

Papel de las plaquetas en la aterotrombosis y mecanismos de acción de las drogas antiplaquetarias

Dr. Jaime Pereira G.

Departamento de Hematología-Oncología.
Escuela de Medicina.
Pontificia Universidad Católica de Chile.

Recibido el 2 de octubre de 2006, aceptado el 21 de octubre de 2006

Rev Chil Cardiol 2006; 25 (3): 301-310

La trombosis arterial es el resultado de una serie de eventos secuenciales que comprende adhesión, secreción, agregación y expresión de actividad procoagulante de las plaquetas, los que actuando en forma concertada llevan finalmente a la oclusión vascular. Este fenómeno constituye la principal complicación de las lesiones ateroscleróticas avanzadas. Por otra parte, evidencia reciente muestra que la activación de las plaquetas induce liberación de citoquinas proinflamatorias tales como RANTES, DD40L soluble (sCD40L), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento transformante (TGF- β), las cuales participan en la progresión de la enfermedad aterosclerótica. Por esta razón, actualmente se considera que la activación plaquetaria jugaría un papel importante no sólo en el accidente trombótico, sino que también en la patogenia de la aterosclerosis^{1,2}.

1. Fisiología de las plaquetas

Las plaquetas son fragmentos celulares anucleados, liberados por los megacariocitos de la médula ósea, por efecto de la trombopoyetina. La función principal de las plaquetas es la detención de las hemorragias por interacción con el endotelio dañado, formando un tapón

hemostático que sella temporalmente la solución de continuidad. La fisura o ruptura de lesiones ateroscleróticas avanzadas lleva a denudación endotelial y exposición de matriz subendotelial trombogénica que inicia el reclutamiento de plaquetas en forma análoga a lo que ocurre en el proceso de hemostasia primaria³.

Las plaquetas también interactúan con el endotelio intacto aunque activado^{4,5}. Esta interacción gatilla la secreción de quimioquinas, expresión de moléculas de adhesión y promueve la adhesión de leucocitos. Sobre este endotelio activado las plaquetas adheridas liberan factores de crecimiento tales como PDGF, factor de crecimiento básico de fibroblastos (BFGF) y TGF- β , que promueven migración y proliferación de células musculares lisas en la íntima arterial^{6,7}.

Las plaquetas además contienen en sus gránulos numerosas proteínas inflamatorias que incluye P-selectina, trombospondina-1 y factor plaquetario 4. Las plaquetas activadas también expresan y son fuente principal del ligando de CD40 (CD40L), uno de los principales mediadores de la inflamación. El CD40L liberado por las plaquetas activa una cascada inflamatoria que comprende proteínas tales como E-selectina, moléculas de adhesión vascular y moléculas de adhesión intercelular (ICAM) que se depositan

Correspondencia: Dr. Jaime Pereira
Banco de Sangre, Hospital Clínico
Pontificia Universidad Católica de Chile
Marcoleta 345
Fono: 56 2 354 3385 · Fax: 56 2 354 3772
Correo electrónico: jpereira@med.puc.cl

sobre la superficie de las células endoteliales y las inducen a producir varias proteínas que atraen leucocitos. La unión de CD40L a la célula endotelial lleva también a la producción de factor tisular, que es el principal iniciador de la coagulación sanguínea^{8,9}.

1.1 Papel de las plaquetas en la trombosis arterial

La fuerza de cizalla ("shear") presente en la circulación arterial tiende a acumular plaquetas en la cercanía de la pared vascular, sin embargo, el endotelio intacto libera prostaciclina y óxido nítrico que son potentes inhibidores de la función plaquetaria. La fisura o ruptura de una placa aterosclerótica produce denudación endotelial con exposición de elementos de la matriz (especialmente colágeno), que promueve el reclutamiento de plaquetas y da inicio a un proceso integrado que comprende adhesión, agregación, secreción y expresión de actividad procoagulante por parte de las plaquetas.

1.1.1 Adhesión plaquetaria

La adhesión de las plaquetas a la pared dañada del vaso, comprende una serie de interacciones entre receptores de membrana y sus correspondientes ligandos en el subendotelio expuesto. El contacto inicial de las plaquetas con la matriz subendotelial se realiza a través de la unión entre un receptor de membrana, glicoproteína (GP) Ib-V-IX y el factor von Willebrand (FvW) inmovilizado sobre el colágeno. Esta interacción inicial es muy importante para anclar temporalmente las plaquetas sobre la pared del vaso; la adhesión definitiva se lleva a cabo por la unión directa de otros dos receptores de membrana (GPVI y GPIIb/IIIa) al colágeno. En los últimos años se ha establecido que el receptor de colágeno GPVI, juega un papel fundamental en la adhesión y posterior agregación de las plaquetas¹⁰. De hecho, inhibición o falta de expresión de esta GP se asocia a ausencia de adhesión de las plaquetas al subendotelio.

