

Efectos de la heparina más allá del antitrombótico

Heparin effects beyond antithrombotic activity

Scazziota A, Pons S

*Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
Departamento de Bioquímica Clínica. Laboratorio de Hemostasia.
Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica.*

ascazziota@gmail.com



**SIMPOSIO CONJUNTO
SAH-CAHT:
CAMBIANDO
EL PARADIGMA**

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 166-175
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: heparina,
antiinflamatorio,
antimetastásico.

Keywords: heparin,
antiinflammatory.
antimetastasic.

La heparina es un producto natural cuyos efectos no están totalmente descriptos ya que, a medida que se investiga, se le siguen adjudicando nuevas propiedades. Se dice que “si la heparina hubiese sido descubierta por estos tiempos, seguramente no hubiese sido aprobada por la FDA para ser administrada a pacientes”. Sin embargo, la heparina es un fármaco bien conocido por sus propiedades anticoagulantes, que se viene empleando en clínica, con excelentes resultados desde hace más de 100 años⁽¹⁾.

Tanto la heparina no fraccionada (HNF) como la heparina de bajo peso molecular (HBPM) se usan en la prevención y el tratamiento de eventos trombóticos como trombosis venosa profunda (TVP), trom-

boembolismo pulmonar, síndrome coronario agudo (SCA), eventos isquémicos cerebrovasculares, en prevención de trombosis durante la circulación extracorpórea y en hemodiálisis. En estos eventos la heparina limita la embolización y la extensión del trombo y, aunque en forma incompleta, promueve su lisis debido a sus propiedades profibrinolíticas. En un trabajo previo, estudiando pacientes que recibieron HBPM, encontramos un acortamiento del tiempo de lisis de euglobulinas, a expensas de una disminución de la concentración de PAI-1, consistente con la actividad profibrinolítica de la heparina⁽²⁾.

En los últimos diez años creció el interés en las propiedades “no anticoagulantes” de las heparinas

para el tratamiento de enfermedades no trombóticas. Varios estudios muestran que la heparina posee características pleiotrópicas dado que se le agregan, además de los efectos anticoagulantes y profibrinolíticos, efectos antiinflamatorios, anticomplementarios, antifibróticos y antimetastásicos, debido a que puede interactuar con un amplio rango de proteínas que inducen actividades biológicas asociadas. Los efectos pleiotrópicos de la heparina pueden convertirse en una desventaja, ya que tantas actividades no específicas pueden diluir un efecto determinado y contribuir a otros colaterales. Dado que las HBPMs tienen cadenas más cortas (2000-8000 Da) que la HNF (14000 Da), se puede especular que las secuencias de la molécula que contribuyen a actividades no específicas se pierden durante el proceso de depolimerización, por lo que las HBPMs exhiben propiedades más selectivas y menos efectos secundarios.

La actividad antiinflamatoria de las heparinas ha despertado gran interés y se ha investigado en varios estudios clínicos. Sin embargo, su uso como antiinflamatorio muchas veces se ha dejado de lado por el temor a la hemorragia, para lo cual se intenta desarrollar preparaciones de heparina sin actividad anticoagulante.

Los mecanismos de la actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora de la heparina son aún bastante discutidos, se sabe que se une a mediadores de la respuesta inmune como citoquinas y proteínas de fase aguda y las neutraliza en el sitio de la inflamación, disminuyendo los niveles de interleuquinas (IL) 6 y 8, TNF y proteína C reactiva (PCR). La heparina se une a la selectina P e inhibe la adhesión de leucocitos y neutrófilos a las células endoteliales, y de esa manera previene la liberación de radicales de oxígeno y enzimas proteolíticas. Otro mecanismo propuesto es la inhibición del factor nuclear κ B (NF- κ B) e inducción de apoptosis por modulación de la actividad de TNF- α y NF- κ B. Estudios llevados a cabo en pacientes con enfermedad coronaria arterial estable mostraron que la heparina produce aumento de mieloperoxidasa que, al unirse al endotelio, depleta el óxido nítrico (ON) vascular con mejora de la función endotelial, como otro posible mecanismo antiinflamatorio.

Debido a que la inflamación, la aterogénesis, la trombogénesis y la proliferación celular están muy asociados uno con el otro, el efecto pleiotrópico de

la heparina, que le permite actuar en la mayoría de estos procesos, podría brindar mayor efectividad clínica. Con respecto a la seguridad clínica, los estudios no reportaron efectos indeseables cuando se usa la heparina como antiinflamatorio, ya sea en forma local o sistémica.

