

# Nuevos mecanismos antiagregantes y vasodilatadores inducidos por la aspirina

A. López Farré, C. Caramelo, S. Casado  
Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

El mejor conocimiento acerca de los mecanismos por los que interactúan las células que componen el microentorno vascular, como son las plaquetas, los neutrófilos o las células endoteliales, pueden desvelarnos la patogénesis de procesos como la aterosclerosis, la isquemia miocárdica o diversos procesos renales de origen vascular o glomerular.

Desde un punto de vista bioquímico, la activación de las plaquetas comienza mediante la unión de un agonista, como puede ser la trombina, a su receptor expresado en la superficie plaquetaria. A partir de ese momento, en el interior de la plaqueta comienzan una serie de reacciones en cascada en la que están implicados mecanismos tales como la activación de la fosfolipasa C, la hidrólisis de los inositoles, incrementos del calcio libre citosólico y la estimulación de la proteína quinasa C. Todos estos mecanismos, a su vez, estimulan la fosforilación de diversas proteínas de la plaqueta, provocando cambios en el citoesqueleto de estas células, lo que facilita su secreción granular y la expresión del receptor del fibrinógeno sobre su superficie.

Una segunda vía importante implicada en la estimulación plaquetaria es la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub>. La fosfolipasa A<sub>2</sub> va a hidrolizar los fosfolípidos de la plaqueta, liberando el ácido graso en posición 2, que de forma predominante es el ácido araquidónico. En el citosol de la célula, el ácido araquidónico se oxigena enzimáticamente por la ciclooxigenasa o por la 12-lipooxigenasa. El producto final de la actividad ciclooxigenasa en la plaqueta es el tromboxano A<sub>2</sub>. Este autacoide es liberado desde la plaqueta y facilita que el tamaño del trombo se incremente mediante dos mecanismos: uno por su efecto vasoconstrictor y el segundo mediante el reclutamiento de nuevas plaquetas.

El resultado final de la activación plaquetaria es su adhesión al subendotelio, su agregación y reclutamiento, propiciando cierto grado de isquemia y la formación del trombo. En los últimos años se ha demostrado que éste es un proceso multicelular, en el

que tienen una participación directa no sólo las plaquetas, sino también células de la sangre, como los neutrófilos y el propio endotelio vascular.

## FARMACOLOGIA DE LOS EFECTOS PLAQUETARIOS DE LA ASPIRINA

La farmacología para la inhibición de la activación de las plaquetas se basa fundamentalmente en dos conceptos: a) estimular los factores antiagregantes fisiológicos endógenos, y b) inhibir los protrombóticos. Estos objetivos se pueden alcanzar actuando sobre la síntesis de dichos factores y/o sobre las vías intraplaquetarias que utilizan éstos para inhibir o estimular la agregación de las plaquetas.

Entre los agentes agregantes y vasoconstrictora más potente que existe en el organismo se encuentra el tromboxano A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>). El TxA<sub>2</sub> es sintetizado y liberado por las plaquetas, a partir del ácido araquidónico, en respuesta a una gran variedad de estímulos, induciendo la agregación de éstas de forma irreversible<sup>1</sup>. Es decir, el TxA<sub>2</sub> sirve como amplificador de la respuesta plaquetaria a agentes protrombóticos tales como el ADP, la epinefrina o el colágeno. La aspirina acetila de forma selectiva el grupo hidroxilo de un residuo de serina en posición 529 de la cadena polipeptídica de la G/H sintasa 1 de las plaquetas, causando la pérdida irreversible de su actividad ciclooxigenasa<sup>2</sup>. Las plaquetas no tienen la maquinaria biosintética necesaria para formar nueva ciclooxigenasa, por lo que la inhibición inducida por la aspirina no puede repararse durante la vida de la plaqueta (aproximadamente 8 a 10 días). Una vez que el tratamiento con aspirina termina, la actividad ciclooxigenasa se recupera de forma lenta, en función del recambio plaquetario.

Un punto muy importante de esta inhibición de la actividad ciclooxigenasa por parte de la aspirina lo constituye el hecho de que el endotelio vascular también tiene el arsenal enzimático que le permite producir endoperóxidos cíclicos a partir del ácido araquidónico<sup>3</sup>. En el caso de la célula endotelial existe una escasísima tasa de tromboxano sintetasa, mientras que existe una gran tasa de prostaciclina sintetasa<sup>4</sup>, la cual condiciona la formación de prostaciclina, que, como veremos en el apartado siguiente, es una de las sustancias endógenas antiagregantes y vasodilatadoras

Correspondencia: Dr. Santos Casado Pérez.  
Laboratorio de Nefrología-Hipertensión.  
Fundación Jiménez Díaz.  
Madrid.

