

Tema de actualidad

La terapéutica antitrombótica en cardiología

RAUL ALTMAN, ENRIQUE GURFINKEL, ALEJANDRA SCARRIOTA, JORGE ROUVIER,
ALFREDO D'ORTENCIO, MONICA BOCCIA

Centro de Estudios Médicos y Bioquímicos, Buenos Aires

Trabajo recibido para su publicación: 3/89. Aceptado: 9/89

Dirección para separatas: Viamonte 2008, Buenos Aires, Argentina

1) FARMACOS QUE INHIBEN LA ACTIVIDAD DE LAS PLAQUETAS

El árbol vascular, tanto arterial como venoso, presenta una superficie endotelial naturalmente no trombogénica.

El papel fundamental de las plaquetas es el de constituir un tapón hemostático. Circulan libremente con los otros componentes de la sangre mientras no se las exponga a otra superficie que no sea el endotelio vascular intacto. Mantienen la integridad del vaso y, ante cualquier injuria, se adhieren a la estructura conectiva del subendotelio en un primer intento para detener la probable hemorragia. Los colágenos del tipo I y III son los más reactivos frente a las plaquetas; las estructuras compuestas por el colágeno tipo IV (elastina, microfibrillas, etc.) son menos reactivas. Pero, desde luego, la plaqueta no puede distinguir el daño extravascular, potencialmente hemorrágico, del intravascular, potencialmente trombogénico.

La vasoconstricción es la primera respuesta hemostática de un vaso lesionado que reduce la pérdida de sangre y permite modificaciones hemorreológicas que favorecen el desarrollo posterior del mecanismo plaquetario y de coagulación. La vasoconstricción depende de factores no dilucidados totalmente. Participaría un reflejo axónico local con sustancias vasoactivas liberadas por las plaquetas y por las estructuras vasculares, que se liberan en el momento de la lesión y de la interacción pared vascular-plaquetas (noradrenalina, serotonina, tromboxano). Recientemente se ha mostrado que la serotonina y la noradrenalina inducen una diferente respuesta vascular de acuerdo con las condiciones del vaso: en un anillo de arteria intacto, la respuesta a éstas será de vasodilatación; cuando el endotelio es removido, la respuesta es, en cambio, de vasoconstricción.¹⁻³ De ello se dedujo la existencia de un mediador endotelial del

que dependerá la respuesta del vaso. Se ha demostrado que esta relajación vascular es debida al factor relajante derivado del endotelio (*endothelium derived relaxing factor - EDRF*),⁴ cuya naturaleza ha sido determinada, y caracterizada como óxido nítrico.⁵ La relajación vascular producida por el EDRF es mediada por la estimulación de la guanil ciclasa soluble y el consecuente incremento de 3'-5', GMP cíclico.⁶ El EDRF es muy inestable y su vida media está entre 6 y 50 segundos. Su actividad biológica, de la que se destaca su efecto inhibidor de la agregación plaquetaria,^{7,8} es potenciada por la superoxidodismutasa¹⁰ e inhibida por el hierro⁹ y la hemoglobina. Su producción no es modificada por la aspirina, lo que la diferencia de la prostaciclina, cuya formación cae en más del 95 % luego de la ingestión de ácido acetilsalicílico. El EDRF es probablemente un factor importante en la capacidad de tromborresistencia del endotelio vascular. Los otros factores concurrentes se resumen seguidamente.

a) El activador tisular del plasminógeno (tPA): Es una serinoproteasa de 68.000 dalton formada por dos cadenas, A y B, de diferente conformación. Es producido por las células endoteliales y liberado a la circulación por mecanismos que dependen de la neurohipófisis y por intermedio de una sustancia con estructura similar a la vasopresina. Tiene gran afinidad por la fibrina y lisa rápidamente a la misma por activación del plasminógeno adsorbido a su superficie. Actualmente se ha podido producir el tPA con técnicas de ingeniería genética y se encuentra disponible en el mercado farmacéutico.

b) El endotelio normal tiene la capacidad de inactivar a la trombina en presencia de algunos factores plasmáticos. Ciertas moléculas heparinoides aceleran la actividad antitrombótica

de las células endoteliales, especialmente algunos glucosaminoglicanos que favorecen la unión de la trombina al endotelio. La desendotelización de un vaso determina la pérdida de su capacidad de neutralización de la trombina.

c) Proteoglicanos: También intervienen como factores de tromborresistencia. Resultan de la unión de una proteína con los glucosaminoglicano. El heparán sulfato, el dermatán sulfato, el condroitinsulfato y el ácido hialurónico, son los glucosaminoglicanos identificados en el endotelio vascular. El sulfato de heparán tiene la mayor actividad heparinoide, con la cual tiene cierta similitud estructural. Actúa potenciando el efecto de la antitrombina III en forma análoga a la acción de la heparina, mientras que el sulfato de dermatán potencia la inhibición de la trombina actuando a través del cofactor II de la heparina.

d) Activación de la proteína C: La proteína C es una proteína K dependiente pero, contrariamente a los factores II, VII, IX y X, que son procoagulantes, en su forma activa es un potente inhibidor, al determinar la inactivación de los factores V y VIII activados durante la coagulación, y un activador de la fibrinólisis al inhibir un inhibidor del tPA. La activación de la proteína C se realiza por acción de la trombina y es acelerada por la trombospondina, también presente en el endotelio vascular.

e) Proteína S: También la proteína S tiene la estructura básica de los factores K dependientes y necesita de ella para su gammacarboxilación. Existe en el plasma en forma libre o conjugada pero sólo la forma libre tiene actividad biológica, aumentando la actividad de la proteína C.

f) La producción de prostaciclina, sustancia antiagregante y vasodilatadora, es un mecanismo importante de tromborresistencia oponiéndose al efecto del tromboxano A₂. Volveremos más adelante a ocuparnos en particular de estas sustancias, muy activas en la función plaquetaria.

g) Función antitrombótica endotelial del 13-HODE: Las células plaquetarias, bajo condiciones normales, no interactúan con otros elementos circulantes ni aun con el endotelio, a pesar de contar en la superficie de las mismas con moléculas con propiedades proadhesivas y procoagulantes. Esta "inactividad" es mantenida gracias a una elevada concentración de AMPc dentro del *pool* metabólico intraplaquetario.

El endotelio normal no reacciona con ellas al poseer cargas eléctricas negativas, capacidad de producir prostaciclina y sintetizar a través de sus células endoteliales al 13-hidroxioctadeca-

dienoico (13-HODE) a partir del metabolismo del ácido linoleico por vía de la lipooxigenasa.¹¹

Este evita significativamente las interacciones potencialmente perjudiciales de la vinculación entre plaquetas y endotelio, como también impedir la adhesión de células tumorales al endotelio.¹² Cuando en un medio de cultivo *in vitro* se analiza la pérdida de esta tromborresistencia aportada por el 13-HODE desde las células endoteliales sobre la membrana basal, las plaquetas se adhieren a esta última, aunque sin liberar sus componentes ni facilitar la agregación de las mismas. En la medida que el daño es mayor sobre la pared vascular, se exponen elementos de estructuras más profundas de la arquitectura del vaso (tales como colágeno), y es entonces cuando las plaquetas liberan su contenido y agregan.

De tal forma que se conseguirá un adecuado equilibrio homeostático, manteniendo un endotelio capaz de sintetizar 13-HODE y una elevada concentración de AMPc intraplaquetario.

Esto sugiere que ambos procesos influyen tanto sobre la adhesión plaquetaria como sobre células tumorales en la patogénesis de la trombosis y de la metástasis *in vivo*, respectivamente.