Las HBPMs conservan el alto grado de sulfatación y electronegatividad de la HNF, por lo cual tienen similar eficacia para modular múltiples vías de procesos patológicos en un amplio espectro terapéutico. Pero no todas las HBPMs se comportan de la misma manera en los procesos inflamatorios, ello se debe a las variaciones estructurales en la molécula de las distintas HBPMs producidas por diversos procedimientos, como la depolimeración química y enzimática de la HNF⁽³⁾. Al tener mayor vida media, mejor biodisponibilidad *in vivo*, respuesta farmacocinética más predecible y menos efectos adversos que la molécula completa, las HBPMs tendrían, potencialmente, un rango más amplio de aplicaciones “no anticoagulantes” que la HNF. Tanto los estudios preclínicos como los clínicos muestran que las HBPMs no sólo tienen prometedoras actividades antiinflamatorias⁽⁴⁾, sino también antimetastásicas⁽⁵⁾ y antifibróticas⁽⁶⁾.

Las actividades “no anticoagulantes” de la heparina, no pueden estandarizarse como las anticoagulantes. Por ello, el mayor problema para desarrollar HBPMs sin actividad anticoagulante es definir precisamente la relación estructura-actividad “no anticoagulante”. Posiblemente la especificidad de esta actividad “no anticoagulante” podría atribuirse a razones muy complejas de estructura tridimensional e interacción con proteínas, que puede conducir a efectos a veces opuestos, en distintas condiciones inflamatorias como el asma, la fibrosis hepática, la angiogénesis o la metástasis tumoral.

Así como los diferentes perfiles de actividad anticoagulante de las HBPMs disponibles se evalúan a través de la relación de la actividad anti FXa/anti FIIa, sería ideal hallar una estructura relacionada con la actividad antiinflamatoria de las HBPMs. Hasta tanto no dispongamos de esa relación estructura-función “no anticoagulante”, se debería considerar la heterogeneidad de las cadenas de HBPM, la estructura de los sacáridos sulfatados y ser cuidadosos en la comparación de actividades “no anticoagulantes” de las HBPMs obtenidas por distintos procesos.

La heparina es una macromolécula biológica con alto grado de sulfatación que interacciona con⁽⁷⁾:

- moléculas pequeñas básicas como la histamina.
- proteínas que tienen residuos básicos en su superficie, o sitios de unión a heparina (*heparin binding sites* o HBS), como la antitrombina y la fibronectina.
- proteínas básicas de los gránulos de los eosinófilos que contribuyen a la defensa del huésped produciendo lisis celular.
- citoquinas, que son proteínas pequeñas y solubles presentes en espacios intercelulares, como las IL 2, 3, 4 y 8, que presentan HBS ricos en lisina y arginina; el interferón γ , que posee dos secuencias de aminoácidos básicos por los que se asocia a la heparina y la protege de la inactivación proteolítica; las quemoquinas liberadas por las plaquetas, como la proteína quemoattractante del monocito (MCP) y la proteína inflamatoria del monocito (MIP), o el factor plaquetario 4 que, al interactuar con la heparina, forma los neoantígenos que dan lugar a la trombocitopenia inducida por heparina.
- selectinas, que son receptores de moléculas de adhesión. La heparina se une principalmente a selectinas P y L, pero no a selectina E, e inhibe varios procesos involucrados en la metástasis y en la infiltración de células inflamatorias.
- moléculas de adhesión, como MAC1, integrina encargada de la adhesión firme del leucocito a la célula endotelial, y PECAM-1, molécula de adhesión ubicada en las uniones intercelulares plaqueta-célula endotelial, involucrada en la trans migración del leucocito.
- integrina plaquetaria α IIB β 3, receptores del complemento CR3 y CR4.
- factores de crecimiento:
 - factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF), encargado de la angiogénesis guiada por los proteoglicanos en la matriz extracelular. El VEGF promueve la angiogénesis en los procesos de inflamación crónica, cicatrización, proliferación tumoral y metástasis.
 - dos factores de crecimiento, la midquina y la pleiotropina, que aumentan su expresión en el cáncer. Pequeñas moléculas heparino miméticas pueden actuar como inhibidores en la seña-

lización de estas proteínas.

- factor de crecimiento derivado de los fibroblastos (FGF), cuyo co-receptor en la superficie celular es el heparán sulfato (HS). La interacción con el receptor y la señalización que se desencadena, depende de la polaridad de la cadena de HS, de su longitud y del grado de sulfatación.
- factor de crecimiento transformante (TGF), como la proteína morfogénica del hueso cuya función depende de su unión al HS.

Efecto antiinflamatorio de la heparina

Al unirse con proteínas que poseen HBS, la heparina puede modificar varias funciones celulares y actuar en un amplio rango de procesos que controlan la respuesta inflamatoria, ya que interfiere en cada paso de los eventos involucrados en reclutar las células inflamatorias y modular la interacción leucocitos-célula endotelial.