1.1.2 Activación y secreción plaquetaria

La interacción de las plaquetas con la pared del vaso y la producción de agonistas a nivel del sitio de daño vascular, son responsables de la activación de las plaquetas, la que se traduce en cambios morfológicos (extensión de pseudopodios) y secreción del contenido granular. Los principales activadores locales de las plaquetas son el colágeno, la trombina generada sobre la superficie plaquetaria, ADP, epinefrina y tromboxano A₂ (TXA₂). Estos mediadores se unen a sus respectivos receptores y gatillan la liberación de PDGF, ADP, FP4, serotonina, FvW, P-selectina y factores de coagulación, desde los gránulos intracelulares. Paralelamente, el ácido araquidónico es liberado desde los fosfolípidos de membrana por acción

de la fosfolipasa A₂, que a través de la vía de la ciclooxigenasa produce TXA₂, un potente activador de las plaquetas y vasoconstrictor³.

1.1.3 Agregación plaquetaria

Las plaquetas no estimuladas en la sangre o plasma no interactúan entre ellas y permanecen como células aisladas. La agregación plaquetaria es el resultado de una unión entre plaquetas activadas. La activación de la plaquetas induce cambios en el citoesqueleto que se traducen en un aumento en la expresión de la GPIIb/IIIa (integrina IIb 3). Además, la GPIIb/IIIa experimenta cambios conformacionales que exponen los sitios de unión para el fibrinógeno y aumentan significativamente la afinidad por éste. La relativa abundancia de fibrinógeno soluble y la alta densidad de la GPIIb/IIIa sobre la membrana, determina la formación de numerosos puentes entre plaquetas activadas adyacentes, estabilizando el agregado plaquetario. El crecimiento del trombo es un proceso dinámico durante el cual las plaquetas activadas se pueden adherir firme e irreversiblemente o desprenderse para reentrar en la circulación. La capacidad de formar uniones estables entre las plaquetas depende principalmente del estado de activación de la GPIIb/IIIa, lo cual es a su vez el resultado de la acción de varios activadores de las plaquetas liberados en el entorno. Además la activación de la GPIIb/IIIa permita la unión de otras proteínas adhesivas (FvW, fibronectina) a través del sitio de unión de la secuencia RGD (presente en las proteínas adhesivas) de la GPIIIa¹¹.

1.1.4 Actividad procoagulante de las plaquetas

Actualmente no existe duda que la activación de las plaquetas y la coagulación sanguínea son dos procesos interactivos y mutuamente dependientes, que determinan en conjunto la generación de trombina^{12,13}. La conexión entre las plaquetas y el sistema de la coagulación es multifacética y necesaria para lograr una formación eficiente del trombo. Basado en el análisis de reacciones individuales de la "cascada" de la coagulación, se ha estimado que las plaquetas aceleran la generación de trombina en 5 a 6 órdenes de magnitud. Las plaquetas contienen varios factores hemostáticos, tales como factor von Willebrand, fibrinógeno, factor V, factor IX, factor X, factor XIII y trombospondina y proveen una superficie para la unión de factor Va y Xa. Las plaquetas activadas unen inicialmente los cofactores FVa y FVIIIa y sus respectivas enzimas FIXa y FXa. El FVa con el FIXa forma el complejo protrombinasa sobre la superficie de las plaquetas activadas, generando grandes cantidades de trombina¹⁴. Mecanismos propuestos para este efecto de las plaquetas sobre la generación de trombina incluyen: 1) Generación de una superficie procoagulante a través de la exposición de

fosfatidilserina (FS) sobre la superficie y formación de micropartículas, con concentración de los receptores para factores Va y VIIIa y 2) Interacción con los factores plasmáticos de la coagulación: Expresión de superficie de receptores específicos para factor Va y VIIIa; liberación de factor Va desde las plaquetas; facilitación de la activación del factor VIII por trombina; expresión de receptores para factor Xa; facilitación de la activación de los factores de contacto¹⁵.

1.2 Papel de las plaquetas en la aterosclerosis

Aparte de su participación en los procesos de hemostasia y trombosis, las plaquetas participan directamente en la patogenia de la aterosclerosis y representan un punto de unión entre inflamación y aterogénesis¹⁶.