Expuesta a la superficie subendotelial, la plaqueta cambia de forma volviéndose esférica, emite pseudópodos y se adhiere a la superficie vascular. La adhesión está mediada por varias proteínas de importancia diferente. La fibronectina, glucoproteína de alto peso molecular, secretada por el subendotelio y también presente en los alfa-gránulos de las plaquetas, se une a las plaquetas a través del complejo de glucoproteínas IIb-IIIa aun cuando no puede descartarse la existencia de otros receptores en la membrana plaquetaria.¹³

La trombospondina es una glucoproteína de 450 Kd secretada por las plaquetas estimuladas por trombina. Constituye el 3% del contenido proteico de las plaquetas y se encuentra como componente de los gránulos alfa.¹⁴ Además de por las plaquetas, es sintetizada por los fibroblastos, las células endoteliales, las células musculares lisas, cierto tipo de tumores, monocitos, macrófagos, etc. Las lesiones ateroscleróticas contienen mayor cantidad de trombospondina, comparadas con los vasos normales. Se encuentra en el plasma en pequeñas cantidades (alrededor de 2 ng/ml). Participaría en la adhesión plaquetaria pero su acción más trascendente es a nivel de promover la fase secundaria de la agregación irreversible. También la trombospondina se une a la glucoproteína rica en histidina y al plasminógeno, resultando en un inhibidor no

competitivo de la activación del plasminógeno por su activador tisular (tPA) en presencia de fibrina, constituyendo un regulador de la actividad fibrinolítica.

También participa en la interacción de las plaquetas con la pared vascular el factor de von Willebrand (vW), proteína plasmática que es producida por el endotelio vascular y el megacariocito. Se une a la glucoproteína Ib de la membrana plaquetaria aun cuando existirían otros lugares de interacción. Es una molécula compleja que da lugar a un trastorno hemorrágico de mediana severidad cuando su nivel plasmático se encuentra descendido o existen defectos estructurales.

El próximo paso en la formación del tapón plaquetario es la agregación. Se produce entonces una concentración de plaquetas alrededor de la zona dañada.

Para que tenga lugar la agregación plaquetaria son necesarios el calcio extracelular y el fibrinógeno. Cuando se produce la activación de las plaquetas, se exponen los receptores de fibrinógeno en la superficie celular referidos esencialmente al complejo de glucoproteína IIb-IIIa. El calcio sostiene estos receptores unidos, condiciona al receptor para su unión con el fibrinógeno, y es necesario para la unión del fibrinógeno al receptor.¹⁵ Este tapón plaquetario se consolida a través de la formación de fibrina, que es el producto final de la activación de los mecanismos intrínseco y extrínseco de la coagulación. La formación de pequeñas cantidades de trombina produce, en esta etapa, una importante activación de las plaquetas que favorecen la hemostasia primaria.

El calcio iónico es, en la plaqueta y en otras células, un segundo mensajero que regula su actividad. Un sistema de señales traslada estímulos extracelulares hacia las estructuras intracelulares, respondiendo la plaqueta con cambios estructurales, metabólicos, agregándose entre ellas o adhiriéndose a otras estructuras.

Diferentes agonistas pueden unirse a receptores específicos en la membrana plaquetaria y provocar la activación de ciertas fosfolipasas (fosfolipasa A2 y fosfolipasa C) con la formación de derivados lipídicos activos que, a través de modificaciones de la concentración de calcio en el citosol, determinarán el comportamiento celular. Sólo recientemente pudo medirse la concentración citoplasmática de calcio plaquetario y valorar las modificaciones producidas por los diferentes agonistas.^{16, 17}

MECANISMOS DE ACTIVACION PLAQUETARIA

Tres vías de activación plaquetaria han sido descritas en la literatura. Tal vez la más importante se encuentre relacionada con las prostaglandinas: la formación de tromboxano A2 a través de la cascada del ácido araquidónico. La activación determinada por el ADP y la obtenida por el factor activante plaquetario (PAF) son los otros dos mecanismos adicionales.

El ácido araquidónico es el principal precursor de las prostaglandinas en el humano. También pueden provenir del ácido dihomo-gammalinolénico y del ácido eicosapentaenoico (EPA). El ácido araquidónico es el ácido graso más abundante en la membrana plaquetaria, donde se encuentra unido a fosfolípidos, en especial al fosfatidilinositol y a la fosfatidilserina. El ácido araquidónico y el ácido eicosapentaenoico (EPA) son aportados directamente por la dieta o se sintetizan a partir del ácido linolénico, ácido graso esencial.

Las fosfolipasas de la membrana plaquetaria hidrolizan las uniones ésteres en glicerofosfolípidos y se clasifican según la unión que atacan en particular: la fosfolipasa de tipo A la fosfolipasa C o la fosfolipasa D.

La liberación del ácido araquidónico de su unión fosfolipídica se produce por la acción de la fosfolipasa A2. Una vez libre, el ácido araquidónico puede ser metabolizado por dos mecanismos oxidativos, el de la lipooxigenasa y el de la ciclooxigenasa.¹⁸

La lipooxigenasa origina el ácido 12-hidroxi-peroxi-eicosatetraenoico (HPETE), que por acción de una peroxidasa formará 12-hidroxi-eicosatetraenoico (HETE). Los hidroxiperóxidos son capaces de producir la inhibición en la síntesis de prostaciclina y, de esa manera, favorecer la agregación plaquetaria irreversible aun cuando no tengan efecto agregante por ellos mismos. Por ello se ha sugerido que los productos derivados de la acción de la 12-lipooxigenasa inhibirían la formación de prostaciclina a nivel del endotelio vascular, siempre que esos productos puedan escapar de la plaqueta.¹⁹ La ciclooxigenasa forma la prostaglandina G2, que por una peroxidación se convierte en prostaglandina H2. Estos endoperóxidos cíclicos, inestables, tienen una vida media de 5 minutos. Poseen capacidad agregante actuando sobre la membrana plaquetaria en los mismos receptores que el tromboxano A2. Los endoperóxidos cíclicos son metabolizados hacia varios compuestos. Por efecto de isomerasas se obtienen las prostaglandinas D2, E2 y F2, productos terminales, estables. La

PGD2 inhibe la agregación plaquetaria; estimula la adenilatociclasa aumentando el AMP-cíclico celular, lo que produce la inhibición de la función plaquetaria. No obstante, la cantidad de PGD2 producida por las plaquetas es muy pequeña como para influir en el mecanismo de agregación. Contrariamente, la PGE2 posee un efecto, aunque débil, de promover la agregación plaquetaria.

Por efecto de la tromboxanosintetasa, los endoperóxidos cíclicos dan lugar a una sustancia intermedia con capacidad biológica importante, por constituir un poderoso agregante plaquetario y vasoconstrictor, el tromboxano A2. Fue descrito inicialmente por el grupo de Samuelson en 1975. Es altamente inestable, con una vida media de 30 segundos, transformándose en tromboxano B2, estable e inactivo.²⁰ El tromboxano A2 determina activación plaquetaria por mecanismos no totalmente dilucidados, aun cuando se sabe que estimula la liberación de ADP plaquetario, e impide el aumento de el AMP-cíclico oponiéndose al efecto de la prostaciclina sobre la adenilatociclasa. El dosaje de su metabolito inactivo, el tromboxano B2, permite establecer las concentraciones plasmáticas de su precursor activo. También pueden estudiarse algunos de los metabolitos intermedios por medio de la cromatografía en capa delgada.²¹

Los microsomas plaquetarios también sintetizan tromboxano A1 a partir del ácido di-homogamma-linolénico, que parece no tener una actividad biológica semejante al tromboxano A2. En cambio, otro derivado del di-homogamma-linolénico, la PGE1, posee una potente actividad inhibidora de la función plaquetaria. No obstante, su significación biológica es escasa pues su concentración no alcanza niveles importantes.