- En la superficie celular la heparina interacciona con moléculas de adhesión que se expresan en la respuesta inflamatoria, como las selectinas P y L, o con el PECAM 1 interfiriendo en la trans migración leucocitaria, con el MAC 1 y con receptores del complemento, atenuando la metástasis tumoral y la infiltración de células inflamatorias. Sin embargo las moléculas de adhesión intercelulares (ICAM 1 y 2) expresadas en el endotelio no se unen a la heparina.
- En la matriz extracelular interacciona con colágeno, fibronectina y laminina.
- Neutraliza mediadores citotóxicos y enzimas involucradas en la respuesta inflamatoria, daño y remodelación tisular. Inhibe: elastasa, catepsina G, peroxidasa de eosinófilos y factores de crecimiento como FGF y TGF que estimulan la proliferación del músculo liso y la remodelación del tejido.
- Inhibe la liberación de IL 4 y 5 desde los linfocitos T.
- Interacciona con anexina V expresada en la superficie de algunos tumores y de esta manera la heparina favorece la actividad antimetastásica.
- Es un potente inhibidor competitivo de la liberación de calcio, dependiente de inositol trifostato, desde el retículo endoplásmico de los mastocitos.
- Tiene efecto sobre la infección porque actúa sobre priones, virus y bacterias.

Tanto la HNF como las HBPMs pueden afectar de distinta manera los distintos pasos del proceso inflamatorio:

a) Adhesión y reclutamiento de células inflamatorias.

Cuando se produce una lesión en un órgano, los macrófagos liberan citoquinas inflamatorias que activan el endotelio, éste aumenta la expresión de moléculas de adhesión y de quemoquinas que atraen a los leucocitos al foco de inflamación. Allí comienza el proceso de trans migración leucocitaria, por el cual los leucocitos atraviesan la pared endotelial para incorporarse al tejido dañado y combatir la infección. Este proceso se inicia con el rodamiento o "rolling" de los leucocitos sobre la superficie endotelial, adhesión y extravasación leucocitaria o trans migración. Están implicadas las integrinas que intervienen en la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales y a otros leucocitos; las inmunoglobulinas que actúan como ligandos de las integrinas; las selectinas que se expresan en leucocitos, plaquetas y endotelio e intervienen en el rodamiento del leucocito por el endotelio; y las quemoquinas, que dirigen el movimiento de los leucocitos que atraviesan la célula endotelial y se incorporan al tejido dañado.

Los receptores de las quemoquinas están acoplados con proteínas G que se activan cuando se ocupa el receptor, desencadenando un proceso de señalización de adentro hacia afuera de la célula, que activa las integrinas de la parte externa de la membrana.

La heparina interfiere en todos los pasos de trans migración leucocitaria que van desde anclaje, rolling, adhesión y activación de leucocitos por quemoquinas, unión de los leucocitos activados a las integrinas del endotelio y migración leucocitaria. La unión de la heparina a las selectinas interfiere en la interacción temprana entre las células inflamatorias y el HS de la célula endotelial. La interacción con las integrinas de adhesión, interfiere en la trans migración de los leucocitos sobre el endotelio inflamado.

Estas propiedades de la heparina se han estudiado en modelos animales, en los que se ha observado que inhibe la infiltración eosinofílica en pulmón y piel, e impide la acumulación de neutrófilos en el peritoneo. Cuando se la administra en forma inhalatoria reduce la expresión de IL 4, 13 y 17

en pulmón de ratones sensibilizados.

b) Acción de la heparanasa.

La distribución ubicua del HS en el organismo, manifiesta su importancia fisiológica y su papel en el crecimiento y desarrollo de los mamíferos. El HS es el componente estructural de la matriz, responsable de la localización y actividad de distintos mediadores como enzimas, factores de crecimiento, citoquinas y quemoquinas. La heparanasa es una endo- β -D-glucosidasa capaz de degradar específicamente el HS de la matriz extracelular, y de esa manera regular la actividad de las proteínas dependientes de HS. La heparanasa se ubica en tejidos y células del sistema inmune como linfocitos, plaquetas, células endoteliales, de músculo liso y del bazo; está sobre expresada en aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, líquido sinovial de artritis reumatoidea, glomerulonefritis y en células tumorales. Las plaquetas almacenan heparanasa que liberan luego de ser activadas, dicha heparanasa en un medio con pH ácido puede revertir el efecto anticoagulante de heparinoides *in vitro*, aunque no se sabe si es la única forma en que la heparanasa puede inhibir a la heparina⁽⁸⁾.

Efecto antiangiogénico

Así como el HS es un regulador de la remodelación vascular, inflamación y angiogénesis *in vivo*, las preparaciones de heparina cuya estructura es semejante al HS son pilares en prevención y tratamiento de la trombosis. A medida que se mejoran estas preparaciones en cuanto a su actividad anticoagulante, también se afectan otras actividades, como la interacción con los factores de crecimiento proangiogénicos^(9,10). Así se observan diferencias en la unión de distintas HBPMs con los factores de crecimiento proangiogénicos, tales como el FGF y ciertas isoformas del VEGF.

