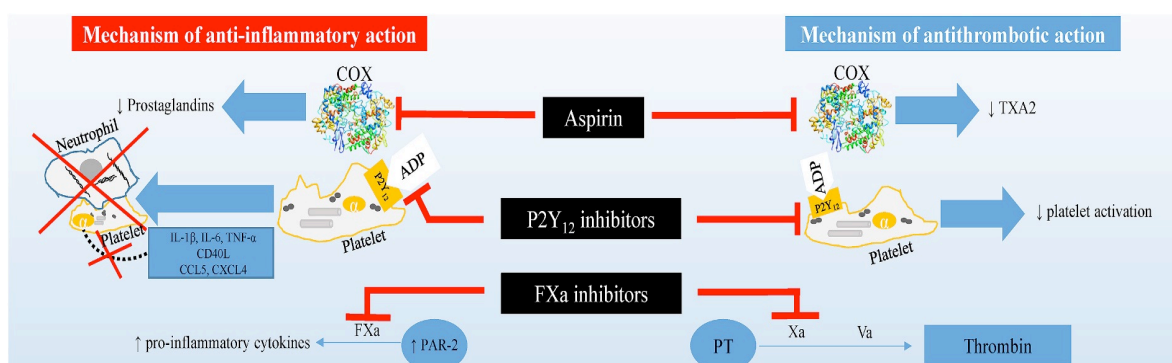
**Anticoagulantes orales directos.** Los inhibidores del factor Xa influyen en el proceso de inflamación actuando sobre la señalización PAR-1 y PAR-2 (Figura 4.1). La expresión del gen IL-6 por el óxido nítrico, cuya liberación es inducida por FXa, es otro concepto fisiopatológico basado en la manipulación de factores transcripcionales por alteraciones en el estado redox celular. Además, FXa mejora la expresión de la esfingosina quinasa-1 y, en consecuencia, esfingosina-1-fosfato, que es un potente mediador de la barrera endotelial barrera y de diversas funciones celulares, a saber, el reclutamiento de leucocitos a través de una mayor expresión de moléculas de adhesión. La capacidad de los inhibidores del FXa para influir en la activación de PAR podría ser el mecanismo responsable de los efectos ateroprotectores adicionales de esta categoría de fármaco en comparación con el tratamiento con antagonista de la vitamina K. Sin embargo, la hipótesis antiinflamatoria de los anticoagulantes orales directos aún no se ha probado directamente en ensayos clínicos a gran escala (Oikonomou *et al.*, 2020).

**Glucocorticoides.** Los glucocorticoides se unen a los receptores de glucocorticoides citoplasmáticos y se translocan al núcleo donde se unen a los elementos de respuesta de glucocorticoides en las regiones reguladoras de los genes diana. Son potentes agentes antiinflamatorios que inhiben la activación excesiva de las células inmunes y la producción de citoquinas. Los glucocorticoides se han asociado con un mayor riesgo de TEV en pacientes tratados por enfermedades inflamatorias. La administración oral de prednisolona

durante 10 días induce un estado procoagulante como lo demuestra un aumento en la velocidad de la generación de trombina y los niveles plasmáticos elevados de FvW e inhibidor del activador de plasminógeno-1, lo que sugiere que los glucocorticoides son procoagulantes, independientemente de las condiciones subyacentes de un paciente (Ma & Willey, 2022).

#### Figura 4.1

Mecanismos de acción antitrombótica y antiinflamatoria de los fármacos antitrombóticos clásicos.



*Nota.* Los fármacos antitrombóticos clásicos además de alterar mecanismos que generan trombos, también se ha visto que presentan propiedades inflamatorias, inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias principalmente. **Fuente:** Oikonomou *et al.*, 2020.

### NUEVAS TERAPIAS ANTIINFLAMATORIAS

#### Terapias Dirigidas a los Neutrófilos y la NETosis

Identificar a los neutrófilos como contribuyentes importantes a la trombosis ofrece la posibilidad de nuevas opciones preventivas y/o terapéuticas para la trombosis. Dirigirse a los neutrófilos ofrece el escenario ideal en el que la disminución del riesgo de trombosis tiene una alteración mínima en la hemostasia (Kapoor *et al.*, 2018).

Diversos estudios han demostrado que el agotamiento de los neutrófilos disminuye el tamaño del trombo, y si bien la disminución de los neutrófilos no es una opción terapéutica práctica, se demuestra la importancia de los neutrófilos en la generación de un trombo, lo que sugiere que apuntar a la actividad de los neutrófilos puede alterar la formación del trombo. Dado que las NETs están significativamente implicados en la generación de un

trombo, apuntar a este aspecto de la actividad de los neutrófilos es una opción muy atractiva (Kapoor *et al.*, 2018).

**ADNasas.** En los últimos años se han explorado varias terapias dirigidas, centradas en diferentes pasos de NETosis. Las ADNasas han demostrado tromboprotección en modelos murinos de trombosis arterial y venosa. Por lo tanto, la ADNasa ofrece una opción atractiva que podría usarse potencialmente para degradar las NETs preformados (De Nardi *et al.*, 2023). La ADNasa es una nucleasa que descompone la columna vertebral del ADN de las NETs; sin embargo, para ejercer sus efectos necesita la adición de agentes fibrinolíticos. La terapia combinada de ADNasa con otras terapias (por ejemplo, con el activador tisular del plasminógeno) ha proporcionado resultados más efectivos (Kapoor *et al.*, 2018).

El fármaco se denomina ADNasa1 y se observó inicialmente en bacterias que evolucionaron para no sufrir la acción de las NETs. Estudios recientes han utilizado el biomarcador histona citrulinada H3 (H3Cit) mediante inmunotinción para cuantificar la presencia de NETs. Los resultados observados fueron una excesiva cantidad de H3Cit en eventos tromboembólicos y también el mejor pronóstico cuando se utiliza ADNasa1 además del tratamiento estándar (De Nardi *et al.*, 2023).

Hasta la fecha, la ADNasa 1 ha sido aprobada como tratamiento nebulizado en la fibrosis quística y existen varios ensayos que evalúan la eficacia y seguridad de la administración intravenosa de ADNasa después de la trombectomía (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

**Inhibidores de PAD4.** Otro objetivo para interrumpir la formación de NETs y prevenir su liberación es la enzima PAD4, que es esencial en la etapa inicial de la formación de las NETs. Su acción consiste en inhibir la enzima PAD4, responsable de la descondensación de la cromatina y, en consecuencia, de la formación de las NETs (De Nardi *et al.*, 2023). La inhibición de la PAD4 ha ido ganando interés y se han desarrollado varios inhibidores. Inicialmente se crearon inhibidores pan-PAD, como compuestos derivados de la benzol-arginina; sin embargo, aunque existen resultados prometedores en ensayos preclínicos, han aparecido algunos efectos secundarios no deseados en humanos que impiden su uso en la práctica clínica. Recientemente, los inhibidores dirigidos de PAD, como el inhibidor de PAD4 (GSK199 y GSK484), parecen ofrecer mejores resultados, inhibiendo PAD4 con alta especificidad (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

**Heparinas fraccionadas y no fraccionadas.** Se ha informado que la heparina, un anticoagulante de uso común, desintegra las NETs y previene las interacciones entre plaquetas e histonas. Además, la ADNasa 1 funciona más eficazmente en presencia de serina proteasas (plasmina o trombina) que eliminan las proteínas unidas al ADN. Este efecto de las serinas proteasas puede ser imitado por la heparina, que actúa desplazando las histonas de la cromatina. Por lo tanto, el uso de ADNasa 1 en combinación con heparina puede disminuir el riesgo de eventos tromboticos recurrente (Kapoor *et al.*, 2018). La heparina también es capaz de bloquear la HMGB1 en la superficie de los macrófagos, inhibiendo así la producción de citoquinas proinflamatorias. Dosis bajas de heparina de bajo peso molecular interfieren con la autofagia de los neutrófilos y la movilización del contenido de los gránulos que son necesarias para la formación de NETs (Kapoor *et al.*, 2018). Las heparinas bloquean la P-selectina, limitando así la diáfonía entre plaquetas y neutrófilos. Además, inhiben la respuesta de neutrófilos y la formación NETs, y reducen la liberación de IL-1 $\beta$ , IL-6, E-selectina e ICAM-1 (Ma & Willey, 2022).