Por efecto de la prostaciclina-sintetasa, en el endotelio vascular (no en la plaqueta) se genera una sustancia con características biológicas opuestas a las del tromboxano A2. Así es como el endotelio forma la prostaciclina o PGI2,²² que es un potente inhibidor de la función plaquetaria, y vasodilatador. Es inestable, tiene una vida media de alrededor de 90 segundos y se transforma en 6-ceto-PGF1, producto estable, con escasa actividad biológica. La pared vascular no sólo forma PGI2 desde sus propios precursores endógenos, también puede hacerlo con los endoperóxidos liberados por las plaquetas en el momento de su adhesión al subendotelio, lo que indica una interacción importante entre plaquetas y pared vascular. Muchas de las drogas que modifican la función plaquetaria lo hacen a través de las modificaciones en la concentración

celular de AMP-cíclico.²³ La disminución del AMP-cíclico puede obtenerse por inhibición de la adenilatociclasa, y el aumento por activación de la misma o por inhibición de la fosfodiesterasa, enzima que degrada al AMP-cíclico a un compuesto inactivo, el 5'AMP.

La concentración de AMP-cíclico intraplaquetario es importante como reguladora de la actividad de la bomba de calcio que se encuentra en la membrana plaquetaria y en el sistema tubular denso. Esta bomba es esencial para lograr una baja concentración del calcio intraplaquetario, mantener polimerizados los microtúbulos y a la plaqueta en su forma discoide de reposo.

El incremento del AMP-cíclico hace que el calcio iónico plaquetario no esté disponible fisiológicamente, impida su movilización y por lo tanto inhiba la capacidad agregante plaquetaria. Una disminución del AMP-cíclico favorece la salida de calcio desde el sistema tubular denso al citosol celular, donde es liberado para iniciar la contracción de la trombostenina, proteína contráctil de la plaqueta. El AMP-cíclico se metaboliza a AMP por acción de la fosfodiesterasa.

2) DROGAS QUE INFLUYEN SOBRE LA FUNCION PLAQUETARIA

Aspirina y otros antiinflamatorios no esteroides

Numerosas drogas han mostrado tener actividad inhibidora de la función plaquetaria, modificando algunos de los mecanismos que se han esbozado más arriba. Algunas como efecto colateral, a veces indeseable, de su acción farmacológica fundamental. Otras han sido específicamente desarrolladas para ser utilizadas en la prevención de la patología tromboembólica.

El conocimiento acerca del papel que juegan los prostanoides en la movilización del calcio plaquetario y la activación de las plaquetas ha hecho que la mayoría de las investigaciones se hayan orientado hacia la obtención de sustancias que disminuyan la producción de tromboxano o incrementen la de prostaciclina. Si bien se han realizado numerosos ensayos con diferentes drogas, la demostración clínica sobre el efecto preventivo de estos medicamentos no se ha logrado aún, salvo en patologías especiales. La terapéutica probablemente más utilizada con estos fines ha sido la aspirina.

La aspirina se absorbe rápidamente en el estómago y en el tracto intestinal alto, siendo su tiempo medio de absorción de 4 a 16 minutos, alcanzando el pico máximo plasmático entre 15

y 20 minutos. De ello se deduce que, rápidamente luego de su ingestión, tendremos el efecto farmacológico deseado a nivel plaquetario. La vida media de la aspirina en el plasma es también relativamente corta: alrededor de los 15 minutos. Es rápidamente transformada a ácido salicílico por una estearasa no específica. Este, al estar unido a las proteínas plasmáticas, es metabolizado más lentamente por diferentes mecanismos: se excreta por riñón, se conjuga para formar dos derivados glucurónicos, se hidroxila para formar el ácido gentísico, etc. Debido a la rápida hidrólisis del ácido acetilsalicílico a ácido salicílico, los niveles séricos de aspirina son prácticamente inexistentes a los 90 minutos de su administración endovenosa.

El ácido acetilsalicílico produce una inhibición de la ciclooxigenasa, por un mecanismo de acetilación irreversible a nivel de un residuo de serina en el sitio activo de la ciclooxigenasa. Como la plaqueta no tiene capacidad, por la falta de núcleo, de formar nuevamente sus sistemas enzimáticos, la inhibición se mantendrá durante toda la vida plaquetaria, 7-10 días. Existe alguna evidencia de que la aspirina podría comprometer la función plaquetaria antes de ser liberadas las plaquetas a la circulación, mientras se encuentran dentro de los megacariocitos. No obstante debe tenerse presente que los megacariocitos pueden reemplazar la ciclooxigenasa acetilada por la síntesis de nuevas moléculas, en forma semejante a como lo hace la célula endotelial. Otro punto en discusión es si la ciclooxigenasa de la célula endotelial es más sensible que la plaquetaria, o si simplemente ésta posee capacidad de recomponer su ciclooxigenasa en tiempos que no están aún bien determinados.

Una sola dosis de aspirina de 160 mg produce una inhibición de más del 80% en la formación de tromboxano A₂ a las 24 horas. Dosis tan bajas como 40 mg²⁴ o 0,45 mg/kg²⁵ diarios durante una semana producen un efecto acumulativo suficiente para reducir la producción de tromboxano en más del 90%. Este efecto acumulativo también se ejerce sobre la prostaciclina del endotelio vascular.²⁶ No obstante, el efecto inhibitor que sobre la agregación plaquetaria *in vitro* posee el ácido acetilsalicílico puede ser sobrepasado por el uso simultáneo de dos agonistas, un hecho que resulta racional que se presente *in vivo*.^{27, 28}

El ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico pueden potenciar el efecto del dipiridamol al aumentar su nivel plasmático cuando se dan conjuntamente. El efecto se basaría en la satu-

ración del mecanismo de glucuronidación, que es la mayor ruta de metabolización del dipiridamol.

Otros antiinflamatorios no esteroideos también inhiben la ciclooxigenasa pero no en forma irreversible sino a través de una inhibición competitiva. De ahí que su efecto se mantenga mientras sus metabolitos se encuentren en circulación. También se ha postulado que la indometacina, la sulfinpirazona y el ácido salicílico²⁹ compiten con la aspirina por el sitio activo de la enzima, impidiendo así la acetilación de la ciclooxigenasa.

El paracetamol ha mostrado *in vitro*,³⁰ pero no *in vivo*, un efecto antiagregante plaquetario que se puede observar en la agregación inducida por el ácido araquidónico y por el colágeno. La acción antiagregante es más intensa frente a la agregación inducida por ADP. También se obtuvo disminución de la liberación de serotonina y de la síntesis de tromboxano A₂.

El ácido acetilsalicílico prolonga levemente el tiempo de sangría durante algunos días. O'Grady y Moncada³¹ sostuvieron que dosis bajas de aspirina prolongan el tiempo de sangría mientras que en dosis altas no tenía efecto. Postulaban que ello era debido a la inhibición en la producción de PGI₂ por la pared vascular. No obstante, esos resultados no han podido ser reproducidos³² y las dosis utilizadas por esos autores eran, en ambas condiciones, suficientemente altas como para inhibir la ciclooxigenasa endotelial.²⁶

Genéricamente está aceptado que los derivados del ácido acetilsalicílico tienen poco efecto sobre el metabolismo de las prostaglandinas. La aspirina, el salicilato de sodio y el ácido salicílico tendrían un efecto inhibitor sobre la fosfolipasa-C.³³ Ello sería de interés terapéutico, al posibilitar una actividad aditiva sobre la función plaquetaria. Por otra parte, otro derivado, el ácido gentísico, sería un inhibidor de la agregación de los polimorfonucleares inducida por el ácido araquidónico o por un ionóforo de calcio, el A23187, y la liberación del anión superóxido.³⁴

La discusión acerca de la dosis de aspirina necesaria para prevenir la formación de tromboxano, si la marcada disminución en su producción es suficiente para inhibir la agregación plaquetaria o el fenómeno trombótico y, finalmente, si los resultados de los múltiples estudios realizados con la aspirina han llenado la expectativa puesta en su utilización, se realizará más adelante.³⁵⁻³⁷

La sulfinpirazona fue sintetizada a partir de

la fenilbutazona, y contrariamente a ésta, que posee efectos antiinflamatorios, la acción más destacada de la sulfinpirazona es su efecto uricosúrico. Su actividad sobre la plaqueta se realiza por modificación en la síntesis de prostaglandinas. Actúa como inhibidor competitivo a nivel de la ciclooxigenasa, disminuyendo así la producción de tromboxano A₂. No obstante, como su acción sobre esta enzima es débil, se supone que su actividad se realiza a través de un metabolito más activo. Normaliza la vida media plaquetaria, acortada en los pacientes portadores de válvulas protésicas cardíacas, pero no inhibe la liberación del factor de crecimiento ni el nivel aumentado de betatromboglobulina. El 98%-99% de la sulfinpirazona y de sus metabolitos no conjugados que se puedan encontrar en el plasma luego de su administración oral, se hallan unidos a las proteínas. De ahí la acción sinérgica con los anticoagulantes orales del tipo dicumarínicos, a los cuales es capaz de desplazar de su unión proteica, incrementando su actividad.