Mediante ensayos *in vitro* de angiogénesis inducida por FGF, Khorana⁽¹¹⁾ examinó los efectos de un conjunto de fracciones de heparina con pesos moleculares medios entre 1,7 kDa y 14 kDa y también varias preparaciones comerciales de HBPM y fondaparinux. Encontró que sólo las fracciones con PM entre 3 y 6 kDa tienen mayor actividad antiangiogénica que las de mayor PM, evidenciando una disociación entre las propiedades antiangiogénicas y las anticoagulantes en estas fracciones de heparina.

La heterogeneidad en los PM de las cadenas de las preparaciones comerciales explicarían las discrepancias en la actividad antiangiogénica. También los distintos tipos de tumores responderán de forma diferente a la heparina, dependiendo de la expresión de distintas isoformas de sus VEGF y de la unión a sus receptores. Las plaquetas, el factor tisular y la trombina también están involucradas en la angiogénesis, por lo que es posible que las propiedades anticoagulantes también contribuyan al efecto antiangiogénico *in vivo*. Si estos hallazgos *in vitro* sobre el efecto antiangiogénico se producen también *in vivo*, se necesitaría ajustar el tamaño de las cadenas de heparina para optimizar los efectos deseados. Tenemos que considerar que, si bien la inhibición de la angiogénesis es beneficiosa para el tratamiento del cáncer, puede ser perjudicial en las enfermedades que necesitan estimular la revascularización, como ocurre en los pacientes con síndromes coronarios agudos, en la cicatrización de heridas y en la remodelación vascular.

Efecto anticomplementémico de la heparina

Cuando se activa la inmunidad innata y la adaptativa con el fin de combatir una infección, se desencadena también la cascada del complemento por cualquiera de las vías, ya sea la clásica, la alternativa o la vía de la lectina. De esta manera se activa la proteína C3 del complemento, que forma el complejo de ataque de membrana de las células extrañas y conduce a la lisis celular. Como consecuencia de esto, se forman péptidos anafilotóxicos, C5a y C3a, que son quemoattractantes de polimorfonucleares y estimuladores de la degranulación de los mastocitos. Los macrófagos y polimorfonucleares neutrófilos presentan en sus membranas receptores CR3 y CR4, capaces de unirse a C3b que, de esta forma, queda fijado sobre la superficie del germen y facilita su fagocitosis. Las manifestaciones clínicas de muchas enfermedades son causadas por el descontrol del complemento, es por ello que la regulación de su activación es un arma terapéutica prometedor. Uno de sus moduladores más importantes es una glicoproteína, llamada sustancia H, que interacciona con el HS en la superficie de la célula del huésped y la protege de la acción del complemento, bloqueando al C3b⁽¹²⁾. Esta sustancia H también se une al HS de las células del túbulo proximal del riñón, influyendo en el balance de activación/inhibición del comple-

mento en la superficie celular.

La heparina puede influir en el sistema del complemento a través de distintos mecanismos, por un lado potencia el efecto inhibitorio del C1 inhibidor del complemento y, por otro se une a la sustancia H, que posee dos sitios de unión a heparina. El complejo sustancia H-heparina potencia la inhibición de C3b y además actúa como un inhibidor competitivo de C3b en su unión al receptor CR3, generando un mecanismo modulador que atenúa la fagocitosis. Esta propiedad de disminuir la respuesta anafilotóxica mediante su influencia en el sistema complemento, ha conducido a la inclusión de la heparina en nuevos tratamientos de enfermedades en las que el complemento se activa en exceso, como por ejemplo la enfermedad renal inflamatoria, o en los circuitos extracorpóreos empleados en el *by pass* o en la diálisis renal.

Efecto antifibrótico de la heparina

La fibrogénesis es un proceso progresivo y dinámico que involucra un mecanismo molecular y celular de inflamación complejo, con injuria, daño inflamatorio excesivo, reparación de tejido y deposición de matriz. La HBPM juega múltiples roles, primero interacciona con mediadores proinflamatorios y profibrogénicos, como el PDGF liberado por las plaquetas, y aumenta el daño tisular, contribuyendo al desarrollo de fibrosis. Secundariamente la HBPM inhibe la fibrosis por supresión de la expresión de citoquinas inflamatorias: HIF 1 (factor inducible por hipoxia), VEGF y TGF, e inhibe la activación y proliferación de los fibroblastos. En el hígado, la fibrosis es un proceso bidireccional con capacidad de recuperación y remodelado; la HBPM regula el factor de crecimiento del hepatocito, aumenta la regeneración hepática y minimiza la fibrogénesis hepática.

Hay un intenso “*cross talk*” entre inflamación y coagulación en muchas enfermedades incluyendo colitis ulcerosa, metástasis tumoral y otras enfermedades fibróticas. En ratas cirróticas la HBPM reduce la deposición de fibrina, pero también la trombina y el FXa, que son inhibidos por la heparina, son quemoattractantes de células inflamatorias y mitógenos para fibroblastos y células del músculo liso vascular. Aquí es difícil determinar si el efecto antifibrótico de la HBPM, es atribuible a su actividad anticoagulante, a su actividad antiinflamatoria o a la combinación de ambas.