1.2.1 Adhesión de las plaquetas al endotelio

Evidencia reciente ha demostrado que la denudación endotelial no es un requisito único para permitir la unión de las plaquetas a la pared arterial. El endotelio previene la reactividad de las plaquetas a través de

mecanismos de inhibición tales como la liberación de prostaciclina, NO y expresión de una ecto-ADPasa (CD39). Sin embargo, las células endoteliales dañadas y/o activadas son adhesivas para las plaquetas. Estudios in vitro han demostrado que la unión de las plaquetas al endotelio activado es dependiente de la GPIIb/IIIa utilizando como proteínas puente el fibrinógeno, fibronectina y FvW⁴. Evidencia adicional ha mostrado también la participación de receptores de las células endoteliales tales como ICAM-1 y v3. Estudios in vivo demuestran que bajo condiciones de fuerza de cizalla alta, las plaquetas son capaces de adherirse al endotelio intacto en un proceso que comprende varias etapas. El contacto inicial laxo entre las plaquetas y las células endoteliales está mediado por selectinas presentes en ambas células. La P-selectina es rápidamente expresada por las CE frente a una variedad de estímulos. El contrarreceptor de la P-selectina en las plaquetas sería la GPIb-V-IX, que posteriormente se complementa con la PSGL-1. La unión definitiva de las plaquetas al endotelio se completa por la interacción entre proteínas adhesivas (por ej., fibrinógeno) y la GPIIb/IIIa (figura 1).

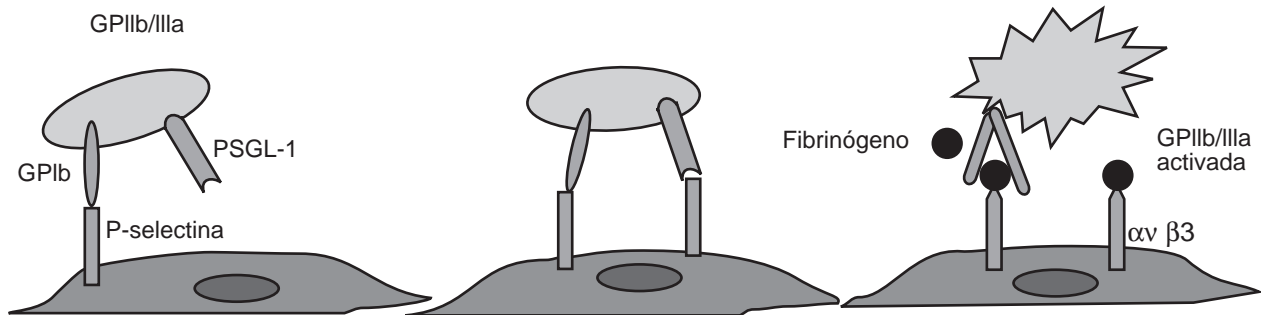


Figura 1. Adhesión de las plaquetas al endotelio. Las células endoteliales activadas expresan p-selectina que constituye un ligando para la GPIb y su receptor (PSGL-1) presentes sobre la superficie de las plaquetas. La interacción inicial es posteriormente reforzada en las plaquetas activadas por la participación de las integrinas (GPIIb/IIIa y $\alpha_v \beta_3$).

1.2.2 Las plaquetas unidas al endotelio estimulan la inflamación

Durante el proceso de adhesión las plaquetas se activan y liberan numerosas sustancias proinflamatorias y mitogénicas al micromedioambiente local. Entre las más importantes se destaca a las proteínas adhesivas (fibrinógeno, FvW, trombospondina, P-selectina); factores de crecimiento (PDGF, TGF- β , EGF); quimioquinas (RANTES, FP4); citoquinas (IL- β 1, CD40L, β -tromboglobulina) y factores de la coagulación (Factor V, Factor XI, PAI)¹⁷. La acción concertada y regulada de todas estas proteínas promueve una serie de funciones biológicas tales como adhesión celular, quimiotaxis, proliferación

celular, coagulación y proteólisis. La IL1- β y el CD40L sobre la superficie de las plaquetas han demostrado ser potentes activadores de las células endoteliales, promoviendo la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, $\alpha_v \beta_3$) y la secreción de MCP-1, que juega un papel clave en el reclutamiento de monocitos. La acción conjunta de las quimioquinas liberadas por las plaquetas, la presencia de plaquetas activadas y la expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales, se traduce finalmente en reclutamiento de neutrófilos y monocitos sobre la superficie endotelial, uno de los fenómenos claves en la iniciación del proceso ateroesclerótico¹⁷.