**Inmunomoduladores.** Se ha demostrado que numerosos inmunomoduladores disminuyen la producción de mediadores inflamatorios y ROS en los neutrófilos, disminuyendo así la generación de NETs y también la disfunción endotelial. La cloroquina, un inmunomodulador, bloquea la generación de NETs al inhibir la autofagia, la degradación lisosomal y aumentar la eliminación de las vesículas lisosomales. De manera similar, la hidroxicloroquina, un derivado de la cloroquina, actúa mediante mecanismos similares y se ha demostrado que disminuye el riesgo de eventos tromboembólicos en pacientes con LES (Kapoor *et al.*, 2018).

**ADAMTS13 recombinante.** Dado que los neutrófilos se acumulan activamente a lo largo de la pared endotelial durante la generación de un trombo, la interferencia con el reclutamiento de neutrófilos en el endotelio también puede disminuir el riesgo de trombosis. Los neutrófilos utilizan interacciones dependientes PSGL-1 con el FvW endotelial tanto en condiciones estáticas como de flujo. Por lo tanto, la inhibición de estas interacciones evitaría el rodamiento de los neutrófilos seguido de una adhesión firme de los neutrófilos a la pared del vaso. Varios estudios que involucran ADAMTS13, una proteasa que escinde específicamente el FvW (un mediador de la activación plaquetaria por las NETs) informaron una disminución de la trombosis y una mayor trombólisis con la administración de

ADAMTS13 recombinante. Estos hallazgos sugieren que ADAMTS13 recombinante puede ser útil tanto en el ámbito profiláctico como terapéutico (Kapoor *et al.*, 2018).

**Bloqueadores de P-selectina.** Apuntar a la P-selectina afecta la trombosis a través de múltiples mecanismos que incluyen interacciones neutrófilos-plaquetas, así como micropartículas ricas en FT. Consistentemente, la inhibición de la selectina P reduce el reclutamiento de neutrófilos en el revestimiento endotelial y se asocia con una disminución de la generación de NETs y protección contra la trombosis venosa (Kapoor *et al.*, 2018). El Inclacumab es un anticuerpo monoclonal contra la P-selectina en estudio. Durante los ensayos de fase 1, ha confirmado la seguridad y la dosificación, ya que no aumenta el tiempo de hemorragia (Sharma *et al.*, 2022).

### ***Terapias Dirigidas contra el Inflamosoma***

Recientemente se ha demostrado que la heparina, o una forma químicamente modificada de heparina sin función anticoagulante bloquea la liberación citosólica de LPS mediada por HMGB1, inhibiendo así la piroptosis impulsada por caspasa-11 para prevenir inmunotrombosis aberrante y posterior letalidad inducida por sepsis en ratones. Esto sugiere una posible solución al riesgo de hemorragia asociado con los fármacos anticoagulantes existentes y una perspectiva interesante para el desarrollo de nuevas terapias anticoagulantes. Con base en la seguridad de la terapia resulta más adecuado apuntar tanto a la inducción del FT mediada por PRR como a la activación del inflamosoma dentro de las células inmunes, en lugar del coágulo (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

La señalización del IFN tipo I y JAK-STAT inducida por PAMPs es necesaria para la expresión de genes estimulados por interferon, así como la caspasa-11. Baricitinib, ruxolitinib y tofacitinib son inhibidores de JAK clínicamente aprobados para el tratamiento de la artritis reumatoide y las neoplasias mieloproliferativas, por lo tanto, podrían redistribuirse potencialmente como inhibidores de la inmunotrombosis. Inhibidores de STING identificados recientemente, como los nitrofuranos (C-176 y C-178), indol ureas (H-151) y acrilamidas (BPK-21 y BPK-25), que modifican covalentemente STING, también podrían ser útiles. En particular, un estudio demostró que el tratamiento *ex vivo* con H-151 bloqueó la inducción del ARNm de FT en CE humanas primarias infectadas con SARS-CoV-2 (Ryan & O'Neill, 2022).

Dirigirse directamente a la activación del inflamosoma es otra estrategia que se ha demostrado que reduce la inmunotrombosis en varios modelos. MCC950 es un inhibidor altamente selectivo de NLRP3 que atenúa la activación plaquetaria y las lesiones multiorgánicas en un modelo sepsis murinos inducidos por LPS. De manera similar, el itaconato, un metabolito endógeno derivado del ciclo de Krebs y el itaconato de 4-octilo (4-OI), un derivado permeable a las células que es un potentemente antiinflamatorio, también bloquean la activación de NLRP3. Todo esto justifica más pruebas de estos inhibidores preclínicos de los inflamosomas canónicos (NLRP3) y no canónicos (caspasa-11) como tratamientos potenciales para la inmunotrombosis impulsada por inflamosomas (Ryan & O'Neill, 2022).

La inhibición de la activación de gasdermina D y la piroptosis se produce después del tratamiento con dimetilfumarato (DMF). El DMF es un fármaco clínicamente aprobado para el tratamiento de la esclerosis múltiple y la psoriasis, y ejerce sus efectos inmunomoduladores en parte bloqueando la inducción del IFN tipo I e inhibiendo la activación de NLRP3 en un modelo murino de colitis experimental mediante la activación del factor de inscripción regulador Nrf2. La activación de Nrf2 es protectora en un modelo de sepsis inducida por LPS y NF- $\kappa$ B, lo que respaldaría aún más las pruebas de DMF como agente antiinmunotrombótico, ya que la trombosis impulsada por FT ocurre mediante la activación de NF- $\kappa$ B (Ryan & O'Neill, 2022).

Finalmente, algunos fármacos antiinflamatorios utilizados en la práctica clínica diaria también pueden reducir la inmunotrombosis. La colchicina, utilizada frecuentemente en el tratamiento de la gota, reduce los eventos cardiovasculares en el estudio COLCOT, cuando se administró a pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio, este fármaco inhibe la inmunotrombosis al reducir la NETosis y atenúa la activación de NLRP3. Sin embargo, una limitación de la colchicina es que se excreta por vía renal, siendo tóxica en pacientes con enfermedad renal crónica, restringiendo su uso como tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Marcos-Jubilar *et al.*, 2023).

### ***Terapias Dirigidas contra el Complemento***

Estudios han demostrado el bloqueo *in vitro* de C5a con un anticuerpo murino disminuyó la respuesta de las citoquinas y la replicación viral en las infecciones por MERS-CoV. En humanos, la inhibición del complemento con eculizumab, un anticuerpo contra C5 que

previene la descomposición en C5a y C5b, se ha utilizado como tratamiento para la microangiopatía trombótica (MAT), que es una manifestación de diferentes escenarios clínicos caracterizados por una activación anormal del complemento. Dado el papel central del complemento en el LES, estudios recientes han mostrado resultados positivos con la terapia con eculizumab en casos seleccionados con afectación renal refractaria, especialmente con microangiopatía trombótica concomitante (Keragala *et al.*, 2018).

### ***Terapias Dirigidas contra las Alarminas***

Se sabe que varias proteínas plasmáticas, como la albúmina y la proteína C activada, son capaces de atenuar la toxicidad de las histonas circulantes; sin embargo se observan disminuciones significativas en los niveles de estas proteínas durante la sepsis. La pentraxina 3 (PTX3) es otra proteína plasmática que se coagrega con histonas, protegiendo así a las células endoteliales de la toxicidad. Curiosamente, la proteína C reactiva, un miembro de la subfamilia corta de pentraxina, atenúa la toxicidad de las histonas de manera similar. Con base en esto, se ha propuesto que las familias PTX3 son candidatos para el desarrollo como agentes terapéuticos (Iba & Levy, 2018).

### ***Terapias anti IL-1 $\beta$ /IL-1R***

En el 2019 con el estudio CANTOS (Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcome Study), se obtuvieron pruebas de que la respuesta inflamatoria impulsa el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis. CANTOS demostró que la administración de un anticuerpo anti IL-1 $\beta$  a pacientes que estaban cardiovascularmente estables después de un infarto de miocardio y tratados según las directrices actuales, redujo los principales eventos cardiovasculares adversos recurrentes. Desafortunadamente, esos resultados fueron caros, ya que estuvieron acompañados por un aumento estadísticamente significativo en las infecciones, incluidas algunas con desenlace fatal (Oikonomou *et al.*, 2020). Sin embargo, los ensayos clínicos sobre la eficacia de la inhibición de IL-1/IL-1R en COVID-19 muestran resultados variables. Actualmente, Anakinra, un antagonista recombinante de IL-1R, se están investigando como una terapia potencial para COVID-19 (Ma & Willey, 2022).