Efectos secundarios: Los efectos colaterales más importantes de la aspirina son por su acción sobre la mucosa gástrica, incluyen la úlcera y la hemorragia gástrica y están relacionados con la dosis.³⁸ Su efecto es local, a través de la irritación de la mucosa del estómago, y general, al disminuir la formación de prostaglandina E₂ e I₂ producidas por ella misma, y que ejercerían un efecto protector.^{39, 40} El alcohol etílico y los corticoesteroides incrementan la posibilidad de hemorragia digestiva cuando se asocian al ácido acetilsalicílico. La persistencia de una anemia microcítica hipocrómica que coincide con la existencia de sangre oculta en materias fecales, en pacientes bajo tratamiento con aspirina, aun a dosis bajas, obliga al cambio del antiagregante o al uso de aspirina recubierta con capa entérica, debiéndose controlar en esta última circunstancia, a través de la prueba de agregación plaquetaria, si el efecto terapéutico es correcto aun cuando parece ser tan efectiva como la aspirina regular.⁴¹⁻⁴³ Los protectores gástricos reducen sensiblemente estos efectos indeseables.

El uso combinado de aspirina y anticoagulantes orales determina un incremento de las hemorragias digestivas,^{44, 45} pero de acuerdo con un estudio reciente, hemos observado que estas hemorragias están relacionadas con el nivel terapéutico: cuando se mantiene un INR (*International Normalized Ratio*) entre 2 y 3, las complicaciones hemorrágicas son significativamente menores que cuando se utiliza una anticoagulación más profunda.⁴⁶

La aspirina también puede producir dolor gástrico, náuseas, vómitos, pirosis, constipación, aumento de la uricemia, etc.

Los efectos colaterales de la sulfinpirazona incluyen intolerancia gástrica y reacciones de hipersensibilidad con eritema cutáneo y fiebre. Ya mencionamos su efecto potenciador sobre los anticoagulantes orales. También potencia a los hipoglucemiantes orales derivados de la sulfonilurea.

Interacciones farmacológicas: Por mecanismos no totalmente conocidos, aun cuando se supone que están relacionados con el efecto que tienen la aspirina y derivados del piramidón sobre las prostaglandinas, el efecto hipotensor de los betabloqueantes y de los inhibidores de la enzima convertidora (captopril) se atenúa en el tratamiento conjunto con salicilatos e indometacina. Los salicilatos en alta concentración plasmática desplazan a los hipoglucemiantes de su unión con la albúmina, determinando un efecto más pronunciado sobre el metabolismo glucídico. Los salicilatos compiten con la penicilina G por la secreción tubular renal, lo que prolonga la vida media del antibiótico. Un efecto similar se observa frente al metotrexate, lo que puede traer manifestaciones tóxicas de esta última, por lo cual su asociación debe ser evitada. Si bien es de escaso significado clínico, la asociación con la espirolactona disminuye la secreción tubular de la carrenona, el metabolito activo de la espirolactona, con lo cual se produce la disminución de su actividad farmacológica. También desplaza a la fenitoína de su fijación a las proteínas plasmáticas cuando se usa en altas dosis.

Se ha insistido en que la asociación de aspirina con los dicumarínicos incrementa grandemente el efecto anticoagulante, por disociación del dicumarínico de su unión con las proteínas plasmáticas. Según nuestra experiencia ello no ocurre habitualmente, y resultan necesarias dosis altas de ácido acetilsalicílico para modificar levemente la concentración protrombínica.

Dipiridamol

En 1959, el dipiridamol es introducido como medicación antianginosa, por su efecto vasodilatador relacionado con la inhibición de la captación de la adenosina. En 1965 se estudia la capacidad del dipiridamol para inhibir la formación del trombo experimental en el conejo, basado en el efecto antiagregante plaquetario que Born había descripto para la adenosina. Luego, varios trabajos sostienen el efecto antitrombogénico del dipiridamol, aun cuando su verdadera

acción no está aún dilucidada. Las dosis necesarias para modificar la respuesta plaquetaria *in vitro* son más altas que las que pudieran conseguirse terapéuticamente a través de su administración oral. También la adhesión de las plaquetas al subendotelio *in vitro* puede ser inhibida sólo con concentraciones altas de dipyridamol. El dipyridamol en dosis de 400 mg/día, normaliza la vida media plaquetaria acortada en pacientes arteriales. Un efecto semejante puede conseguirse cuando se combinan 225 mg de dipyridamol con aspirina. El dipyridamol no modifica el tiempo de sangría, pero lo prolonga discretamente cuando se da concurrentemente con aspirina.⁴⁷ También la combinación dipyridamol-aspirina disminuye el depósito de plaquetas marcadas con ¹¹¹In en el puente aortocoronario experimental en el perro.⁴⁸

El dipyridamol es un inhibidor de la fosfodiesterasa, que como ya se dijera metaboliza al AMP-cíclico. Su inhibición produce un incremento en la concentración de AMP-cíclico y de esa manera la disminución de la agregación plaquetaria.

La otra probable acción del dipyridamol está relacionada con la adenosina. La adenosina es un potente estimulante de la formación de AMP-cíclico a través de la estimulación de la adenilatociclasa, pero es rápidamente captada por los glóbulos rojos y también transportada dentro de las células endoteliales. Por ello es difícil establecer el nivel de adenosina circulante. El dipyridamol disminuye la captación y degradación de la adenosina, incrementando su actividad en cerca de 100 veces.⁴⁹

De allí la necesidad de realizar la agregación plaquetaria en sangre total a los 60 minutos de su ingestión (en que se obtiene su máxima concentración plasmática), cuando se quiere graficar el efecto inhibitor del dipyridamol.^{50, 51}

El dipyridamol también puede inducir un aumento en la liberación de prostaciclina del endotelio vascular, probablemente por un efecto directo sobre el metabolismo del ácido araquidónico.⁵²

Ultimamente se les ha asignado un papel importante a los leucocitos, especialmente los polimorfonucleares y monocitos, en la génesis de las trombosis. La liberación del ácido araquidónico y la acción de las lipooxigenasas de los leucocitos producen metabolitos activos, los leucotrienos, que contribuyen al proceso inflamatorio. Los radicales oxígeno también contribuirían al daño tisular. El dipyridamol inhibiría la formación de leucotrienos⁵² y de aniones superóxidos por los neutrófilos.⁵³

Efectos secundarios: Los principales efectos secundarios son náuseas, vómitos y cefalea, que afecta al 10% de los pacientes, pero menos del 3% presenta cefaleas que hagan necesaria la suspensión de la medicación.