Considerando el papel que juegan las plaquetas en la aterotrombosis, resulta evidente que la terapia antiplaquetaria persigue dos objetivos: primero, la prevención de la oclusión vascular y segundo, la inhibición de la contribución de las plaquetas a la progresión de la lesión ateroecleótica.

2. Drogas que modifican la función de las plaquetas

La industria farmacéutica ha hecho avances muy importantes en el desarrollo de drogas para el tratamiento

de la aterotrombosis y la terapia antiplaquetaria se ha incorporado como parte de la medicina preventiva para los eventos cardiovasculares. Muchos estudios clínicos han demostrado los efectos benéficos del uso de aspirina y derivados de las tienopiridinas. Recientemente, otras drogas con efecto antiplaquetario están disponibles para el uso clínico. Actualmente las estrategias para el tratamiento de la trombosis arterial se basan en la interferencia con los sistemas receptores conocidos de las plaquetas (figura 2).

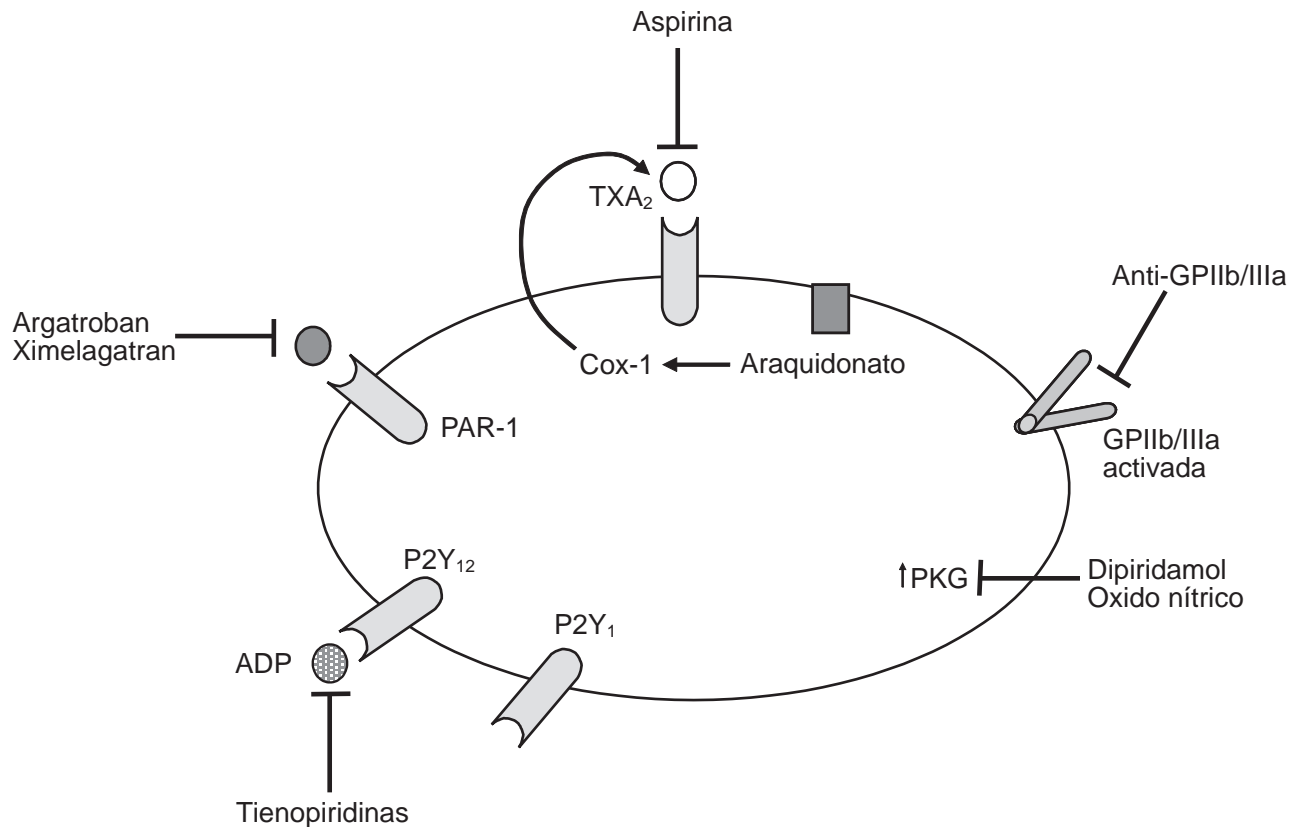


Figura 2. Mecanismos de acción de las drogas antiplaquetarias de uso actual. Se muestran las vías y los blancos moleculares regulados por las estrategias terapéuticas actuales.