### ***Inhibidores de IL-6/IL-6R***

IL-6 es un factor inflamatorio y un mediador crucial en la diafonía entre la inflamación y la trombosis. La IL-6 se une al receptor de IL-6 unido a la membrana (mIL-6R) o al receptor

IL-6 soluble (sIL-6R), formando un complejo que actúa sobre la GP130 de la membrana celular, regulando así los niveles de citocinas a través de la traducción de señales por la vía de la Janus quinasa (JAK-STAT) y activando la transcripción de estas. Tocilizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido a IL-6R, que se une a mIL-6R y sIL-6R, ha obtenido la autorización de uso de emergencia de la FDA para tratar a los pacientes con COVID-19. Pacientes con COVID-19 severo que respondieron bien al Tocilizumab mostraron una reducción temprana en los niveles séricos de marcadores inflamatorios como PCR, IL-6, CXCL10, MCP-1 e IFN- $\gamma$ . Además de la inhibición de IL-6R, el agotamiento de IL-6 al neutralizar el anticuerpo es otra forma de inhibir la vía IL-6/IL-6R. Siltuximab es un anticuerpo monoclonal quimérico de ratón - humano recombinante contra IL-6 y es aprobado por la FDA para su uso en pacientes con enfermedad multicéntrica de Castleman. El Siltuximab se une directamente a IL-6 y al igual que el Tocilizumab, inhibe la señalización cis y trans de la IL-6 al evitar que IL-6 se una a mIL-6R y sIL-6R (Ma & Willey, 2022).

## **NUEVAS TERAPIAS ANTICOAGULANTES**

Los beneficios clínicos conocidos de las terapias anticoagulantes en estados tromboinflamatorios, como la sepsis y el accidente cerebrovascular, se han visto contrarrestados en gran medida por las complicaciones hemorrágicas, y es muy deseable desarrollar anticoagulantes más seguros con una función antiinflamatoria preservada. Ésta es la base para el desarrollo de variantes de PCa. También es posible que la inhibición de la vía de contacto de la coagulación resulte beneficiosa.

### ***Terapias Dirigidas al Endotelio***

Las propiedades anticoagulantes y antiinflamatorias naturales de las células endoteliales son críticamente importantes para limitar la trombosis microvascular, la inflamación y la lesión de los órganos. Por lo tanto, ha habido una evaluación extensa de los efectos de PCa, TM soluble o TFPI en pacientes con sepsis.

**Miméticos de heparina.** Proporcionar miméticos de heparina-proteoglicano para mejorar la regulación de la actividad plaquetaria y de la coagulación y suprimir la perturbación endotelial y las citoquinas proinflamatorias derivadas de leucocitos, puede proporcionar un camino para aliviar los trastornos tromboinflamatorios en el futuro. El compuesto antiplaquetario y anticoagulante (APAC), imitador de proteoglicano de heparina modelado

en tejido vascular, es un antitrombótico arterial de acción local y dirigido a lesiones que minimiza la activación inducida por colágeno y trombina y por complemento y protege contra lesiones orgánicas. (Kohli *et al.*, 2022).

**Proteína C activada.** Se ha identificado que la PCa muestra potentes propiedades de señalización antiinflamatoria y citoprotectora en múltiples tipos de células. La señalización de PCa se produce principalmente mediante PAR1 cuando PCa se une al EPCR. A pesar del fracaso de la PCa recombinante en el tratamiento de la sepsis grave, múltiples estudios han demostrado que los mecanismos citoprotectores y anticoagulantes de la PCa pueden atacarse de forma independiente, y se puede alterar una variedad de mutantes de PCa para que no posean actividad anticoagulante pero con actividad citoprotectora específica, lo que podría resultar terapéuticamente beneficioso en varios estados de enfermedades inflamatorias (Klavina *et al.*, 2022).

Se ha demostrado en muchos modelos preclínicos que PCa modula la tromboinflamación mediante la regulación de la señalización de las células inmunes tanto innatas como adaptativas. La administración de PCa exógena mejora la enfermedad e induce la curación de la mucosa al promover la integridad de la barrera, inhibir la adhesión de leucocitos, una citoquina proinflamatoria y la liberación de quimiocinas en modelos de colitis murina. La administración de PCa a un modelo preclínico de asma en ratones atenuó significativamente la inflamación de las vías respiratorias mediante una disminución del influjo de neutrófilos, DC y eosinófilos, una reducción de los niveles de citoquinas tipo 2 y la concentración de IgE en un lavado broncoalveolar (Klavina *et al.*, 2022).

Los intentos de tratar la inflamación de las vías respiratorias mediante la inhibición del FXa o limitando la actividad del FT dieron como resultado episodios hemorrágicos graves o eventos hemorrágicos, lo que pone de relieve el desafío de las estrategias anticoagulantes tradicionales para restringir la actividad de señalización proinflamatoria de las proteasas procoagulantes. Por el contrario, las variantes de PCa recombinantes selectivas de señalización y no anticoagulantes pueden representar una estrategia útil para abordar la inflamación alérgica de las vías respiratorias (Klavina *et al.*, 2022).

La administración de PCa recombinante a las CD *in vitro* altera la dinámica de su población, cambiando las células de un fenotipo de CD convencional proinflamatorio hacia un fenotipo de CD plasmocitoide antiinflamatorio y al mismo tiempo reduce la secreción de IL-6 e IL-10. La reprogramación de DC mediada por PCa hace que estas células sean menos efectivas

para cebar las células Th1 y Th2 *in vitro* y reduce la hiperreactividad en una exposición alérgica de las vías respiratorias *in vivo* (Klavina *et al.*, 2022).

PCa también puede regular la diferenciación y patogenicidad de las células Th17. La administración de PCa recombinante o la deficiencia del receptor de la PC inhibe la generación de células Th17 *in vitro* y mejora la encefalomielitis autoinmune mediada por Th17 *in vivo*. Además de inhibir las respuestas de las células T proinflamatorias, la PCa también mejora la generación de Treg antiinflamatorias y su funcionamiento supresor.

3K3A-APC, un mutante de PCa recombinante no anticoagulante, ejerce beneficios terapéuticos en modelos clínicos de enfermedad de alzheimer con una reducción de la deposición de A $\beta$ , una mejor integridad cerebrovascular y una disminución de las respuestas neuroinflamatorias. 3K3A-APC también promueve la integridad de la barrera hematoencefálica y previene el daño neuronal durante el accidente cerebrovascular isquémico en ratones con deficiencia de pericitos. Estos estudios indican que el tratamiento con PCa puede beneficiar las afecciones neurológicas asociadas con la pérdida de pericitos, como la enfermedad de alzheimer, la demencia y el envejecimiento (Klavina *et al.*, 2022).

### **Terapias Dirigidas a las Plaquetas**

Como los estudios con fármacos antiplaquetarios de la nueva era aún se encuentran en ensayos clínicos, aún no está claro si las estrategias emergentes, que tienen principalmente propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias con menos impacto sobre la hemostasia, serán efectivas. Esto se debe a que los enfoques terapéuticos anteriores que no alteran la coagulación y la perfusión tisular no han mejorado con éxito la supervivencia ni han reducido la lesión de órganos. Por lo tanto, las terapias eficaces y seguras basadas en los receptores plaquetarios siguen siendo un desafío para los investigadores (Sharma *et al.*, 2022).

**Dipiridamol.** El efecto antiplaquetario del Dipiridamol está mediado principalmente por la inhibición de las fosfodiesterasas plaquetarias, evitando así la degradación de cAMP y cGMP. Los niveles intracelulares elevados de estas moléculas median la inhibición de la activación plaquetaria. Además de sus efectos antiplaquetarios, se ha demostrado que el Dipiridamol tiene actividad antiinflamatoria (Ma & Willey, 2022).

**Antagonistas de GPIIb/IIIa.** Los antagonistas de GPIIb/IIIa bloquean la unión del fibrinógeno a la integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$  e inhiben la agregación plaquetaria. Estos inhibidores han

demostrado beneficios en modelos animales de sepsis. En un modelo de sepsis en ratas inducida por LPS, la administración de abciximab, un fragmento Fab que inhibe la activación de  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , redujo la fuga vascular y el posterior edema tisular. Además, el bloqueo de la integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$  retrasó la trombocitopenia, conservó los recuentos de glóbulos rojos y blancos y redujo el daño renal en un modelo de sepsis en babuino. Los antagonistas de la integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$  también se ha demostrado que reduce el daño endotelial y la mortalidad en modelos de sepsis en ratones, sin embargo, estos inhibidores no se han probado en humanos con sepsis (Jackson *et al.*, 2019).