Ticlopidina

La ticlopidina es un compuesto de la serie de las tienopiridinas, con actividad inhibitora de la agregación plaquetaria, no directa sino a través de un metabolito aún no identificado. Tampoco se conoce cabalmente su mecanismo de acción. La acción sobre la agregación plaquetaria en vivo se manifiesta a las 48 horas de su ingestión oral, permaneciendo la actividad por un lapso algo mayor luego de su suspensión. Prolonga el tiempo de sangría y eleva algo los niveles del fibrinógeno plasmático⁵⁴⁻⁵⁶ pero no modifica los otros parámetros de la coagulación. Otros autores encuentran que el nivel de fibrinógeno desciende por la ingestión crónica de ticlopidina.⁵⁷ Luego de una dosis de 1.000 mg, la agregación plaquetaria por ADP está disminuida, pero no hay modificación del tiempo de sangría. Parecen necesarias dosis repetidas de ticlopidina para prolongar el tiempo de sangría luego de 5-6 días. La administración conjunta de prednisolona con la ticlopidina reduce el tiempo de sangría prolongada sin modificar la inhibición plaquetaria. La acción más manifiesta sobre la agregación plaquetaria en vivo se demuestra utilizando ADP como agonista al inhibir la segunda ola de agregación. También hemos observado modificaciones frente al colágeno y en menor grado frente a la epinefrina.⁵⁶ La respuesta frente al ácido araquidónico exógeno no está modificada, como así tampoco la formación de tromboxano B2 ni de la prostaciclina. Pareciera ejercer un efecto inhibitor de la segunda ola de agregación al utilizar el *PAF acether* (*Platelet activating factor*) como inductor.⁵⁸ Se ha encontrado que aumenta la deformabilidad de los eritrocitos, disminuye la viscosidad sanguínea, alarga el tiempo de sobrevivencia plaquetaria acortada en los pacientes arteriales, pero paradójicamente no inhibe el depósito de plaquetas en superficies protésicas.⁵⁹

Como ya dijéramos, el mecanismo de acción de la ticlopidina no es conocido pero los datos disponibles sugieren que el efecto es directo sobre la membrana plaquetaria, produciendo modificaciones en su configuración. No intervienen los metabolitos del ácido araquidónico ni se alteran factores plasmáticos que participan en la función plaquetaria. Muy recientemente⁶⁰ se ha postulado que la ticlopidina ejercería su

efecto, al menos en parte, inhibiendo la movilización del calcio intracelular, aun cuando su sitio de acción no fue determinado.

Efectos secundarios: Como toda medicación que influye ciertamente sobre la función plaquetaria, y especialmente aquella que inhibe la interacción pared vascular-plaquetas, a su beneficio antitrombótico puede potencialmente unirse cierto riesgo hemorrágico. Aunque raros, se han descrito equimosis, epistaxis, menorragia y hemorragia gástrica. La prolongación del tiempo de sangría puede reducirse por la administración de corticoesteroides. Otros trastornos gástricos, como náuseas y vómitos, desaparecen cuando se administra la ticlopidina con la comida. La posibilidad de diarrea es cierta, pero habitualmente es moderada y desaparece con la interrupción momentánea de la medicación. Reacciones cutáneas (urticaria y eritema) se presentan en menos del 1% de los casos y pueden ser mejoradas con antihistamínicos. Tal vez la leucopenia con agranulocitosis y la plaquetopenia resulten las complicaciones más importantes, aun cuando su incidencia es muy baja y reversible al suspender la droga. Aparece dentro de los tres meses de iniciado el tratamiento, por lo que conviene el control hematológico durante la fase inicial de la terapéutica.

Los aceites de pescado

La comparación epidemiológica de los esquimales de Groenlandia con una población danesa sugirió que una dieta rica en lípidos marinos puede estar asociada a la reducción de la incidencia de enfermedad arterial.⁶¹

La administración de aceites derivados del pescado produce una prolongación del tiempo de sangría ya a la semana de su ingestión, que se mantiene durante el tiempo que dura su administración, aunque los resultados son controvertidos.^{62, 63} Parecería potenciar el efecto de la aspirina y se ha sugerido que reduce la interacción pared vascular-plaquetas. El nivel de tromboxano A2 sérico y los metabolitos de la PGI2 descienden en los pacientes portadores de lesiones ateroscleróticas severas. Al mismo tiempo puede determinarse un incremento en la formación de PGI3 y TKA3.

La prostaglandina I3 y el tromboxano A3 derivan del ácido eicosapentaenoico (EPA), el cual es aportado en cantidades importantes en las dietas con pescado.⁶² Pero existe una diferencia importante en la actividad biológica del TXA2 y del TXA3. Este último carece del potente efecto agregante y vasoconstrictor que caracteriza al tromboxano A2. Por el contrario,

la PGI3 mantiene las propiedades inhibitorias de la función plaquetaria y vasodilatadora de la prostaciclina. De ahí que durante la ingestión de dietas ricas en ácido eicosapentaenoico se produzca un balance positivo hacia el sentido de la tromborresistencia cuando la plaqueta se interrelaciona con el endotelio vascular o en una placa aterosclerótica.

Una segunda posibilidad es la alteración de la función de los monocitos que se ha observado por efecto de los aceites de pescado.⁶⁵ Se adhieren al endotelio vascular y pueden migrar dentro de la íntima en las primeras etapas de la aterosclerosis inducida por la hipercolesterolemia.⁶⁶ Pareciera que los macrófagos pudieran liberar, a semejanza con las plaquetas, un factor de crecimiento que estimula la proliferación de la capa muscular de la arteria. Los monocitos, que por efecto de la dieta contendrían una cantidad aumentada de ácido eicosapentaenoico, muestran una producción disminuida de leucotrieno B4. El leucotrieno B4 participaría en los mecanismos de adhesión del monocito al endotelio vascular.⁶⁷

Se podrían resumir algunos datos de la literatura acerca de la acción del aceite de pescado como sigue:

- 1) Suprime la síntesis hepática de triglicéridos y de Apo B.
- 2) Aumenta la remoción de la VLDL por los tejidos.
- 3) Disminuye el TXA2 activo.
- 4) Inhibe la síntesis de ácido araquidónico a partir del ácido linoleico.
- 5) Las VLDL y la LDL son más pequeñas y más densas.
- 6) Compite con el ácido araquidónico por la posición-2 en los fosfolípidos de la membrana, reduciendo el nivel celular y plasmático de ácido araquidónico.
- 7) Compite con el ácido araquidónico e inhibe la producción del leucotrieno B4.
- 8) Disminuye la viscosidad sanguínea al aumentar la deformabilidad de los glóbulos rojos.
- 9) Aumenta el nivel de activador tisular del plasminógeno y reduce la de su inhibidor (PAI).
- 10) Reduce la respuesta vasoespástica a las catecolaminas y posiblemente también a la angiotensina.
- 11) Afecta las propiedades físicas de las membranas celulares y modifica la función de los receptores.

De esta manera existe la posibilidad de que las dietas que contienen aceites de pescado puedan influir en la aterogénesis y en la evolución de la enfermedad arterial.

Prostaciclina

La prostaciclina es un prostanoide endógeno poco estable, con una intensa actividad antiagregante plaquetaria y vasodilatadora. Su actividad antiplaquetaria está limitada por su corta vida media y por el hecho de que aquélla no ha podido ser separada de su efecto hipotensor. La carbaciclina, análoga de la prostaciclina, es más estable, con su misma capacidad de modificar la función plaquetaria pero con menor efecto hipotensor.

La administración de la prostaciclina sólo puede realizarse por vía venosa o arterial, lo cual limita sus posibilidades terapéuticas. Su acción farmacológica se basa en el incremento de la concentración del AMP-cíclico al estimular la adenilatociclasa.

La prostaciclina inhibe la agregación plaquetaria inducida por todos los agonistas. En concentraciones sensiblemente más altas, puede disminuir la capacidad de las plaquetas para adherirse al endotelio vascular. En los pacientes bajo tratamiento con prostaciclina la retracción del coágulo está disminuida y se prolonga el tiempo de sangría.