más potentes. Debido a esto se configuró el llamado dilema de la aspirina, que se resume en: ¿Cómo inhibir el  $\text{TxA}_2$  protegiendo la formación de  $\text{PGI}_2$ ? A pesar de que se ha intentado dar numerosas respuestas a esta pregunta, tales como el uso de dosis bajas de aspirina, los resultados clínicos que se tienen hasta la fecha en pacientes con enfermedades vasculares no han podido demostrar de forma fehaciente esta inhibición selectiva de la generación de  $\text{TxA}_2$  por parte de la plaqueta y no de  $\text{PGI}_2$  por parte del endotelio vascular<sup>1,2</sup>.<sup>5</sup> Para complicar aún más el conocimiento que en el momento actual se tiene acerca de la forma por la cual la aspirina ejerce su efecto antiagregante plaquetario, en los últimos años distintos autores han demostrado que esta capacidad inhibidora de la actividad plaquetaria debida a la aspirina no puede explicarse únicamente por su acción sobre la formación del  $\text{TxA}_2$  o la  $\text{PGI}_2$  explicada anteriormente<sup>6,7</sup>.

#### **PAPEL DEL ENDOTELIO EN LA REGULACION DE LA AGREGACION PLAQUETARIA**

Cuando la continuidad endotelial en un vaso está interrumpida, el contacto de las plaquetas con el subendotelio activa rápidamente a estas células, lo que hace que liberen agentes con propiedades procoagulantes, vasoconstrictoras, estimuladoras de los leucocitos, además de diferentes factores de crecimiento. A su vez se produce una activación leucocitaria, particularmente de los neutrófilos, mediante la cual estas células liberan leucotrienos, radicales libres y enzimas proteolíticas. Todas estas sustancias liberadas por los neutrófilos activados dañan el endotelio vascular, causando la contracción de la célula de músculo liso vascular subyacente al endotelio, lo que reduce el flujo sanguíneo y aumenta la vasopermeabilidad provocando finalmente una isquemia del tejido en cuestión<sup>4</sup>. La liberación de factores de crecimiento, por parte de las plaquetas activadas, estimula el crecimiento intimal de las células del músculo liso vascular, incidiendo aún más en la oclusión del vaso. A su vez, muchos de estos factores de crecimiento también tienen propiedades quimiotácticas que facilitan la llegada de nuevos neutrófilos a la zona dañada<sup>8</sup>.

Aunque en estados patológicos el endotelio vascular dispone de mecanismos que predisponen a una situación de trombosis y reducción de flujo sanguíneo, en el estado fisiológico normal la célula endotelial posee propiedades anticoagulantes y antiagregantes plaquetarias. Existen suficientes evidencias que demuestran las propiedades antiagregantes de dos vasodilatadores producidos por la célula endotelial. Estos vasodilatadores son la prostaciclina ( $\text{PGI}_2$ ) y el óxido nítrico (NO).

**PGI<sub>2</sub>.** La PGI<sub>2</sub> se libera de forma local y rápida en respuesta a trombina, bradiquinina, ATP, etc. El ácido acetilsalicílico y otros antiinflamatorios no esteroídicos, además de la nicotina, son inhibidores importantes de la síntesis de PGI<sub>2</sub>. Aunque la PGI<sub>2</sub> tiene una vida media corta (aproximadamente 30 segundos), es un potente vasodilatador local e inhibidor de la agregación plaquetaria. Los efectos celulares de la PGI<sub>2</sub> están mediados por la formación de AMP cíclico (AMPc)<sup>3,9</sup>.

**NO.-** El NO es un gas que se genera en la célula endotelial, y en otras células, mediante el paso metabólico del aminoácido L-arginina a L-citrulina por la actividad NO sintasa<sup>10-12</sup>. El NO, al igual que la PGI<sub>2</sub>, relaja el músculo liso vascular e impide la agregación plaquetaria. La acción antiagregante del NO está mediada por el GMP cíclico (GMPc)<sup>10-12</sup>.