**Antagonistas del receptor P2Y12.** Los antagonistas del receptor P2Y12 son agentes antiplaquetarios ampliamente utilizados que han demostrado reducir las interacciones plaquetas-leucocitos y alterar los biomarcadores inflamatorios, que se asocian con una mejor función pulmonar en modelos de neumonía en ratones. Sus propiedades antiinflamatorias adicionales que se asocian con una disminución de la selectina P plaquetaria, agregados plaquetas-leucocitos circulantes y CD40L y RANTES solubles. Los estudios han demostrado que la inhibición de P2Y12 y el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS) reducen la patología del producida en ratones por la infección con el virus de la influenza A. A pesar de tener efectos antitrombóticos y antiinflamatorios (Figura 4.1), estos fármacos no logran prevenir la progresión de la aterosclerosis ya establecida en los pacientes (Jackson *et al.*, 2019).

**Receptores portadores de ITAM.** Los avances en la definición de nuevas vías que promueven la tromboinflamación sugieren que los receptores plaquetarios que pertenecen a los receptores del motivo de activación basado en tirosina (ITAM) de inmunorreceptores pueden ofrecer objetivos terapéuticos alternativos. Las plaquetas contienen el receptor tipo lectina tipo 2 (CLEC-2), portador de ITAM, que se une a la podoplanina, y al receptor de colágeno, la glicoproteína VI (GPVI). Estos receptores son objetivos terapéuticos potencialmente atractivos, porque la deficiencia de cualquiera de ellos no produce un trastorno hemorrágico importante (Jackson *et al.*, 2019).

Los miméticos de GPVI, como Revacept, disminuyen el tamaño del infarto cerebral, el edema y mejoran el resultado después de un accidente cerebrovascular isquémico. En ensayos clínicos de fase 1, Revacept también pudo inhibir específica y eficientemente la agregación plaquetaria inducida por colágeno sin aumentar el sangrado. La administración de anticuerpos anti-GPVI en ratones brindan protección contra el accidente

cerebrovascular, así como contra la sepsis derivada de la neumonía, sin aumentar el sangrado. Además de esto, la eliminación específica de CLEC-2 (pero no de GPVI) reduce la trombosis en el hígado en un modelo murino de infección sistémica por *Salmonella typhimurium*. Sin embargo, el entusiasmo por CLEC-2 como diana terapéutica puede verse atenuado por el hallazgo de que la deficiencia de CLEC-2 conduce a una mayor inflamación sistémica y una lesión orgánica acelerada en modelos de sepsis en ratones (Jackson *et al.*, 2019).

La GPVI es un receptor de colágeno plaquetario esencial en la aterotrombosis, por lo que la inhibición de su dominio extracelular o de la señalización posterior puede inhibir la formación de trombos en la placa aterosclerótica. Los anticuerpos anti-GPVI pueden inhibir la agregación plaquetaria inducida por la placa aterosclerótica en condiciones estáticas y de flujo, por lo que se puede abordar la interacción GPVI-colágeno junto con otras terapias antiplaquetarias en pacientes con ruptura espontánea de la placa o lesión de la placa asociada a la intervención puede ser beneficioso (Sharma *et al.*, 2022).

**Receptor TLR4.** Debido a que las plaquetas a través de TLR4 actúan como centinelas inflamatorias y, por lo tanto, rodean y aíslan una infección, en la actualidad se están explorando terapias que afecten la señalización de plaquetas-TLR. El fármaco denominado Eritoran es un ejemplo de ello. Este se une competitivamente y antagoniza al TLR4 mientras imita la porción del lipídica A del LPS y actúa como un análogo sintético (Sharma *et al.*, 2022). Otro fármaco que actúa a nivel del receptor plaquetario TLR-4 es el TAK-242, un inhibidor de señalización mediado por TLR-4. Aunque en varios estudios se observó una tendencia hacia la reducción de la mortalidad, los esfuerzos para desarrollar inhibidores de TLR-4 se han suspendido, porque las mejoras esperadas no se lograron (Iba & Levy, 2018).

**Agregados plaquetas – leucocitos.** Es bien conocido que la interacción plaquetas-neutrófilos promueve respuestas tromboinflamatorias agudas. Además, la formación de agregados de plaquetas y neutrófilos conduce a obstrucción microvascular e inflamación en diversos trastornos tromboinflamatorios, incluidos los síndromes coronarios agudos, la lesión pulmonar como en las infecciones y el accidente cerebrovascular isquémico. Los receptores implicados en estas interacciones pueden explorarse por su potencial terapéutico. Los estudios preclínicos han confirmado que apuntar a moléculas de adhesión en plaquetas como P-selectina, PSGL-1, CD40L, GPIIb y  $\alpha_{IIb}\beta_3$  inhiben la formación de

agregados de neutrófilos-plaquetas y mejora la respuesta a la inflamación y reduce la disfunción microvascular (Sharma *et al.*, 2022).

**Estrés oxidativo plaquetario.** Junto con la aterosclerosis, varias enfermedades cardiovasculares (ECV) están asociadas con el estrés oxidativo plaquetario, por lo que diversas terapias cardiovasculares exploran la alteración de la función plaquetaria dependiente de la oxidación como medida preventiva o terapéutica. Se ha demostrado que tanto la Pravastatina como la aspirina inhiben la expresión del receptor 1 de LDL oxidado similar a la lectina (LOX-1) en las plaquetas al afectar favorablemente la liberación de ROS de las plaquetas activadas. El Dipyridamol en concentraciones terapéuticamente relevantes suprime la formación de ROS en células endoteliales y plaquetas, mejorando así el estado redox celular. Los flavonoides poliméricos alteran la liberación plaquetaria de intermediarios reactivos de oxígeno con una mayor liberación de NO y una producción atenuada de superóxido, lo que conduce a una atenuación inmediata de la liberación de sCD40L, un importante mediador inflamatorio. Los polifenoles catequina y quercetina actúan sinérgicamente para reducir el reclutamiento de plaquetas mediante inhibición de la activación de la NADPH oxidasa dependiente de PKC, lo que resulta en una regulación negativa de la GPIIb/IIIa plaquetaria mediada por NO (Sharma *et al.*, 2022).

La deficiencia de cualquiera de estos receptores no representa un riesgo importante de hemorragia, lo que los convierte en objetivos terapéuticos potencialmente atractivos en la infección grave (Sharma *et al.*, 2022).

### ***Terapias Dirigidas a la Hemostasia***

**Inhibidores de FvW.** Sobre la base del papel crítico de FvW en las complicaciones tromboinflamatorias, dirigirse a este es una intervención potencial atractiva. El FvW juega un papel fundamental en la fase inicial de la formación de trombos plaquetarios a través de la interacción entre su dominio A1 y la GPIb de plaquetas. Por lo tanto, la inhibición de la unión del dominio A1 a la GPIb puede prevenir el desarrollo de la formación de trombos plaquetarios. Caplacizumab, un nanoanticuerpo anti-dominio A1 del FvW, muestra una recuperación más rápida de los recuentos de plaquetas, menos sesiones de intercambio de plasma y estadías hospitalarias más cortas en pacientes con púrpura trombocitopénica trombótica (PTT). ARC1779, es un aptámero al dominio A1, que también se ha evaluado para el tratamiento de la PTT. Los estudios con este aptámero no han mostrado eventos

adversos graves como hemorragia, incluso en pacientes que tenían trombocitopenia severa. Recientemente se ha desarrollado un nuevo aptámero de ADN, TAGX-0004, dirigido al dominio A1. Actualmente está bajo investigaciones preclínicas. En comparación con Caplacizumab, TAGX-0004 muestra una unión igualmente potente a FvW e inhibición contra la formación de trombosis en diferentes condiciones de flujo sanguíneo (Ma & Willey, 2022).

**Inhibidores de FT.** El importante papel de la FT tanto en la inflamación como en la trombosis lo convierte en un objetivo potencial para la terapia. AB201 (de ARCA BioPharma) es una pequeña proteína recombinante anticoagulante de que inhibe selectivamente FT. Los datos sugieren que esta terapia de investigación tiene actividad anticoagulante, antiinflamatoria y antiviral que podría beneficiar a la trombosis e inflamación asociada a COVID-19. AB201 ha recibido la designación de vía rápida de la Administración de Drogas y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y un ensayo clínico aleatorizado con doble ciego de fase IIB (Aspen-COVID-19), investigando si este nuevo inhibidor de FT amortigua la tromboinflamación (Ma & Willey, 2022).