2.1 Aspirina

El ácido acetilsalicílico fue introducido en el mercado como aspirina en el año 1899 y fue usado extensamente como prototipo de antiinflamatorio no esterooidal. El descubrimiento de la bioquímica y farmacología del metabolismo del ácido araquidónico y luego los hallazgos de Majerus sobre el efecto de la aspirina permitieron dilucidar los mecanismos del efecto antiplaquetario de la aspirina. De éstos, el mejor caracterizado se relaciona a su capacidad para inactivar permanentemente la

ciclooxigenasa (COX) de las prostaglandina sintetasa 1 (COX-1) y 2 (COX-2)¹⁸. Hasta ahora se han identificado 3 isoformas de la COX, COX-1 que se expresa ampliamente en las células y es la COX mayor de las plaquetas. COX-2 es una forma inducible de COX y se expresa en células en sitios de inflamación; la COX-2 también es expresada constitutivamente en varios tipos de tejidos tales como las células endoteliales. COX-3 es una variante de COX-1. El mecanismo molecular responsable de la inactivación permanente de la actividad de la COX deriva del bloqueo

del canal de la COX como consecuencia de la acetilación de residuos de serina (Ser529 en COX-1 y Ser516 en COX-2), que impide el acceso del sustrato al sitio catalítico de la enzima¹⁹. Debido a que la aspirina tiene una vida media muy corta (15-20 minutos) en lo humanos y que es 50 veces más potente para inhibir COX-1 que COX-2, es ideal para actuar sobre las plaquetas anucleadas, induciendo un defecto permanente en la producción TXA₂ que no puede recuperarse en las 24 horas de intervalo de la dosis. Además, debido a que la aspirina también bloquea la COX-1 en los megacariocitos maduros y considerando que el 10% de las plaquetas se renueva diariamente, la aspirina administrada una vez al día es capaz de mantener bloqueada completamente la producción de TXA₂²⁰.

La aspirina se absorbe rápidamente en el estómago y tracto digestivo superior. El nivel plasmático mayor ocurre 30 a 40 minutos después de su ingestión y la inhibición de la función de las plaquetas es evidente a los 60 minutos. En contraste, después de la ingestión de aspirina con cubierta entérica, el nivel plasmático máximo no se alcanza antes de las 3 a 4 horas de ingerida. La biodisponibilidad oral de la aspirina es de alrededor del 40-50%, siendo considerablemente menor en el caso de la aspirina recubierta. Debido a que la COX es acetilada en la circulación presistémica, el efecto antiplaquetario de la aspirina es en gran parte independiente de la biodisponibilidad sistémica²¹.

Las plaquetas y las células endoteliales procesan PGH₂ para producir TXA₂ y prostaciclina, respectivamente. El TXA₂ es un potente agregante plaquetario y vasoconstrictor, mientras que la prostaciclina inhibe la agregación plaquetaria e induce vasodilatación. Además el TXA₂ promueve y la prostaciclina previene la iniciación y progresión de la aterogénesis a través del control de la activación de las plaquetas y la interacción leucocitos-célula endotelial. La aspirina actúa como antitrombótico en un rango amplio de dosis capaces de inhibir la producción de TXA₂ y prostaciclina. Mientras el TXA₂ es mayormente producido por la COX-1 (fundamentalmente en plaquetas) la prostaciclina puede derivar tanto de COX-1 como COX-2 (respuesta a citoquinas inflamatorias) siendo esta última insensible a inhibición por las dosis convencionales de aspirina²². Lo anterior puede explicar la importante biosíntesis residual de prostaciclina mediada por COX-2 en el rango de dosis diaria de aspirina de 20 a 80 mg. No existe evidencia convincente que demuestre que las dosis más altas de aspirina bloqueen más profundamente la producción de prostaciclina, contrarrestando así el efecto antitrombótico de la aspirina.

La administración de una dosis única de aspirina de 160 mg reduce rápidamente en sobre un 95% la producción de TXA₂ por las plaquetas. Dosis menores como 45 mg/día producen una reducción progresiva de la

producción de TXA₂ que llega al 90% al cabo de una semana. En los estudios sobre prevención primaria y secundaria se han utilizado dosis de aspirina de 75 mg/día, 100 mg/día o 375 mg/día con efectos preventivos equivalentes, por lo que parece razonable el uso de dosis más bajas con el fin de reducir efectos adversos digestivos.