Efecto antitumoral de la heparina

La progresión del cáncer es una cascada de eventos que involucran a la coagulación, al microambiente inflamatorio y a la angiogénesis. La activación de la coagulación estimula el desarrollo del tumor y lo protege con una malla de fibrina. La angiogénesis está ligada a la proliferación tumoral dado que la abundante vascularización de los tumores permite la llegada de elementos nutritivos y la diseminación de células neoplásicas, dando lugar a la metástasis. La angiogenina, una proteína que actúa como potente estimulador de la formación de nuevos vasos sanguíneos, está implicada en la angiogénesis tumoral, interacciona con las células endoteliales y del músculo liso facilitando la migración celular, invasión, proliferación y formación de estructuras tubulares⁽¹³⁾.

Las HBPMs tienen efectos antitumorales independientes del efecto anticoagulante, ya que son capaces de influir en las distintas etapas de la progresión del tumor. El tratamiento con HBPM induce la apoptosis de las células neoplásicas; limita la progresión del cáncer, ya que inhibe la angiogénesis, inhibe la actividad de la heparanasa y limita la sobreexpresión del factor tisular en las neoplasias más agresivas. La HBPM aumenta la sensibilidad de las células tumorales a la quimioterapia porque aumenta la recaptación de la droga y facilita la accesibilidad de las drogas anticancerígenas porque disminuye la malla de fibrina que rodea al tejido tumoral. Buenos resultados se vieron en el cáncer de pulmón a células pequeñas con bemiparina, lo mismo con dalteparina combinada con quimioterapia o enoxaparina combinada en cáncer de páncreas.

No todas las HBPMs tienen el mismo efecto antitumoral, dalteparina inhibe la angiogénesis por supresión de la producción de VEGF; enoxaparina, nadroparina y bemiparina, inhiben la formación de microtúbulos en el endotelio microvascular y suprimen la migración de las células endoteliales. Tinzaparina es el más potente antiangiogénico, y por ende antitumoral. En cuanto a la nadroparina, fue la primera en emplearse en prevención de TVP, pero además reduce la mortalidad relacionada al cáncer, independiente de su actividad anticoagulante⁽¹⁴⁾, ya que se observó que cuando se usa en pacientes con cáncer avanzado sin TVP, les aumenta la supervivencia, dependiendo del tipo y estadio del tumor⁽¹⁵⁾.

Debido a la heterogeneidad en la composición de

las HBPMs, su efecto es distinto sobre los variados tipos de células tumorales⁽¹⁶⁾. Por ejemplo, dalteparina es capaz de reducir el crecimiento de las células de carcinoma de pulmón, sin embargo no tienen efecto sobre el crecimiento de las células de melanoma humano⁽¹⁷⁾. También las fracciones de heparina sin efecto anticoagulante aportan un efecto antimetastático inhibiendo las selectinas P y L, esenciales para la diseminación de las células cancerosas⁽¹⁸⁾.

El tejido tumoral adquiere la habilidad de degradar la matriz extracelular para invadir tejidos sanos y convertirse en células metastásicas a través de la liberación de heparanasa, que degrada la membrana basal y facilita la diapédesis, intravasación y extravasación de células cancerígenas, promueve la angiogénesis y remodelado del tejido, liberando factores de crecimiento y facilitando la infiltración de leucocitos. Se ha encontrado que en numerosos procesos cancerígenos hay una correlación directa entre la producción de heparanasa y el poder de invasión de las células tumorales.

Por estos motivos, la heparanasa se convierte en un objetivo terapéutico muy atractivo en el tratamiento del cáncer, más aún porque parece ser una enzima única, en contraste con las múltiples proteasas implicadas en el mismo fenómeno⁽¹⁹⁾. Por tanto, uno de los posibles abordajes terapéuticos es el desarrollo de un inhibidor de heparanasa potente y selectivo, que impida la liberación y activación de los factores de crecimiento almacenados por el HS.

La heparina inhibe a la heparanasa y disminuye la adhesión y migración de células tumorales y la colonización de tejidos. De esta manera, manifiesta su efecto antimetastático en modelos preclínicos, ya que aún no se ha usado en clínica con este propósito, debido a sus efectos adversos de potencialidad hemorrágica. Entonces, las heparinas sin actividad anticoagulante, a través de la inhibición de heparanasa, podrían ser buenos agentes antimetastáticos.

Se han desarrollado heparinas modificadas como conjugados de taurocolato de HBPM (LHT7) que poseen baja actividad anticoagulante, pero son capaces de inhibir la fosforilación dependiente de VEGF en células de cáncer mamario, probando de esta manera su actividad antiangiogénica. En otras líneas celulares, el LHT7 también demostró que puede bloquear otros factores angiogénicos como el FGF-2 y PDGF-B.