**Inhibición de FXI y FXII.** Los pacientes con deficiencia congénita de FXI, presentan una reducción del riesgo de tromboembolismo venoso o accidente cerebrovascular isquémico. Por otro lado, las personas con deficiencia de FXII no tienen tendencia a sangrar y la deficiencia de FXI rara vez causa sangrado espontáneo, aunque se produce un aumento del sangrado después de una prueba hemostática importante, como un traumatismo o cirugía. La vía de activación por contacto promueve la coagulación y facilita la inflamación al activar el sistema calicreína-cinina que genera bradicinina. Varios inhibidores farmacológicos de FXIIa han brindado protección contra la sepsis en ratas, sin un mayor riesgo de hemorragia (Jackson *et al.*, 2019).

Se han desarrollado varios enfoques para inhibir el FXIa, con resultados alentadores en estudios preclínicos. Entre estos inhibidores, el anticuerpo 14E11 y un inhibidor natural del veneno de serpiente (Fasxiator) han demostrado protección en modelos murinos de sepsis y trombosis oclusiva inducida por FeCl<sub>3</sub>. Además, los ensayos clínicos de fase 2 que utilizan oligonucleótidos anti-sentido del FXI han confirmado un papel importante del FXI en la promoción de la trombosis venosa en pacientes sometidos a artroplastia de rodilla, con un perfil de sangrado más seguro (Jackson *et al.*, 2019).

Por otro lado, se han realizado experimentos con 3F7, un anticuerpo totalmente humano recombinante que bloquea selectivamente FXIIa. En un modelo usando conejos y un sistema de oxigenación de membrana extracorpórea (ECMO) para terapia infantil, se vio que tanto 3F7 como la heparina evitaron la formación de coágulos dentro de la circulación extracorpórea. Aunque 3F7 proporcionó tromboprotección tan eficiente como la heparina, estos medicamentos diferían en gran medida en sus efectos sobre el sistema hemostático. En marcado contraste con la heparina, la terapia 3F7 no aumentó el sangrado en este entorno clínicamente relevante (Kenne *et al.*, 2015).

**Inhibidores de Polifosfatos.** Los polifosfatos (PolyP) han surgido en los últimos años como un regulador potencialmente importante de la coagulación y la inflamación, por lo tanto, un objetivo potencial para reducir la tromboinflamación. Los PolyP de cadena larga se acumula en microorganismos infecciosos y también es liberado por las plaquetas durante la exocitosis de gránulos densos. PolyP actúa en varios pasos de la cascada de coagulación para mejorar la tasa de generación de  $\alpha$ -trombina. Los antagonistas de PolyP se han considerado por su eficacia como anticoagulantes *in vitro*, así como agentes antitrombóticos y antiinflamatorios *in vivo*. Estudios recientes de coagulación *in vitro* y modelos de ratón *in vivo* de trombosis venosa y arterial, tromboembolismo pulmonar y fuga vascular han demostrado que los inhibidores de PolyP tienen efectos anticoagulantes y antiinflamatorios, mientras que tienen menos efectos secundarios hemorrágicos que la heparina. Sin embargo, la mayoría de los inhibidores de PolyP probados hasta la fecha, incluidas las sustancias policatiónicas, como la polietilenimina, los dendrímeros de poliamidoamina y la polimixina B, tienen una toxicidad significativa *in vivo* (Jackson *et al.*, 2019).

**Trombomodulina soluble.** La trombomodulina (TM) ejerce efectos anticoagulantes tanto en su forma unida a membranas como en formas solubles, principalmente a través de la activación de PC. La TM humana recombinante soluble (rhTM) se encuentra actualmente en evaluación clínica para el tratamiento de la sepsis grave. rhTM tiene varias ventajas teóricas sobre PCa humana recombinante, incluido menos sangrado (debido a su dependencia de niveles elevados de trombina para ejercer un efecto anticoagulante), y con acciones adicionales independientes de PCa, incluida la supresión de complemento, endotoxina y proteínas HMGB-1. ART-123, un rhTM, se ha probado exhaustivamente en Japón, demostrando mayor eficacia y seguridad en el tratamiento de la CID en relación con la heparina. En los países occidentales, los ensayos de fase 2b de pacientes con sepsis

con sospecha de CID han demostrado una menor concentración de dímero D, fragmentos F1.2 de protrombina y complejos trombina-antitrombina (TAT) en pacientes que reciben ART-123 (Jackson *et al.*, 2019).

**Inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).** Los ensayos preclínicos han demostrado que el TFPI recombinante (rTFPI) atenúa las respuestas de citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-8) en un modelo de bacteremia inducida en cerdos, sin mejorar la supervivencia. Se ha probado rTFPI y se ha demostrado que es seguro en humanos sanos después de una inyección intravenosa de endotoxina en bolo. rTFPI atenuó la generación de trombina inducida por endotoxinas con bloqueo completo de la coagulación mediante dosis altas de rTFPI. Curiosamente, el rTFPI no afectó los cambios inducidos por endotoxinas en el sistema fibrinolítico, activación de leucocitos, liberación de citoquinas y quimioquinas, activación de células endoteliales o la respuesta de fase aguda. rTFPI también se ha probado en estudios de fase 2 sobre pacientes con sepsis grave, mostrando ser seguro y eficaz, con reducción de los niveles de complejos TAT e IL-6 y una tendencia hacia la reducción de la mortalidad. Sin embargo, los resultados de un estudio aleatorio de fase 3 multicéntrico, doble ciego, controlado con placebo, fracasó en demostrar un efecto del rTFPI (Tifacogina) sobre la mortalidad por todas las causas (Jackson *et al.*, 2019).

**Fibrinolíticos.** Tenecteplasa es un análogo de t-PA que es más selectivo de la fibrina que el t-PA natural y es resistente a los inhibidores de t-PA. Como agente fibrinolítico, la Tenecteplasa convierte el plasminógeno en plasmina, lo que degrada la fibrina a sus fragmentos, incluido el dímero D, y resuelve los coágulos. La Tenecteplasa se ha utilizado para tratar el accidente cerebrovascular isquémico, el infarto de miocardio y la EP. Se ha propuesto que la Tenecteplasa puede beneficiar la insuficiencia respiratoria asociada a PE en COVID-19. Se necesitan más ensayos clínicos para evaluar la eficacia del uso de fibrinolíticos y lo más importante para determinar qué pacientes se beneficiarían más de la terapia.

## TERAPIA CON MÚLTIPLES FÁRMACOS

Un ejemplo de cómo el uso de múltiples fármacos dirigidos contra componentes celulares y/o moleculares de mecanismos tromboinflamatorios pueden potencian la resolución adecuada y segura de una enfermedad trombótica, viene dado por el posible uso

terapéutico que se le puede dar al atacar el eje NET-FvW en el accidente cerebrovascular isquémico agudo (ACV).

El ACV causa la muerte masiva en todo el mundo y solo dos tratamientos son aprobados por la FDA hasta la fecha: (1) la eliminación mecánica del trombo a través de la trombectomía endovascular y (2) la trombólisis farmacológica mediante el uso de t-PA que promueve la degradación de la fibrina en el trombo mediante la activación del plasminógeno endógeno (Yang *et al.*, 2020)

Experimentos *in vitro* han mostrado que la adición de ADN extracelular e histonas a la fibrina aumenta el grosor, la rigidez y la estabilidad de la red de fibrina, lo que hace que el coágulo sea más difícil de disolver por t-PA, por lo que estos resultados sugirieron que las NETs alteran las propiedades mecánicas del trombo, aumentando la resistencia del trombo al tratamiento endovascular y la terapia con t-PA recombinante (Yang *et al.*, 2020).

Por otro lado, se sabe que el FvW se incorpora a la red de fibrina a través de la reticulación covalentemente por el factor XIIIa o de una manera dependiente de trombina. Los pacientes ACV con baja actividad ADAMTS13 pueden tener una recuperación neurológica temprana deficiente después de la terapia rt-PA, lo que implica que ADAMTS13 favorece el efecto trombolítico de rt-PA (Yang *et al.*, 2020).

Con base en esto, se ha planteado que en el ACV dirigirse al eje NET-FvW con ADNasa I y/o ADAMTS13 es una estrategia terapéutica potencial para la ACV tratada con rt-PA.

### **TERAPIAS FUTURAS CONTRA LA TROMBOINFLAMACIÓN**

En la actualidad múltiples moléculas y vías de señalización están siendo estudiadas como blancos terapéuticos para el tratamiento de la tromboinflamación. Con base en sus propiedades antiinflamatorias y antitrombóticos los nuevos fármacos en distintas fases de investigación buscar contrarrestar diversas patologías de forma profiláctica o terapéutica.