La aspirina fue la primera droga y continúa siendo la más ampliamente usada para tratar la trombosis arterial. La eficacia y seguridad de la aspirina quedó establecida desde el estudio ISIS-2 que demostró que su uso reducía la mortalidad por infarto de miocardio en una tasa similar a lo alcanzado por el uso de estreptoquinasa²³. Los datos de múltiples ensayos reunidos en el metanálisis realizado por el Antiplatelet Trialist's Collaboration demostraron que el uso de aspirina resultaba en una reducción de 25% en el riesgo relativo de sufrir eventos cardiovasculares, incluyendo muerte cardiovascular, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular²⁴.

2.1.1 Variabilidad interindividual y resistencia a la aspirina

La eficacia de la aspirina para inhibir la función plaquetaria muestra una variabilidad interindividual significativa. El término "resistencia a la aspirina" se ha utilizado para describir numerosos fenómenos diferentes que incluyen la incapacidad de la aspirina para a) proteger a los individuos de las complicaciones trombóticas b) causar prolongación del tiempo de sangría c) inhibir la biosíntesis de TXA₂ o d) producir un efecto anticipado sobre una o más pruebas de función plaquetaria in vitro²⁵. Aunque, la aparición de episodios recurrentes de eventos vasculares a pesar del uso de aspirina, debería catalogarse como falla de tratamiento, algunos lo han denominado resistencia clínica. En este sentido, el término "resistencia a la aspirina" consideraría la resistencia bioquímica y la clínica. La resistencia bioquímica implica una inhibición insuficiente de la función de las plaquetas demostrada por pruebas de laboratorio y la resistencia clínica, la persistencia de un riesgo cardiovascular aumentado en pacientes en tratamiento con aspirina.

En la evaluación de laboratorio de la resistencia a aspirina se han utilizado una gran variedad de métodos y criterios de interpretación (tabla 1). La agregometría óptica ha sido el método más ampliamente difundido para determinar la agregación plaquetaria en plasma rico en plaquetas y en la evaluación de la resistencia a la aspirina.

Tabla 1. Métodos utilizados para la evaluación de la resistencia aspirina.

Método	Ventajas	Desventajas
Agregometría óptica	Criterios estándar	Lento, caro, requiere manipulación
Agregometría en sangre total Tiempo de sangría	Sin manipulación, pequeños volúmenes Barato, in vivo	Lento, caro Dolor, cicatriz, operador dependiente
11-dehidro-TXB ₂ urinario	No invasivo, mide metabolito de TXA ₂	Incierta variabilidad y reproducibilidad Indirecto
TXB ₂ plasmático PFA-100	Estima inhibición del TXA ₂ Sangre total, rápido, simple	Indirecto Comparación con otros métodos incierta
VerifyNow (Ultegra)	Sangre total, rápido, simple	Comparación con otros métodos incierta
Analizador ("cone/plate")	Sangre total, usa alta fuerza de cizalla, más sensible que agregometría	Comparación con otros métodos incierta Poco estudiado

La mayoría de los estudios han definido esta condición basados en la agregación en respuesta a araquidonato y ADP. Sin embargo, la carencia de controles apropiados determina que la definición de resistencia a la aspirina con esta técnica no sea más que un fenómeno descriptivo de muy difícil interpretación. Además es importante señalar que en esta técnica se eliminan las otras células sanguíneas, eliminando un efecto que se ha descrito como importante para la trombosis in vivo. Otros métodos más fisiológicos y simples que determinan globalmente la activación de las plaquetas en sangre total, tales como PFA-100 o Ultegra han empezado a introducirse para la evaluación de la resistencia a aspirina. Estos métodos miden los tiempos de oclusión de pequeños cartuchos cubiertos con activadores de las plaquetas. Hasta el momento no han demostrado buena reproducibilidad y sensibilidad al efecto de la aspirina. De hecho, utilizando estos métodos la definición de no respondedores a la aspirina ha sido muy variable, con valores que van entre 21 y 78%^{26,27}. Ya que no existen métodos sensibles y reproducibles para estudiar la función plaquetaria dependiente de TXA₂, otra forma lógica de abordar este problema es medir directamente la inhibición en la producción de TXA₂. Esto se puede hacer midiendo el TXB₂ en suero o la excreción de sus metabolitos en la orina. Solamente un estudio²⁸ ha investigado la relación entre generación de TXA₂ y enfermedad cardiovascular. En este estudio, los pacientes con los valores más altos de TXB₂ urinario presentaron el riesgo mayor de presentar eventos cardiovasculares. Sin embargo, limitaciones serias de este estudio son su carácter

retrospectivo, no evaluación de adhesividad al tratamiento y origen extraplaquetario del TXA₂.