La disparidad en los resultados obtenidos debido a

la heterogeneidad intrínseca, además de la distinta actividad anticoagulante de las HBPMs, trajo dificultades para reproducir los resultados obtenidos en distintos laboratorios que usaron distintas HBPMs comerciales, y finalmente obligaron a interrumpir varias líneas de investigación.

Otros usos terapéuticos de la heparina

Los estudios clínicos sugieren que las HBPMs son opciones terapéuticas prometedoras para varias enfermedades inflamatorias, ya sea pulmonares, cardiovasculares, trastornos de la reproducción, protección y reparación tisular neuronal y renal. Algunos derivados se estudiaron como antimaláricos, para tratamiento del dolor de parto y hasta para la anemia hereditaria⁽²⁰⁾. La más estudiada de las heparinas fraccionadas es la enoxaparina, que mostró distintos efectos en diferentes patologías: redujo la incidencia de síndrome inflamatorio en pediátricos y diabéticos que son sometidos a cirugía de cataratas⁽²¹⁾, mejora la disnea en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y disminuye los niveles de citoquinas en pacientes con patologías complejas como la úlcera del pie diabético. Para estos variados usos terapéuticos se prepararon, además de las conocidas formulaciones inyectables para ser administradas por vía parenteral o subcutánea, otras formas farmacéuticas para ser aplicadas en forma tópica (ya sea cutánea, nasal, ocular), en forma inhalatoria, y hasta en forma oral.

En el asma, enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por hiperrespuesta bronquial, la inhalación de heparina reduce la hiperreactividad inducida por histamina y leucotrienos, ya que impide la degranulación de los mastocitos⁽²²⁾. En estudios clínicos de asma inducida por el ejercicio o por alérgenos, tanto la HNF como la enoxaparina mejoran los síntomas debido a sus efectos antiinflamatorios, por lo que se propone sumarla a los tratamientos existentes⁽²³⁾. En algunos procesos inflamatorios las HBPMs tienen efectos opuestos para modular la secreción de citoquinas involucradas en el asma. Por ejemplo, la enoxaparina suprime la broncoconstricción porque reduce la secreción de citoquinas inflamatorias, mientras que dalteparina aumenta la secreción de las mismas por los monocitos. Enoxaparina tiene cadenas cortas de oligosacáridos y a eso puede deberse su actividad inhibitoria en la liberación de citoqui-

nas, mientras que la dalteparina, con oligosacáridos más largos, tiene una actividad opuesta. Está en estudio una heparina de ultra bajo peso molecular, obtenida por depolimerización con ácido nítrico, que no puede unirse a antitrombina y es muy potente como antialérgica.

En bajas dosis la heparina administrada en forma inhalatoria demostró reducción de la injuria pulmonar producida por el humo en pacientes fumadores y en quemados, y ha demostrado mejoría clínica en pacientes con EPOC, ya que neutraliza la inducción de enfisemas mediados por elastasa.

En el *bypass* cardiopulmonar, la interacción de la sangre con superficies extrañas causa síndrome de respuesta inflamatoria sistémica con aumento de IL 6, 8 y TNF α . Cuando las superficies del circuito se tratan con heparina, disminuye significativamente el nivel de IL6 y 8, TNF y elastasa neutrófila. El resultado clínico es la disminución de soporte inotrópico, ventilación mecánica posquirúrgica, injuria pulmonar y acortamiento del tiempo de internación del paciente.

En la enfermedad inflamatoria intestinal el estado hipercoagulable se suma a la inflamación inespecífica del tracto intestinal (colitis ulcerosa) de etiología multifactorial. Si bien algunos trabajos⁽²⁴⁾ no reportaron efectos favorables con tinzaparina en el tratamiento de la colitis ulcerosa activa, la HNF resultó eficaz y segura en estos pacientes con respecto al tratamiento habitual con corticoides. La enoxaparina comparada con el tratamiento estándar no mostró diferencias en los biomarcadores inflamatorios como PCR, eritrosedimentación y fibrinógeno⁽²⁵⁾, por lo que se piensa que la mejora en el curso de la enfermedad puede deberse a las propiedades anticoagulantes de la heparina. Si bien con ambos tratamientos se tuvo la misma tasa de mejoría, la enoxaparina podría ser un adyuvante seguro al tratamiento estándar aunque sin beneficio adicional.

La heparina mantiene la integridad del epitelio intestinal porque conserva la homeostasis de la mucosa y juega un rol en la inmunidad innata. Los altos niveles de heparanasa producidos por las células endoteliales degradan el HS de los proteoglicanos, remodelando la membrana basal vascular y permitiendo extravasación de células inmunes. La HBPM inhibe la actividad de heparanasa y previene el daño endotelial. Cuando se comparó el efecto de distintas HBPM sobre la remisión de colitis ulcerosa, se ob-

servó que la enoxaparina y la HNF disminuyen la lesión de mucosa en modelos animales de esta enfermedad.