En enfermedades hematológicas como la drepanocitosis, los estudios actuales tienen el objetivo de reducir la adhesión de los leucocitos a la pared de los vasos sanguíneos y, por lo tanto, detener el inicio de procesos vaso oclusivos en la drepanocitosis, mediante el antagonista de la P-selectina, rivipansel (GMI-1070). Los estudios de fase 2 han demostrado que GMI-1070 mejora los resultados clínicos, como el tiempo hasta la resolución de la crisis, el tiempo hasta el alta y el uso de opioides. El Crizanlizumab, un

anticuerpo monoclonal que neutraliza la actividad de la selectina P en un ensayo de fase 2, redujo la incidencia de complicaciones vasooclusivas (dolor, priapismo, síndrome torácico agudo, secuestro) cuando se utiliza en dosis más altas. Dado el probable papel importante del TNF- $\alpha$  en el inicio y la propagación de la vasooclusión, los bloqueadores del TNF- $\alpha$ , como etanercept o infliximab, podrían ser de algún beneficio (Conran & Belcher, 2018).

**Tabla 4.1**

*Enfoques terapéuticos futuros hacia la tromboinflamación en la aterosclerosis.*

<b>Agente</b>	<b>Blanco</b>	<b>Mecanismo de acción</b>
<b>Inclacumab</b>	Antagonista de la P-selectina	Disminuye el rodamiento y la formación de agregados plaquetas – leucocitos.
<b><i>Akkermansia muciniphilla</i></b>	Microbioma intestinal	Suprime la endotoxemia metabólica. Disminuye la apoptosis. Disminuye la agregación plaquetaria.
<b>Roseburia intestinalis</b>	Microbioma intestinal	Inhibición del inflamosoma NLRP3 Inhibe la vía NF-kB Inhibe la agregación plaquetaria
<b>MLN1202</b>	Bloqueo del eje CCR2/CCL2	Disminuye el reclutamiento de monocitos. Disminuye los agregados plaquetas – monocitos. Disminuye la activación y agregación plaquetaria.
<b>MKEY</b>	Bloqueo de CCL5-CXCL4	Disminuye el reclutamiento de leucocitos y la formación de NETs.
<b>SMI 6860766</b> <b>SMI 6877002</b>	Antagonismo del ligando CD40-CD40	Disminuye la producción de ROS

**Fuente:** Tomado y traducido de Oikonomou *et al.*, 2020.

En otras enfermedades como la aterosclerosis, también se han señalado las citoquinas inflamatorias como blancos terapéuticos (IL-1 $\beta$ ). A nivel de activación plaquetaria, los datos acumulados son alentadores para el Inclacumab (antagonista de la selectina P), ya que ha demostrado ser eficaz para atenuar la inflamación y la lisis temprana del trombo. Sin embargo, los estudios de pacientes con síndrome coronario agudo tratados con inclacumab, si bien redujeron la liberación de troponina, no alteraron los eventos adversos en el ensayo SELECT-ACS. Esto podría deberse a la expresión de otra selectina más, la molécula de adhesión E-selectina a través de la activación endotelial por el factor plaquetario 4 u otras citoquinas. Tal vez un enfoque dual, que incluya la inhibición tanto de P- como de La E-selectina es necesaria en la aterotrombosis (Wagner & Heger, 2022). Otros de las nuevas opciones terapéuticas en la aterosclerosis se muestran en la Tabla 4.1.

## CONCLUSIONES

### **VÍNCULO ENTRE LA INFLAMACIÓN Y LA TROMBOSIS.**

Existe una clara y comprobada interacción/cooperación entre los componentes del sistema inmune innato responsables de los procesos inflamatorios y la hemostasia, en los mamíferos y en el ser humano, los cuales evolutivamente se originan de vías ancestrales compartidas, desde al menos el surgimiento de los invertebrados. La interacción de ambos sistemas es bidireccional, cooperando uno en el desarrollo del otro tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

### **DEFINICIÓN DE INMUNOTROMBOSIS Y TROMBOINFLAMACIÓN.**

Actualmente existe un consenso generalizado y aceptado por la comunidad científica internacional, acerca del significado del término “inmunotrombosis”, con base en la definición propuesta por Engelman y Massberg, no así para definir el proceso patológico en el que se desarrolla la inmunotrombosis de forma aberrante.

Con base en la revisión de la literatura científica publicada hasta la actualidad, el término “tromboinflamación” es el que ha sido mayormente utilizado para describir los procesos que involucran coagulopatías (trombosis) causadas a partir de una inmunotrombosis descontrolada y aberrante.

### **PRINCIPALES COMPONENTES CELULARES DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN.**

Las células endoteliales, los neutrófilos, los monocitos/macrófagos y las plaquetas son los principales actores celulares mejor descritos dentro de las respuestas inmunotrombóticas y tromboinflamatorias. Se conoce muy bien los mecanismos mediante los cuales se da la activación de cada uno de ellos, la interacción entre ellos mismos, la interacción con los componentes moleculares y los procesos para la activación de la hemostasia y la trombosis. Para las demás células de origen hematopoyético se ha descrito solo parcialmente su contribución con la inmunotrombosis y la tromboinflamación.

## **PRINCIPALES COMPONENTES MOLECULARES DE LA INMUNOTROMBOSIS Y LA TROMBOINFLAMACIÓN.**

Diversos componentes humorales del sistema inmune innato (proteínas del complemento, proteínas de fase aguda y citoquinas) y de la hemostasia (UL-FvW, factores de la coagulación y la PCa) interactúan entre ellos y actúan sobre los componentes celulares de manera directa o indirecta, activándolos e induciendo la expresión de moléculas de adhesión y la liberación de citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento durante los procesos inflamatorios y trombóticos.

## **MÚLTIPLES MECANISMOS DE INMUNOTROMBOSIS Y TROMBOINFLAMACIÓN SON DESCONOCIDOS AÚN.**

En la actualidad, existen múltiples mecanismos desconocidos a través de los cuales se desarrolla la inmunotrombosis y la tromboinflamación. Algunos de ellos son: **(a)** En la estimulación de la NETosis, se desconoce el papel que juega la interacción entre CLEC2 plaquetario y podoplanina endotelial; **(b)** Se desconoce la medida en la que las NETs podrían contribuir a las manifestaciones obstétricas en el SAF y si los anticuerpos anti- $\beta_2$ GPI brindan la posibilidad de expansión del epítipo a los autoantígenos tradicionales del lupus, como el ADN bicatenario y la cromatina en algunos pacientes; **(c)** En las enfermedades alérgicas existe una desregulación de la actividad hemostática y fibrinolítica, sin embargo los mecanismos inflamatorios subyacentes a esta desregulación hemostática, como los niveles elevados de FT soluble, PAI-1 y TAFI que se encuentran en el esputo de los pacientes con asma, no se conocen bien; **(d)** Se necesita mayor investigación para comprender más a fondo los mecanismos involucrados en las interacciones celulares: leucocitos/plaquetas – células tumorales; **(e)** Se desconoce cuáles son los objetivos proteicos de la citrulinación de PAD4 que son necesarios para el ensamblaje del inflamasoma y cuáles son los sustratos intracelulares de la caspasa 1, cuya escisión es necesaria para que se produzca la NETosis. Comprender esto dará una mejor idea de cómo abordar el neutrófilo en la tromboinflamación; **(f)** Respecto a la evaluación del efecto del estrés sobre la hipercoagulabilidad diversas investigaciones han generado resultados dispares, por lo que se requieren estudios más extensos para evaluar la base mecanicista de estos cambios biológicos y su posible impacto a largo plazo en otros parámetros hemostáticos.

## **NATURALEZA DE LAS PATOLOGÍAS TROMBOINFLAMATORIAS**

Las patologías tromboinflamatorias son de muy diversa naturaleza y aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento de los mecanismos tromboinflamatorios que se desarrollan en cada una, todavía existen vacíos en ese conocimiento, que es crucial abordar para la elaboración de terapias exitosas. Algunas de estas patologías son: enfermedades inflamatorias estériles (aterosclerosis, accidente cerebrovascular, tromboembolismo venoso), enfermedades inflamatorias no estériles (sepsis por virus, bacterias, hongos y protozoarios), enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, síndrome anti fosfolípidos, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, vasculitis sistémicas y miopatías inflamatorias), enfermedades hematológicas (Anemias hemolíticas, hemoglobinuria paroxística nocturna, drepanocitosis, síndrome urémico hemolítico atípico), enfermedades de neoplasias malignas y otras patologías (alergias, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad de injerto versus huésped, alteraciones del estrés y ritmo circadiano).