Si se considera toda la información disponible hasta el momento sobre la resistencia a la aspirina, esta es no concluyente no sólo por los métodos usados para definirla sino que también por la poca evidencia clínica que sustenta una relación entre resistencia a aspirina y recurrencia de enfermedad cardiovascular.

2.2 Tienopiridinas

El ADP es un agonista plaquetario que es secretado por exocitosis regulada desde los gránulos densos de las plaquetas activadas. Las plaquetas expresan tres tipos de receptores para ADP: P2X₁, P2Y₁ y P2Y₁₂. Los receptores P2Y₁ y P2Y₁₂ son necesarios para inducir una agregación plaquetaria total e irreversible; el papel que juega P2X₁ en la agregación de las plaquetas es poco claro. El receptor P2Y₁ está acoplado a la proteína G_q y su estimulación lleva al aumento de calcio y cambio de forma de las plaquetas mediante activación de la fosfolipasa C. P2Y₁₂ es un receptor acoplado a proteína G_i que disminuye el AMP cíclico por inhibición de la enzima adenil ciclasa; su activación produce directamente agregación plaquetaria. La señalización a través de P2Y₁₂ es fundamental para la estabilización del trombo bajo condiciones de fuerza de cizalla alta²⁹.

Las tienopiridinas ticlopidina y clopidogrel son prodrogas que necesitan ser activadas en el hígado, por oxidación catalizada por la enzima citocromo P450, para dar origen a sus metabolito activos. Otro miembro de la

familia de reciente introducción es el prasugrel, que se encuentra en ensayos clínicos fase 3³⁰. Las tienopiridinas son drogas que inactivan en forma irreversible al receptor P2Y₁₂.

La ticlopidina fue introducida para uso clínico el año 1978 y en dosis de 250 mgs dos veces al día, demostró su utilidad en pacientes con enfermedad coronaria y vasculopatía arterial periférica. Posteriormente se comprobó su utilidad en la prevención de la reestenosis post-stent de los vasos coronarios^{31,32}. La aplicación clínica de la ticlopidina fue limitada por los efectos adversos frecuentes entre los que destacan la neutropenia (2.4%), reacciones cutáneas, intolerancia gastrointestinal y su asociación con el desarrollo de púrpura trombótica trombocitopénica (PTT).

El clopidogrel no tiene actividad antiplaquetaria *in vitro*. Después de la ingestión oral es metabolizado en el hígado por el citocromo P450 y convertido en 2-oxo-clopidogrel, el cual experimenta hidrólisis antes de unirse e inhibir irreversiblemente el receptor P2Y₁₂. Esta acción previene el acoplamiento del sistema Gi/adenil ciclase a través de la formación de un puente disulfuro entre un residuo tiol del metabolito activo del clopidogrel y un residuo de cisteína en el receptor P2Y₁₂³³. El clopidogrel es bien absorbido desde el tracto gastrointestinal y el uso de una dosis de carga de 300 mg puede reducir el tiempo requerido para lograr un bloqueo máximo de la activación de las plaquetas a 4-6 horas, comparado con 4-5 días de la ticlopidina. No se requiere ajuste de dosis en los pacientes ancianos ni en grados leves o moderados de insuficiencia renal o hepática. Después de discontinuar el clopidogrel, su efecto puede persistir hasta por 10 días. La eficacia clínica del clopidogrel fue demostrada en el estudio CAPRIE, en el que resultó ser más eficaz que la aspirina en la reducción de eventos cardiovasculares, aunque esta diferencia fue muy pequeña (5.3 vs 5.8%)³⁴. Posteriormente el estudio CURE demostró que los pacientes con angina inestable o infarto de miocardio sin elevación de segmento ST, mostraban un 20% de reducción en el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares cuando usaban clopidogrel más aspirina versus aspirina sola³⁵. Un estudio reciente (CHARISMA) mostró que la combinación de clopidogrel y aspirina no se acompañó de una reducción significativa de infarto de miocardio, accidente vascular o muerte de causa cardiovascular comparado con el uso de aspirina más placebo³⁶.