La heparina inhibe la generación de especies reactivas del oxígeno, ejerciendo un efecto cardiovascular protector con aumento de la biodisponibilidad del ON a través de la liberación de mieloperoxidasa. En los SCA, la inflamación es un proceso fundamental en la desestabilización y ruptura de la placa de las arterias coronarias. Se genera una respuesta inflamatoria local y sistémica por la activación leucocitaria y la infiltración de neutrófilos. La HNF y la HBPM no sólo previenen la formación del trombo, sino que actúan sobre marcadores inflamatorios⁽²⁶⁾. Algunos estudios con dalteparina muestran que no afecta los niveles de interleuquinas, pero disminuye la actividad coagulante y la tasa de mortalidad a largo plazo, por lo que en los SCA pareciera que el beneficio de la heparina no está relacionado con su actividad antiinflamatoria.

En la enfermedad renal crónica la heparina inhibe la inflamación y es antiproliferativa sobre células de músculo liso vascular y células mesangiales⁽²⁷⁾. En la nefropatía diabética mostró beneficio por inhibición de la heparanasa y del potencial oxidativo del riñón.

En enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer⁽²⁸⁾ o el Parkinson, o la encefalopatía espongiiforme, la heparina ejerce efecto neuroprotector inhibiendo la apoptosis. La enoxaparina y la dalteparina se usaron con éxito en un modelo de amiloidosis experimental, mientras que en modelos de Alzheimer se emplearon oligosacáridos tratados con radiación gamma para evitar el efecto anticoagulante, pero que conservaron el efecto neuroprotector. El empleo de lentes intraoculares con superficie heparinizada o colirios con heparina también mostraron beneficios reduciendo la inflamación en el posoperatorio de la cirugía de cataratas⁽²⁹⁾.

En las complicaciones obstétricas mediadas por la placenta, generalmente un desarrollo anormal y una invasión insuficiente de la placenta producen una perfusión materna escasa con contacto anormal de las vellosidades trofoblásticas con la sangre materna. La HBPM actúa directamente sobre el trofoblasto^(30,31), mejora la función endotelial materna en embarazadas con alto riesgo de desarrollar pre eclampsia, aumentando la dilatación mediada por el flujo y la biodisponibilidad de niveles plasmáticos

suficientes de factor de crecimiento placentario⁽³²⁾ principalmente durante el tercer trimestre, asociado con un estado proangiogénico⁽³³⁾.

La complejidad de la heparina sigue desafiando a la ciencia y generando nuevas expectativas ya que, a medida que las investigaciones progresen, aparecerán nuevas aplicaciones terapéuticas. Por el momento se está trabajando en la selección de las preparaciones de heparina basada en el tamaño y en la caracterización estructural de las moléculas⁽³⁴⁾. De esta manera se intenta preservar secuencias particulares y obtener preparaciones con actividades más específicas⁽³⁵⁾, ya que algunas secuencias y cadenas involucradas en otras aplicaciones se pueden perder en los procesos de obtención. Todavía falta realizar el análisis completo de los efectos pleiotrópicos y su potencial uso en distintas enfermedades, evaluando seguridad y efectividad clínica.

Declaración de conflictos de interés:

Las autoras declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Paschoa AF. Heparin: 100 years of pleiotropic effects. *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41:636-43.
2. Altman A, Scazziotto A, Pons S y col. Effects of enoxaparin preparations on thrombin generation and their correlation with their anti-FXa activity. *Curr Med Res Opin*. 2011;27:1-9.
3. Yan Y, Ji Y, Su N y col. Non anticoagulant effects of low molecular weight heparins in inflammatory disorders: a review. *Carbohydr polym*. 2017;160:71-81.
4. Mousavi S, Moradi M, Khorshidahmad T, Motamedi M. Anti-inflammatory effects of heparin and its derivatives: A systematic review. *Adv in Pharmacol Sci*. 2015; 2015:ID507151, 14 p.
5. Sanford D, Naidu A, Alizadeh N, Lazo-Langner A. The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Thromb Haemost*. 2014;12:1076-1085.