#### **PAPEL DEL NEUTROFILO EN LA REGULACION DE LA AGREGACION DE LAS PLAQUETAS**

Más complicado es intentar delimitar el papel del neutrófilo en la regulación de la agregación plaquetaria. Existen diversos trabajos en la literatura que demuestran cómo los neutrófilos pueden favorecer la agregación de las plaquetas<sup>13</sup>. Sin embargo, otra serie de autores han descrito efectos antiagregantes de los neutrófilos<sup>1,14</sup>. Durante el último año, nuestro laboratorio ha estado interesado en dilucidar el papel de los neutrófilos en la regulación de la agregación de las plaquetas. Nuestros resultados demuestran cómo la relación neutrófilo-plaqueta puede ser diferente dependiendo de la presencia o no de aspirina en el medio de incubación. En presencia de aspirina o ácido acetilsalicílico, en el medio de incubación, los neutrófilos inhiben la agregación de las plaquetas en respuesta a trombina. En ausencia de neutrófilos, la aspirina no varió la respuesta agregante de las plaquetas a la trombina. El efecto antiagregante plaquetario de la combinación aspirina-neutrófilo no sólo se produjo al utilizar como activador de las plaquetas trombina. Aunque la aspirina, *per se*, tuvo un cierto efecto inhibitorio de la agregación de las plaquetas inducida por ADP o epinefrina, este efecto se potenció en presencia de neutrófilos, indicando que la inhibición de la agregación plaquetaria mediada por los neutrófilos en presencia de aspirina se modificó a nivel postreceptor. Resultados similares se obtuvieron con plaquetas y neutrófilos aislados de voluntarios sanos a los que se les había administrado una dosis diaria de aspirina (200 mg/día) durante 4 días. Antes de tomar aspirina, los neutrófilos de estos individuos no eran capaces de modificar la agregación de las plaquetas en respuesta a trombina. Sin embargo, después de tomar aspirina durante 4 días, los neutrófilos inhibieron de forma significativa la agregación de las plaquetas<sup>15</sup>.

Al igual que la célula endotelial, el neutrófilo tiene la maquinaria enzimática necesaria para generar

NO<sup>11,16,17</sup>. El efecto antiagregante plaquetario de los neutrófilos, en presencia de aspirina, se bloqueó mediante el empleo de antagonistas específicos de la formación de NO por el neutrófilo<sup>15</sup>. En presencia de aspirina, la generación de NO por parte del neutrófilo se incrementó al igual que la formación de GMPc en el sistema neutrófilo-aspirina-plaqueta. Estos resultados demuestran la implicación del sistema NO/GMPc como responsable de las propiedades antiagregantes plaquetarias de los neutrófilos en presencia de aspirina y añaden una vía nueva por la que interpretar el efecto protector de la aspirina en el daño isquémico.

#### **Bibliografía**

1. Marcus AJ: Neutrophils inhibit platelet reactivity by multiple mechanisms: relevance to thromboregulation. *J Lab Clin Med* 116:138-139, 1990.
2. Pedersen AK y Fitzgerald GA: Dose related Kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med* 311:1206-1211, 1984.
3. Marcus AJ y Safier LB: Thromboregulation: multicellular modulation of platelet reactivity and hemostasis and thrombosis. *FASEB J* 7:516-522, 1993.
4. Dinerman JL, Lowenstein CJ y Snyder SH: Molecular mechanisms of nitric oxide regulation. Potential relevance to cardiovascular disease. *Circ Res* 73:217-222, 1993.
5. Collier BS: Antiplatelet agents in the prevention and therapy of thrombosis. *Annu Rev Med* 43:171-180, 1991.
6. Gaspari F, Viganò G, Orisio S, Bonati M, Livio M y Remuzzi G: Aspirin prolongs bleeding time in uremia by a mechanism distinct from platelet cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest* 79:1788-1797, 1987.
7. Di Gaetano G, Cerletti C, Dejana E y Latrin R: Pharmacology of platelet inhibition in humans: implications of the salicylate-aspirin interaction. *Circulation* 72:1185-1193, 1985.
8. Hansen PR: Role of Neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 91:1872-1885, 1995.
9. Ruggeri ZM: New insights into the mechanisms of platelet adhesion and aggregation. *Semin Hematol* 31:229-239, 1994.
10. Moncada S, Palmer RMJ y Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:109-141, 1991.
11. Knowles RG y Moncada S: Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298:249-258, 1994.
12. Nathan C y Qiao-wen X: Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. *Cell* 78:915-918, 1994.
13. Del Maschio A, Evangelista V, Rajtor G, Chen ZM, Cerletti C y De Gaetano G: Platelet activation by polymorphonuclear leukocytes exposed to chemotactic agents. *Am J Physiol* 258: H870-H879, 1990.
14. Salvemini D, De Nucci G, Gryglewski RJ y Vane JR: Human neutrophils and mononuclear cells inhibit platelet aggregation by releasing a nitric oxide-like factor. *Proc Natl Acad Sci* 86:6328-6332, 1989.
15. López Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola ML, Millas I, Monton M y Casado S: Effects of aspirin on platelet neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation* 91:2080-2088, 1995.
16. McCall TB, Boughton-Smith NK, Palmer RMJ, Whittle BJ y Moncada S: Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils. Release and interactions with superoxide ion. *Biochem J* 261:293-296, 1989.
17. Riesco A, Caramelo C, Blum G, Montón M, Gallego MJ, Casado S y López Farré A: Nitric oxide-generating system as an autocrine mechanism in human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem J* 292:791-796, 1993.