## **TROMBOINFLAMACIÓN EN PEDIATRÍA**

Existe escasa información de cómo se dan los mecanismos tromboinflamatorios en niños. Gracias a investigaciones en neonatos se logró descubrir el factor inhibidor de NETs neonatal (nNIF). Es necesaria más investigación en esta población.

## **AMPLIA OFERTA DE OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LAS ENFERMEDADES TROMBOINFLAMATORIAS**

Además de los antiinflamatorios y anticoagulantes clásicos, utilizados en la terapia para las enfermedades tromboinflamatorias, próximamente los profesionales en medicina tendrán a disposición una gran variedad de fármacos de distinta composición (anticuerpos monoclonales, aptámeros, proteínas recombinantes análogas a sustancias endógenas, etc.) y con distintas dianas (componente del sistemas inmune innato, componentes del hemostásico, componentes celulares, componentes del sistema del complemento, etc.) como parte de un nuevo repertorio terapéutico; ya que en la actualidad se encuentran en marcha diversos de estudios clínicos en distintas fases de investigación para el tratamiento de patologías con mecanismos tromboinflamatorios.

## **USO ADECUADO DE LOS FÁRMACOS EN LA TERAPIA ANTI TROMBOINFLAMATORIA.**

Para la obtención de resultados clínicos óptimos con los nuevos tratamientos disponibles, los profesionales en salud deberán considerar varios factores, entre ellos: el momento del inicio de la terapia en relación con el curso de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad en términos del grado de trombosis e inflamación, los factores de riesgo trombóticos individuales y la posibilidad de brindar terapias combinadas que produzcan un efecto sinérgico entre ellas. Además, se necesitan más ensayos clínicos que aporte suficiente evidencia científica del uso adecuado de las nuevas opciones terapéuticas.

## **BIOMARCADORES DE TROMBOINFLAMACIÓN Y MEDICIÓN DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA**

Muchos de los biomarcadores utilizados para evaluar la tromboinflamación no están disponibles a nivel clínico y son utilizados principalmente en ensayos clínicos de investigación. Algunos de estos biomarcadores son: EPCR soluble, TM soluble, ATIII, FvW, P-selectina soluble, CD40L, ADN libre, complejos ADN-MPO, Histona H3 citrulinada, calprotectina, C5a circulante, C5b-9 soluble, microvesículas, entre otros. Los pacientes con niveles elevados de estos biomarcadores tienen mayor riesgo de desarrollar complicaciones y mortalidad, respecto a la población con niveles normales.

En la medición de la respuesta fisiológica al tratamiento con las nuevas opciones terapéuticas contra la tromboinflamación, se necesitan más estudios para comprender no solo como medir la respuesta del organismo por medio de biomarcadores, sino que también como se afectan o no las actuales pruebas de laboratorio (por ejemplo, los tiempos de coagulación).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aksu, K., Donmez, A., & Keser, G. (2012). Inflammation-Induced Thrombosis: Mechanisms, Disease Associations and Management. In *Current Pharmaceutical Design* (Vol. 18).
- Anitua, E., Prado, R., & Padilla, S. (2022). Evolutionary Insight into Immunothrombosis as a Healing Mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15). <https://doi.org/10.3390/ijms23158346>
- Cela de Julian, E., & Aragonés, J. H. (2017). *Hematología práctica: interpretación del hemograma y del estudio de coagulación*. [www.aepap.org](http://www.aepap.org)
- Chen, Y., Li, X., Lin, X., Liang, H., Liu, X., Zhang, X., Zhang, Q., Zhou, F., Yu, C., Lei, L., & Xiu, J. (2022). Complement C5a induces the generation of neutrophil extracellular traps by inhibiting mitochondrial STAT3 to promote the development of arterial thrombosis. *Thrombosis Journal*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12959-022-00384-0>
- Conran, N., & Belcher, J. D. (2018). Inflammation in sickle cell disease. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 68(2–3), 263–299. <https://doi.org/10.3233/CH-189012>
- de Bont, C. M., Boelens, W. C., & Pruijn, G. J. M. (2019). NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship. In *Cellular and Molecular Immunology* (Vol. 16, Issue 1, pp. 19–27). Chinese Soc Immunology. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0024-0>
- De Nardi, A. C., Coy-Canguçu, A., Saito, A., Florio, M. F., Marti, G., Degasperi, G. R., & Orsi, F. A. (2023). Immunothrombosis and its underlying biological mechanisms. In *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. Elsevier Editora Ltda. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.05.008>
- Delabranche, X., Helms, J., & Meziani, F. (2017). Immunohaemostasis: a new view on haemostasis during sepsis. In *Annals of Intensive Care* (Vol. 7, Issue 1). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1186/s13613-017-0339-5>
- Denorme, F., Ajanel, A., & Campbell, R. A. (2023). Immunothrombosis in Neurovascular Disease. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 102298. <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2023.102298>
- Dix, C., Zeller, J., Stevens, H., Eisenhardt, S. U., Shing, K. S. C. T., Nero, T. L., Morton, C. J., Parker, M. W., Peter, K., & McFadyen, J. D. (2022). C-reactive protein, immunothrombosis and venous thromboembolism. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1002652>
- Donat, C., Kölm, R., Csorba, K., Tuncer, E., Tsakiris, D. A., & Trendelenburg, M. (2020). Complement C1q Enhances Primary Hemostasis. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01522>

- Emmi, G., Silvestri, E., Squatrito, D., Amedei, A., Niccolai, E., D'Elia, M. M., Della Bella, C., Grassi, A., Becatti, M., Fiorillo, C., Emmi, L., Vaglio, A., & Prisco, D. (2015). Thrombosis in vasculitis: From pathogenesis to treatment. In *Thrombosis Journal* (Vol. 13, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12959-015-0047-z>
- Engelmann, B., & Massberg, S. (2013a). Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 34–45). <https://doi.org/10.1038/nri3345>
- Engelmann, B., & Massberg, S. (2013b). Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 34–45). <https://doi.org/10.1038/nri3345>
- Esmon, C. T. (2003). Inflammation and thrombosis. In *J Thromb Haemost* (Vol. 1).
- Esmon, C. T. (2005). The interactions between inflammation and coagulation. In *British Journal of Haematology* (Vol. 131, Issue 4, pp. 417–430). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05753.x>
- Franchi, T., Eaton, S., De Coppi, P., & Giuliani, S. (2019). The emerging role of immunothrombosis in paediatric conditions. In *Pediatric Research* (Vol. 86, Issue 1, pp. 19–27). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0343-6>
- Gabay, C. (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Research and Therapy*, 8(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1186/ar1917>
- Gaertner, F., & Massberg, S. (2016). Blood coagulation in immunothrombosis—At the frontline of intravascular immunity. In *Seminars in Immunology* (Vol. 28, Issue 6, pp. 561–569). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.10.010>
- Georgescu, A., & Simionescu, M. (2021). Extracellular vesicles: Versatile nanomediators, potential biomarkers and therapeutic agents in atherosclerosis and covid-19-related thrombosis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22115967>
- Germolec, D. R., Shipkowski, K. A., Frawley, R. P., & Evans, E. (2018). Markers of inflammation. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1803, pp. 57–79). Humana Press Inc. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5)
- Gómez Baute, R., Tamara Guerra Alfonso, D., Dita Salabert, L., Damaso Fernández Águila, J., Maritza Cabrera Zamora, D., & Alejandro Gómez Baute, R. (2011). Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *Revista Electrónica de Las Ciencias Médicas En Cienfuegos*. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2011000200011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2011000200011)
- Grandl, G., & Wolfrum, C. (2018). Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. In *Seminars in Immunopathology* (Vol. 40, Issue 2, pp. 215–224). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0666-5>