Está bien establecida la importancia del endotelio vascular en los mecanismos de tromborresistencia. Dentro de esos mecanismos, la prostaciclina, los nitritos⁶⁸ y el factor relajante derivado del endotelio actúan a través de su efecto inhibidor de la agregación plaquetaria, existiendo un mecanismo de interacción entre la PGI₂ y estas dos sustancias.^{69, 71} El efecto antiagregante del factor relajante derivado del endotelio es potenciado por concentraciones subliminales de prostaciclina.⁷¹

La prostaciclina puede limitar la interrelación entre el fibrinógeno y las plaquetas, aumentar la actividad fibrinolítica, inhibir la proliferación de la capa muscular de las células de la íntima y deprimir la liberación de sustancias mitogénicas de las plaquetas, de los macrófagos y de las células endoteliales de los vasos.

Inhibidores de la tromboxano-sintetasa

La formación de tromboxano se realiza por la acción de la tromboxano-sintetasa sobre los endoperóxidos cíclicos. También sobre ellos actúa la prostaciclina-sintetasa para la formación de PGI₂. Si se modificara este balance proagregante-antiagregante hacia la formación de prostaciclina, podría inhibirse globalmente la actividad trombogénica en la relación endotelio vascular-plaquetas. Un compuesto con actividad inhibidora de la tromboxano-sintetasa, no sólo disminuiría la formación del proagregante trom-

boxano A₂, sino que además, al acumularse los endoperóxidos cíclicos, éstos pueden "ofrecerse" al endotelio vascular para incrementar la formación de la "protectora" prostaciclina. Han sido estudiados una serie de compuestos con actividad selectiva sobre la tromboxano-sintetasa pero no han mostrado aún efectos terapéuticos convincentes en la prevención de la trombosis en humanos.

Moncada y colaboradores mostraron en 1977⁷² que el imidazol es un inhibidor selectivo de la tromboxano-sintetasa. El dazoxiben (UK 37248) emergió como el derivado imidazólico con mayores posibilidades terapéuticas.⁷³ Como el imidazol, el dazoxiben inhibe la formación de tromboxano A₂. Los estudios *in vitro* e *in vivo* sugieren que la disminución por efecto del dazoxiben en la capacidad de las plaquetas de formar tromboxano reorienta el metabolismo de los endoperóxidos cíclicos, algo semejante a lo que sucede en el déficit congénito de tromboxano-sintetasa. No obstante, el efecto inhibidor de la agregación plaquetaria que se consigue con este compuesto es menor que el obtenido por efecto de la indometacina que inhibe la ciclo-oxigenasa. Ello puede explicarse porque: 1) la prostaglandina H₂, endoperóxido que aumentaría durante la terapéutica con dazoxiben, tiene un efecto proagregante semejante al del tromboxano, actuando a través de sus mismos receptores y con una vida media sensiblemente mayor; 2) si bien los endoperóxidos estarían disponibles para la formación de prostaciclina, se desviaría mayor cantidad de endoperóxidos hacia la producción de prostaglandina E₂, que competirá con la PGI₂ por los receptores de la adenilciclasa plaquetaria, disminuyendo el efecto inhibidor de esta última.⁷⁴

La respuesta del plasma rico en plaquetas frente a los diferentes agonistas no es uniforme: están aquellos en que el dazoxiben produce una inhibición de la agregación plaquetaria (respondedores)⁷⁵ y aquellos otros en que la droga no modifica la respuesta de las plaquetas (no respondedores) y ello podría estar relacionado con el ya mencionado efecto agregante que tienen los endoperóxidos. Desde un punto de vista terapéutico existirían entonces pacientes capaces de ser beneficiados por esta medicación, mientras que en otros no tendría ningún efecto preventivo de las trombosis. Más aún, aparte de la necesidad de establecer quiénes son respondedores y quiénes no lo son, existe la posibilidad cierta de que en algún momento de la terapéutica, que obligatoriamente es crónica en estos pacientes, pueda transformarse un "respondedor"

en un "no respondedor", y ello lleva a la necesidad de un control frecuente con pruebas de función plaquetaria.

Los bloqueadores de los canales de calcio

La contracción de las células musculares lisas y la agregación de las plaquetas dependen de la concentración del calcio en el citoplasma, el cual penetra en la célula a través de canales específicos de la membrana o pasa al citosol desde los sistemas de almacenamiento intracelulares. El bloqueo de estos canales por los diferentes antagonistas reduciría el pasaje de calcio al medio intracelular o inhibiría la unión del agonista, y ello estaría relacionado con su nivel de especificidad. Dado que la contracción plaquetaria depende sólo parcialmente del calcio extracelular, según el agonista que se utilice, estos agentes bloqueadores ejercerán un efecto incierto sobre la agregación de las plaquetas. Diferentes investigaciones han indicado que los antagonistas cálcicos interfieren principalmente con la incorporación del calcio a la célula, mientras que no modifican el proceso de liberación de calcio desde el sistema tubular denso plaquetario hacia el citosol. Además, dosis altas de algunos antagonistas del calcio pueden bloquear la respuesta celular frente a la noradrenalina, compitiendo a nivel de los receptores alfaadrenérgicos. De esa manera, el verapamil puede inhibir la respuesta de las plaquetas a la epinefrina, cuya acción es mediada por los receptores alfaadrenérgicos de la membrana.⁷⁶ El verapamil, la nifedipina y el diltiazem, fueron los primeros antagonistas cálcicos utilizados terapéuticamente. Si bien, como ya se mencionara, el verapamil y el diltiazem inhiben selectivamente la agregación plaquetaria inducida por la epinefrina, no puede descartarse que también puedan actuar, a través de la membrana, bloqueando el movimiento del calcio extracelular producido por la epinefrina.⁷⁵ Tienen un efecto débil sobre la agregación inducida por ADP, por ionóforo de calcio o por trombina. No tienen acción sobre la formación de tromboxano B₂. Muchos de los efectos atribuidos *in vitro* a los bloqueantes cálcicos dependen de las dosis empleadas, que muchas veces son más altas que los niveles que podrían obtenerse durante la terapéutica. Dosis de diltiazem que exceden los niveles plasmáticos habituales pueden producir inhibición de la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico o el factor activante plaquetario.⁷⁶ Coincidentemente, Metha⁷⁷ obtiene, con altas concentraciones de diltiazem, inhibición de la agregación plaquetaria inducida por ADP,

por epinefrina o por ionóforos de calcio, lo que no sucede con concentraciones más bajas. También se ha mencionado que el diltiazem inhibe la fosfodiesterasa y aumenta el AMP-cíclico plaquetario.

Un mecanismo interesante de los bloqueantes cálcicos es su efecto estimulante de la secreción de prostaciclina. En perros, Kai encuentra un aumento de los niveles del metabolito estable de la prostaciclina, la 6-ceto-PF1alfa, luego de la estimulación con verapamil, lo que coincide con la acción vasodilatadora. Este efecto es reducido por el tratamiento previo con indometacina, un conocido inhibidor de la ciclooxigenasa.⁷⁸ Metha describe una actividad similar empleando diltiazem en un modelo en el que utiliza anillos de vena umbilical humana.⁷⁹ Este efecto en la liberación de prostaciclina pudiera ser un mecanismo adicional de inhibición plaquetaria que no sería posible visualizar en el agregómetro de Born.

También la nifedipina inhibe la agregación plaquetaria inducida por el ADP, la epinefrina o ionóforo de calcio en concentraciones supratrapéuticas.