6. Obi AT, Diaz JA, Ballard-Lipka NL y col. Low-molecular-weight heparin modulates vein wall fibrotic response in a plasminogen activator inhibitor 1-dependent manner. *J Vasc Surg Venous and Lymphat Disord.* 2014; 2: 441-450.
7. Mulloy B, Hogwood J, Gray E, Lever R, Pages CP. Pharmacology of heparin and related drugs. *Pharmacol Rev.* 2016;68:76-141.
8. Vlodaysky I, Ilan N, Nadir Y, Brenner B et al. Heparanase, heparin and the coagulation system in cancer progression. *Thromb Res.* 2007;120:2: S112-S120.
9. Rak J, Weitz J. Heparin and angiogenesis: size matters! *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1954-1955.
10. Rema RB, Rajendran K, Ragunathan M. Angiogenic efficacy of heparin on chick chorioallantoic membrane. *Vasc Cell.* 2012;4:8.
11. Khorana AA, Sahni A, Altland OD, Francis CW. Heparin inhibition of endothelial cell proliferation and organization in dependent on molecular weight. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:2110-2115.
12. Mulloy B, Hogwood J, Gray E, Lever R, Page CP. Pharmacology of heparin and related drugs. *Pharmacol Rev.* 2016;68:76-141.
13. Knelson EH, Nee JC, Blobel GC. Heparan sulfate signaling in cancer. *Trends Biochem Sci.* 2014;39: 277-288.
14. Prandoni P, Lensing AW, Büller HR y col. Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer. *N Engl J Med.* 1992;327:1128-33.
15. Agnelli G, Gussoni G, Bianchini C. Nadroparin for the prevention of thromboembolic events in ambulatory patients with metastatic or locally advanced solid cancer receiving chemotherapy: a randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Lancet Oncol.* 2009;10:943-9.
16. Berezky B, Gilly R, Rásó E, Vágó A, Tímár J, Tóvári J. Selective antimetastatic effects of heparins in preclinical human melanoma models is based on inhibition of migration and microvascular arrest. *Clin Exp Metastasis.* 2005;22:69-76.
17. Franchini M, Mannucci M. Low molecular weight heparin and cancer: Focus on antitumoral effect. *Ann Med.* 2015;47:116-21.
18. Afratis N, Karamanou K, Piperigkou Z, Vynios D. The role of heparins and nano-heparins as therapeutic tool in breast cancer. *Glycoconj J.* 2017; 34: 299-307.
19. McKenzie EA. Heparanase: a target for drug discovery in cancer and inflammation. *Br J Pharmacol.* 2007;151:1-14.
20. İlhan O, İlhan N, Coskun M y col. The effect of enoxaparin-containing irrigation fluid used during cataract surgery on postoperative inflammation in patients with diabetes. *Am J Ophthalmol.* 2013;156:1120-1124.
21. Rumelt S, Stolovich C, Segal ZI, Rehany U. Intraoperative enoxaparin minimizes inflammatory reaction after pediatric cataract surgery. *Am J Ophthalmol.* 2006; 141:433-437.
22. Fal A, Kraus Filarska M, Miecielica J, Malolepszy J. Mechanisms of action of nebulized low molecular weight heparin in patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113, S36.
23. Ang YS, Mahmud N, White B y col. Randomized comparison of unfractionated heparin with corticosteroids in severe active inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14:1015-1022.
24. Bloom S, Kiilerich S, Lassen MR y col. Low molecular weight heparin (tinzaparin. vs. placebo in the treatment of mild to moderately active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19:871-878.
25. Zazos P, Zazos, G, Papaioannou, N, Nikolaidis y col. Low-molecular weight heparin (enoxaparin. as adjuvant therapy in the treatment of active ulcerative colitis: a randomized, controlled, comparative study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23:1443-1453.
26. Oldgren E, Oldgren J, Fellenius C, Boman K y col. Influence of prolonged dalteparin treatment on coagulation, fibrinolysis and inflammation in unstable coronary artery disease. *J. Int Med.* 2005;258: 420-427.

27. Borawski J , Myœliwiec M, Rydzewska-Ro-sofowska. Pleiotropic effects of heparins. *Nephrol. Dial. Pol.* 2006;10:169-172.
28. Ma Q, Cornelli U, Hanin I y col. Heparin oligosaccharides as potential therapeutic agents in senile dementia. *Curr. Pharm Des.* 2007;13: 1607-1616.
29. Rumelt S, Stolovich C, Segal Z, Rehany U. Intraoperative enoxaparin minimizes inflammatory reaction after pediatric cataract surgery. *Am J Ophthal.* 2006;141 433-437.
30. Quaranta M, Erez O, Mastrolia SA y col. The physiologic and therapeutic role of heparin in implantation and placentation. *Peer J.* 2015;3:e691.
31. Kingdoma JC, Drewio S. Is heparin a placental anticoagulant in high risk pregnancies? *Blood* 2011; 118:4780-4788.
32. Yinon Y, Ben Meir E, Margolis L y col. Low molecular weight heparin therapy during pregnancy is associated with elevated circulatory levels of placental growth factor. *Placenta.* 2015;36:121-4.
33. McLaughlin K, Baczyk D, Potts A, Hladunewich M, Parker JD, Kingdom JC. Low molecular weight heparin improves endothelial function in pregnant women at high risk of pre-eclampsia. *Hypertension.* 2017;69:180-188.
34. Oduah EI, Linhardt RJ, Sharfstein ST. Heparin: past, present, and future. *Pharmaceuticals.* 2016;9:E38.
35. Cassinelli G, Naggi A. Old and new applications of non-anticoagulant heparin. *Int J Cardiol.* 2016; 212:S14-S21.