- Helms, J., Poissy, J., Dequin, P. F., & Timsit, J. F. (2023). Treatment of immunothrombosis dysregulation: high-dose corticosteroids is not the good option. In *Annals of Intensive Care* (Vol. 13, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1186/s13613-023-01158-1>
- Hoffman, R., Benz, E. J., Silberstein, L. E., Heslop, H., Weitz, J., Salama, M. D., & Abutalib, S. A. (2018). *Hematology. Basic principles and practice* (Seventh Edition).
- Iba, T., & Levy, J. H. (2018). Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis. In *Journal of Thrombosis and Haemostasis* (Vol. 16, Issue 2, pp. 231–241). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jth.13911>
- Jackson, S. P., Darbousset, R., & Schoenwaelder, S. M. (2019). *Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms*. <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/133/9/906/1558226/blood882993.pdf>
- Kapoor, S., Opneja, A., & Nayak, L. (2018). The role of neutrophils in thrombosis. In *Thrombosis Research* (Vol. 170, pp. 87–96). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2018.08.005>
- Kenne, E., Nickel, K. F., Long, A. T., Fuchs, T. A., Stavrou, E. X., Stahl, F. R., & Renné, T. (2015). Factor XII: A novel target for safe prevention of thrombosis and inflammation. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 278, Issue 6, pp. 571–585). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/joim.12430>
- Keragala, C. B., Draxler, D. F., McQuilten, Z. K., & Medcalf, R. L. (2018). Haemostasis and innate immunity – a complementary relationship: A review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways. In *British Journal of Haematology* (Vol. 180, Issue 6, pp. 782–798). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/bjh.15062>
- Klavina, P. A., Leon, G., Curtis, A. M., & Preston, R. J. S. (2022). Dysregulated haemostasis in thrombo-inflammatory disease. In *Clinical Science* (Vol. 136, Issue 24, pp. 1809–1829). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/CS20220208>
- Kleinegris, M.-C., Ten Cate-Hoek, A. J., & Ten Cate, H. (2012). Coagulation and the vessel wall in thrombosis and atherosclerosis. In *Pol Arch Med Wewn* (Vol. 122, Issue 11).
- Knight, J. S., & Kanthi, Y. (2022). Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome. In *Seminars in Immunopathology* (Vol. 44, Issue 3, pp. 347–362). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00281-022-00916-w>
- Kohli, S., Shahzad, K., Jouppila, A., Holthöfer, H., Isermann, B., & Lassila, R. (2022). Thrombosis and Inflammation—A Dynamic Interplay and the Role of Glycosaminoglycans and Activated Protein C. In *Frontiers in Cardiovascular Medicine* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.866751>

- Kuijpers, M. J. E., Heemskerk, J. W. M., & Jurk, K. (2022). Molecular Mechanisms of Hemostasis, Thrombosis and Thrombo-Inflammation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23105825>
- Kwaan, H. C. (2011). Microvascular thrombosis: A serious and deadly pathologic process in multiple diseases. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 37(8), 961–977. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1297375>
- Laridan, E., Denorme, F., Desender, L., François, O., Andersson, T., Deckmyn, H., Vanhoorelbeke, K., & De Meyer, S. F. (2017). Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi. *Annals of Neurology*, 82(2), 223–232. <https://doi.org/10.1002/ana.24993>
- Leberzammer, J., & von Hundelshausen, P. (2023). Chemokines, molecular drivers of thromboinflammation and immunothrombosis. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1276353>
- Ma, L., & Willey, J. (2022). The interplay between inflammation and thrombosis in COVID-19: Mechanisms, therapeutic strategies, and challenges. In *Thrombosis Update* (Vol. 8). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.tru.2022.100117>
- Maas, C., Renné, T., & Renné, R. (2018). Coagulation factor XII in thrombosis and inflammation. In *Blood* (Vol. 131, Issue 17). <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/131/17/1903/1405815/blood569111.pdf>
- Man, A. W. C., Li, H., & Xia, N. (2021). Circadian rhythm: Potential therapeutic target for atherosclerosis and thrombosis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 2, pp. 1–19). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22020676>
- Mandel, J., Casari, M., Stepanyan, M., Martyanov, A., & Deppermann, C. (2022). Beyond Hemostasis: Platelet Innate Immune Interactions and Thromboinflammation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23073868>
- Marcos-Jubilar, M., Lecumberri, R., & Páramo, J. A. (2023). Immunothrombosis: Molecular Aspects and New Therapeutic Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/jcm12041399>
- Martinod, K., & Deppermann, C. (2021). Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease. In *Platelets* (Vol. 32, Issue 3, pp. 314–324). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1817360>
- Matowicka, J. (2016). Enfermedad intestinal 2016. *Postepy Hig Med Dosw*, 70, 305–312.
- Nowak, M., Królak-Nowak, K., Sobolewska-Włodarczyk, A., Fichna, J., & Włodarczyk, M. (2016). Elevated risk of venous thromboembolic events in patients with inflammatory myopathies. In *Vascular Health and Risk Management* (Vol. 12, pp. 233–238). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S75308>

- Oikonomou, E., Leopoulou, M., Theofilis, P., Antonopoulos, A. S., Siasos, G., Latsios, G., Mystakidi, V. C., Antoniadis, C., & Tousoulis, D. (2020). A link between inflammation and thrombosis in atherosclerotic cardiovascular diseases: Clinical and therapeutic implications. In *Atherosclerosis* (Vol. 309, pp. 16–26). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.07.027>
- Páramo, J. A. (2021). Microvascular thrombosis and clinical implications. In *Medicina Clinica* (Vol. 156, Issue 12, pp. 609–614). Ediciones Doyma, S.L. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.12.042>
- Páramo, J. A., & Lecumberri, R. (2019). New mechanisms in venous thrombosis: Immuno-thrombosis. *Med Clin*, 153(2), 78–81. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30803800/>
- Patel, P., Michael, J. V., Naik, U. P., & McKenzie, S. E. (2021). Platelet FcγRIIA in immunity and thrombosis: Adaptive immuno-thrombosis. In *Journal of Thrombosis and Haemostasis* (Vol. 19, Issue 5, pp. 1149–1160). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jth.15265>
- Pérez-Gómez, F., & Bover, R. (2007). La nueva cascada de la coagulación y su posible influencia en el difícil equilibrio entre trombosis y hemorragia. In *Rev Esp Cardiol* (Vol. 60, Issue 12). [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)
- Pfeiler, S., Massberg, S., & Engelmann, B. (2014). Biological basis and pathological relevance of microvascular thrombosis. *Thrombosis Research*, 133(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.03.016>
- Riva, N., Donadini, M. P., & Ageno, W. (2015). Epidemiology and pathophysiology of venous thromboembolism: Similarities with atherothrombosis and the role of inflammation. *Thrombosis and Haemostasis*, 113(6), 1176–1183. <https://doi.org/10.1160/th14-06-0563>
- Ryan, T. A. J., & O'Neill, L. A. J. (2022). Innate immune signaling and immuno-thrombosis: New insights and therapeutic opportunities. In *European Journal of Immunology* (Vol. 52, Issue 7, pp. 1024–1034). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/eji.202149410>
- Scherlinger, M., Richez, C., Tsokos, G. C., Boilard, E., & Blanco, P. (2023). The role of platelets in immune-mediated inflammatory diseases. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 23, Issue 8, pp. 495–510). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41577-023-00834-4>
- Sharma, S., Tyagi, T., & Antoniak, S. (2022). Platelet in thrombo-inflammation: Unraveling new therapeutic targets. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1039843>
- Stark, K., & Massberg, S. (2021). Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 18, Issue 9, pp. 666–682). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00552-1>

- van der Poll, T., Shankar-Hari, M., & Wiersinga, W. J. (2021). The immunology of sepsis. In *Immunity* (Vol. 54, Issue 11, pp. 2450–2464). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.10.012>
- Vazquez-Garza, E., Jerjes-Sanchez, C., Navarrete, A., Joya-Harrison, J., & Rodriguez, D. (2017). Venous thromboembolism: thrombosis, inflammation, and immunothrombosis for clinicians. In *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* (Vol. 44, Issue 3, pp. 377–385). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11239-017-1528-7>
- Wagner, D. D., & Heger, L. A. (2022). Thromboinflammation: From Atherosclerosis to COVID-19. In *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (Vol. 42, Issue 9, pp. 1103–1112). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.122.317162>
- Wienkamp, A. K., Erpenbeck, L., & Rossaint, J. (2022). Platelets in the NETWORKS interweaving inflammation and thrombosis. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953129>
- Wu, Y. (2015). Contact pathway of coagulation and inflammation. In *Thrombosis Journal* (Vol. 13, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12959-015-0048-y>
- Yang, J., Wu, Z., Long, Q., Huang, J., Hong, T., Liu, W., & Lin, J. (2020). Insights Into Immunothrombosis: The Interplay Among Neutrophil Extracellular Trap, von Willebrand Factor, and ADAMTS13. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.610696>
- Yost, C. C. (2019). Pediatric immunothrombosis—Understudied... but what potential! In *Pediatric Research* (Vol. 86, Issue 1, pp. 17–18). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0389-5>