Dale⁸⁰ encuentra, luego de una hora de la ingestión de 20 mg de nifedipina, una prolongación moderada pero significativa del tiempo de sangría que también ha sido observada experimentalmente en ratas, acompañada en estos experimentos de un aumento del volumen de sangre perdida por la incisión,⁸¹ tanto para la nifedipina como para el diltiazem, aun cuando la adhesividad plaquetaria medida con el método de Hellem parece no modificarse.⁸² La agregación plaquetaria frente al ADP mostró una disminución significativa de la primera ola y frente al colágeno una reducción del 23%.

Por otra parte, ninguno de los anticálcicos mencionados parece afectar el mecanismo de coagulación.

Interacciones farmacológicas: Cuando se asocia la nifedipina a los betabloqueantes, el aumento reflejo de la frecuencia cardíaca se reduce, acentuándose la acción inotrópica negativa. La combinación de verapamil y betabloqueantes acentúa su efecto depresor sobre la conducción auriculoventricular. La nifedipina tiende a reducir la tolerancia a la glucosa en la diabetes tipo II, mientras que el verapamil tiene un efecto inverso. Por ello, en los pacientes diabéticos tipo II podría esperarse que la nifedipina determine una mayor necesidad de medicación antidiabética, ocurriendo lo contrario cuando se asocia al verapamil. Poco se sabe en este aspecto lo que sucede con el diltiazem. La cimetidina reduce

el metabolismo hepático del verapamil y de la nifedipina, aun cuando no se ha demostrado la necesidad de variar la dosis del antagonista cálcico.

El diltiazem, administrado en conjunto con bajas dosis de aspirina (100 mg/día), potencia el efecto inhibitor de la aspirina sobre la agregación plaquetaria.⁷⁶

Efectos secundarios: Los antagonistas cálcicos tienen como principales efectos colaterales aquellos dependientes de su propio efecto farmacológico, hipotensión arterial, cefalea, mareos, rubor, taquicardia (nifedipina), edemas de miembros inferiores y disminución de la conducción auriculoventricular; efectos que desaparecen al suspender la medicación.

Bloqueo de los receptores de la membrana plaquetaria

El resultado final de la formación de tromboxano A₂ a través de la cascada del ácido araquidónico es la activación plaquetaria a través de receptores específicos para el TXA₂, que también actúan como receptores para los endoperóxidos cíclicos PGG₂ y PGH₂. Se ha podido preparar un grupo de inhibidores selectivos y antagonistas de los receptores de la membrana plaquetaria para el TXA₂ y endoperóxidos cíclicos con efecto inhibitor para la agregación plaquetaria inducida por el tromboxano.⁸² También se ha propuesto la administración combinada de estas drogas con inhibidores de la tromboxano-sintetasa, aun cuando todo ello se encuentra todavía en una fase experimental.

El bloqueo de las glucoproteínas IIb/IIIa de la plaqueta, cuya deficiencia constituye una enfermedad hemorrágica hereditaria, con prolongación del tiempo de sangría y falta de agregación plaquetaria a la mayoría de los agonistas, es también una estrategia terapéutica que se ha ensayado a través del uso de anticuerpos monoclonales específicos. Como puede deducirse, es posible, a través de este mecanismo preventivo de las trombosis, provocar en el paciente así tratado una potencial inclinación hacia la hemorragia.

BIBLIOGRAFIA

1. Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM: 5-hidroxitriptamina can mediate endothelium-dependent relaxation of coronary arteries. *Am J Physiol* 245: 1077-1080, 1983.
2. Cocke TM, Angus JA: Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature* 305: 627-629, 1983.
3. Furchgott AF: Role endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 53: 557-573, 1983.
4. Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH: The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor. *Nature* 308: 645-647, 1984.
5. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S: Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol* 92: 181-187, 1987.
6. Rapoport RMG, Draznin MB, Murad F: Endothelium dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 306: 174-176, 1983.
7. Azuma H, Ishikawa M, Sazikaki S: Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 88: 411-415, 1986.
8. Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA: Endothelium derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 90: 687-692, 1987.
9. Lugwier C, Schoeffter P, Le Bec A, Strouthou E, Stoclet JC: Selective inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases of human, bovine and rat aorta. *Biochem Pharmacol* 35: 1743-1751, 1986.
10. Martin W, Villard GM, Jothianandan D, Furchgott RF: Selective blockade of endothelium dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 232: 708-716, 1985.
11. Buchanan MR, Haas TA, Lagrade M, Guichardat M: 13-Hydroxyoctadecadienoic acid is the vessel wall chemorepellant factor, LGK. *J Biol Chem* 260: 16056-16057, 1985.
12. Bastide E, Almirall L, Buchanan MR, Haas TA, Lauri D, Orr FW: Effects of 13-HODE on tumor cell/endothelial cell interactions. *Thromb Haemost* 58: 315, 1987.
13. Bornstein P, Mc Pherson J, Sage H: Synthesis and secretion of structural macromolecules by endothelial cells culture. *In: Mossel HL, Vogel HJ (eds): Pathobiology of the endothelial cell.* Academic Press, New York, 1982, pp 215-228.
14. Mosher DF, Doyle MJ, Jaffe EA: Synthesis and secretion of thrombospondin and fibronectin by culture human endothelial cells. *In: Mossel HJ, Vogel HJ (eds): Pathobiology of the endothelial cell.* Academic Press, New York, 1982, pp 201-213.
15. Fujimura K, Phillips DR: Calcium cation regulation of glycoprotein IIb-IIIa complex formation in platelets plasma membranes. *J Biol Chem* 258: 10247, 1983.
16. Johnson PC, Hare JA, Cliveden PB, Smith M, Dvorak AM, Salzman EH: Measurement of ionized calcium in blood platelets with the photoprotein aequorin: comparison with Guin2. *J Biol Chem* 260: 2067-2076, 1984.
17. Atsumi Yamagushi, Suzuki H, Tanaue K, Yamazahi H: Simple method of aequorin loading into platelets using DMSG. *Thromb Res* 44: 165-174, 1986.
18. Marcus AJ: The eicosanoids in biology and medicine. *J Lipid Res* 25: 1511-1516, 1984.
19. Turk J, Hyche A, Needleman P: Inactivation of vascular prostacyclin synthetase by platelet lipo-oxygenase products. *Biochem Biophys Res Comm* 95: 1628, 1980.
20. Hamberg M, Svensson SS, Samuelsson B: Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 72: 2294-2298, 1975.
21. Horellou MH, Lecompte T, Lecrubier C et al: Familial and constitutional bleeding disorder due to platelet cyclooxygenase deficiency. *Am J Haematol* 14: 1-9, 1983.
22. Moncada S, Grygleski R, Bunting S, Vane JR: An enzyme isolated from and arteries transforms prostaglandins endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature (London)* 263: 663-665, 1976.
23. Altman R, Rokeach L: Las plaquetas y las prostaglandinas en los fenómenos de trombosis arterial. *Rev Lat Cardiol* 2: 260-268, 1981.
24. Weksler BB, Pett GB, Alonso D, Richter RC, Stelzer P, Subramanian V, Tack-Goldman K, Gay WA: Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis atherosclerotic patients. *N Engl J Med* 308: 800-805, 1983.

25. Patrignani P, Filabozzi P, Patrono E: Selective cumulative inhibition of platelets thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest* 69: 1366-1372, 1982.
26. Preston FE, Greaves M, Jackson CA: Cumulative inhibitory effect of daily 40 mg aspirin on prostacyclin synthesis. *Lancet I*: 1211-1212, 1981.
27. Altman R, Scazziotto A, Rouvier J, Cacchione R: Synergistic action of paf-acether and sodium arachidonate in human platelet aggregation. 1: Studies in normal human platelet rich plasma. *Thrombos Res* 43: 103-111, 1986.
28. Altman R, Scazziotto A: Synergistic actions of paf-acether and sodium arachidonate in human platelet aggregation. 2: Unexpected results after aspirin intake. *Thromb Res* 43: 113-1120, 1986.
29. Cerietti Ch, Donati M, del Maschio A, Galletti F, Dejana E, Tognoni G, de Gaetano G: Plasma levels of salicylates and aspirin in healthy volunteers: Relevance to drug interaction on platelet function. *J Lab Clin Med* 103: 869-877, 1984.
30. Dupin JP, Gravier D, Casadebaig F, Boisseau MR, Bernard H: In vitro antiaggregant activity of paracetamol and derivatives. *Thrombs Res* 50: 437-447, 1988.
31. O'Grandy J, Moncada S: Aspirin: a paradoxical effect on bleeding time. *Lancet* 2: 780-782, 1978.
32. Frith PA, Harlow ChP: A study of bleeding time in 120 long-term aspirin trial patients. *Thrombos Res* 49: 463-470, 1988.
33. Bomalaski JS, Hirata F, Clark MA: Aspirin inhibits phospholipase. *C Biochem Biophys Res Comm* 139: 115-121, 1986.
34. Lorico A, Masturzo P, Villa S, Salmona M, Semeraro M, De Gaetano G: Gentisic acid: an aspirin metabolite with multiple effects on human blood polymorphonuclear leucocytes. *Biochemical Pharmacol* 35: 2443-2445, 1986.
35. Altman R: Inhibidores de la función plaquetaria. *En: La-sala FG, Sagasta CL (eds): Temas de Terapéutica Clínica 3. Edit Akadia, Buenos Aires, 1987, pp 229-249.*
36. Altman R, Scazziotto A, Cordero Funes O: Why single dose of aspirin may not prevent platelet aggregation. *Thrombs Res* 51: 259-266, 1988.
37. Altman R, Rouvier J, Scazziotto A: Terapéutica anticoagulante y trombótica en las trombosis arteriales y venosas. *En: Kaplan M, Feldstein C (eds): Terapéutica Cardiovascular. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1987, p 527.*
38. Langman MJS, Coggon D, Spiegelhalter D: Analgesic intake and the risk of acute upper gastrointestinal bleeding. *Am J Med* 74: 79-82, 1983.
39. Konturek SJ, Obtulowicz W, Sito E, Oleksy J, Wilkon S, Kiedembinek A: Distribution of prostaglandins in gastric and duodenal mucosa of healthy subjects and duodenal ulcer patients: effects of aspirin and paracetamol. *Gut* 22: 283-289, 1981.
40. Moncada S, Vane JR: Mode of action of aspirin-like drugs. *Advances in Internal Med* 24: 1-22, 1979.
41. Stampfer MJ, Jakubowski JA, Deykin D, Schafer AI, Willett WC, Hennekens H: Effect of alternate-day regular and enteric-coated aspirin on platelet aggregation, bleeding time and thromboxane A2 levels in blood. *Am J Med* 81: 400-404, 1986.
42. Frith PA, Warlow ChP: A study of bleeding time in 120 long-term aspirin trial patients. *Thrombs Res* 49: 463-470, 1988.
43. McLeod LJ, Roberts MG, Cossum PA, Vial JH: The effects of different doses of some acetylsalicylic acid formulations on platelet function and bleeding times in healthy subjects. *Scand J Haematol* 36: 379-384, 1986.
44. Chesebro JH, Fuster V, Elveback LR, McGoon DC, Pluth JR, Puga FJ, Danielson GK, Orszulak PA, Piehler JM, Schaff HV: Trial of combined warfarin plus dipyridamole or aspirin therapy in prosthetic heart valve replacement: danger of aspirin compared with dipyridamole. *Am J Cardiol* 51: 1537-1541, 1983.
45. Altman R, Bouillon F, Rouvier J, Raca R, De La Fuente L, Favalaro RG: Aspirin and prophylaxis of thromboembolic complications in patients with substitute heart valves. *Thorac Cardiovasc Surg* 72: 127-129, 1976.
46. Altman R, Rouvier J, Gurfinkel E, D'Ortencio A, Manzanet R, Paoletti E: Terapéutica antitrombótica: Comparación de diferentes niveles como tratamiento anticoagulante asociado con aspirina. *Rev Argent Cardiol* 56 (Suppl Octubre): trabajo 80, 1988.
47. Rouvier J, Vasalo S, Altman R: Modificación de la relación pared vascular-plaquetas a través de diferentes drogas. *Corde* 4: 37-43, 1983.
48. Fuster V, Dewanjee MK, Kaye MP, Josa M, Metke MP, Chesebro JH: Non-invasive radioisotopic technique for detection of platelet deposition in coronary artery bypass grafts in dog and its reduction with platelets inhibitors. *Circulation* 60: 1508, 1979.
49. Harker LA, Kadatz RA: Mechanism of action of dipyridamole. *Thrombs Res (Suppl IV)*: 39-46, 1983.
50. Heptinstall S, Fox S, Crawford J, Hawkins M: Inhibition of platelet aggregation in whole blood by dipyridamole and aspirin. *Thrombos Res* 42: 215-223, 1986.
51. Gresele P, Zoja C, Deckmyn H, Arnout J, Vermylen J, Verstraete M: Dipyridamole inhibits platelets aggregation in whole blood. *Thrombs Haemostas* 50: 852-856, 1983.
52. Gresele P, Arnout J, Vermylen J: Dipyridamole inhibits leukotriane B4 synthesis. *Thromb Haemostas* 57: 235, 1987.
53. Tremoli E, Colli S, Grossi Paoletti E: Dipyridamole inhibits superoxide anion generation by human neutrophils. *Thrombs Haemostas* 59: 342, 1988.
54. Masotti G, Poggesi L, Galanti G, Neri Serreri GG: Stimulation of prostacyclin by dipyridamole. *Lancet* 1: 1412, 1979.
55. Altman R, Rouvier J, Vasalo S: Bleeding time (BT): Influence of different drugs. *Thrombs Haemostas* 50: 134, 1983.
56. Altman R: Experiencia clínica con ticlopidina sobre la función plaquetaria. *Rev Farmacol Clin Terap* 2: 38-43, 1981.
57. Conard J, Lecrubier C, Scarabin PY, Horellou MH, Samama M, Bousser MG: Effects of long term administration of ticlopidine on platelet function and hemostatic variables. *Thrombos Res* 20: 143-148, 1980.
58. Lecrubier C, Conard J, Horellou MH, Samama M: Study of platelet aggregation induced by platelet activating factor (Paf) after administration of ticlopidine or aspirine. *Agents and Actions* 13: 77-80, 1983.
59. Stratton JR, Ritchie JL: Failure of ticlopidine to inhibit deposition of indium 111-labeled platelet on dacron prosthetic surface in humans. *Circulation* 69: 677-683, 1984.
60. Derian CK, Friedman PA: Effect of ticlopidine ex vivo on platelet intracellular calcium mobilization. *Thrombs Res* 50: 65-76, 1988.
61. Bang HO, Dyerberg J: The bleeding tendency in Greenland Eskimos. *Dan Med Bull* 27: 202-205, 1980.
62. Thorngren M, Gustafson A: Effects of acetylsalicylic acid and dietary intervention on primary hemostasis. *Am J Med* 74: 66-71, 1983.
63. Harris WG, Dujovne C, Silveira S: Comunicación personal.
64. Knapp HR, Reilly IA, Alessandrini P, Fitzgerald GA: In vivo indexes of platelets and vascular function during fish-oil administration in patients with atherosclerosis. *N Engl J Med* 314: 937-942, 1986.
65. Lee Th, Hooper RL, Williams JD et al: Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on in vitro venutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med* 312: 1217-1224, 1985.
66. Faggiotto A, Ross R, Harker L: Studies of hypercholesterolemia in the non-human primate. *Atherosclerosis* 4: 323-340, 1984.
67. Hoover RL, Karnovsky MJ, Austen KF, Corey EJ, Lewis RA: Leukotriene B4 action on endothelium mediates augmented neutrophil endothelial adhesion. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 81: 2191-2193, 1984.