2.2.1 Resistencia al clopidogrel

A diferencia de lo que ocurre con la aspirina, el término "resistencia" al clopidogrel nunca se ha utilizado para referirse a fallas del tratamiento, a pesar de que el clopidogrel es sólo marginalmente superior a la aspirina. En la mayoría de los estudios publicados la definición de

resistencia al clopidogrel se ha basado en el grado de agregación de las plaquetas en respuesta al ADP, la cual es relativamente débil y variable. Es importante señalar que las mismas limitaciones de la agregación plaquetaria *in vitro* discutidas en el estudio de la resistencia a la aspirina, se aplican para el clopidogrel³⁷. Además, se debe considerar que aunque el clopidogrel es inhibidor del receptor P2Y₁₂, las plaquetas poseen un segundo receptor, P2Y₁, que es responsable por la onda inicial de agregación. Cuando se definió resistencia al clopidogrel como una disminución en la agregación menor al 10% con respecto al valor basal en respuesta a 5µM de ADP, hasta 11% de los pacientes cumplían criterios de no respondedores³⁸. Otro estudio que utilizó los mismos criterios encontró un 22% de no respondedores entre pacientes sometidos a angioplastia coronaria. Tomando en consideración que la agregación plaquetaria *in vitro* no es el mejor método para evaluar la resistencia al clopidogrel, las cifras anteriores pueden ser muy diferentes si se utilizaran métodos más específicos. En este sentido, la forma más precisa para determinar el efecto del clopidogrel en casos individuales sería medir el grado de inhibición de la adenilato ciclase, que es dependiente sólo de la activación de P2Y₁₂.

Los mecanismos responsables de la resistencia al clopidogrel incluyen variaciones en la actividad metabólica del citocromo P450, polimorfismos del receptor P2Y₁₂ e interferencia con el metabolismo del clopidogrel por otras drogas (estatinas).

Las consecuencias clínicas de la resistencia al clopidogrel son mayormente desconocidas. Un estudio reciente en pacientes sometidos a angioplastia coronaria demostró que aquellos con resistencia al clopidogrel (definidos según grado de inhibición de la agregación *in vitro*), presentaban un aumento en el riesgo de sufrir recurrencia de eventos cardiovasculares³⁹.

2.3 Antagonistas de la glicoproteína IIb/IIIa

Los inhibidores de la GPIIb/IIIa fueron introducidos en la práctica clínica a fines de los años 1990 y actualmente existen tres drogas disponibles comercialmente: abciximab (Reopro), eptifibatide (Integrilina) y tirofiban (Aggrastat). Sobre 100.000 pacientes han sido estudiados en más de 12 estudios randomizados que han demostrado su utilidad para reducir los eventos cardiovasculares.

Las tres drogas son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria pero difieren en sus propiedades farmacológicas y farmacocinéticas. La mayoría de los estudios preclínicos han demostrado que producen una inhibición superior al 80% de la activación de las plaquetas inducida por ADP, lo cual ha sido validado en ensayos clínicos que han demostrado eficacia y seguridad con este nivel de inhibición. El abciximab fue el primer antagonista

de la GPIIb/IIIa en ser utilizado clínicamente y es un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado (7E3) que está dirigido contra un epítipo de la GPIIb/IIIa⁴⁰. A diferencia de las otras drogas que son moléculas más pequeñas, el abciximab es menos específico por la GPIIb/IIIa y también se une a la integrina $\alpha_v\beta_3$ y a la $\alpha_M\beta_3$ presente en leucocitos activados. El abciximab posee una vida media plasmática muy corta pero permanece unido a las plaquetas por largo tiempo. El tiempo de sangría se normaliza después de 12 horas de una infusión estándar en la mayoría de los pacientes. La agregación plaquetaria inducida por 20 μM de ADP vuelve a la basal en 24 horas en la mayoría de los pacientes y en 48 horas en todos⁴¹. Las tras dos moléculas de menor tamaño se desarrollaron debido al potencial inmunogénico, irreversibilidad y alto costo de producción de un anticuerpo monoclonal. Estas moléculas poseen una secuencia RGD que ocupan el sitio de unión para esta secuencia presente en la GPIIIa. A diferencia del abciximab estas moléculas son específicas por la GPIIb/IIIa y no se unen a otras integrinas. Además, debido a su pequeño tamaño son muy poco inmunogénicos. Estas drogas tienen una alta afinidad por la GPIIb/IIIa aunque menor que el

abciximab; sin embargo, sus efectos sobre la función de las plaquetas desaparecen rápidamente después de suspendida la droga. Otra diferencia importante entre estas drogas es la estequiometría. Las drogas pequeñas requieren la presencia de más de 100 moléculas por GPIIb/IIIa para obtener efecto completo comparado con 1.5 moléculas de abciximab por receptor. Finalmente, debido a que la ruta de excreción del tirofiban y eptifibatide es a través de los riñones, estas dosis de las drogas deben ser ajustadas en pacientes con insuficiencia renal. La tabla muestra las principales características de los antagonistas de la GPIIb/IIIa. Una observación muy importante en cuanto a la actividad antitrombótica de estas drogas está relacionada con la generación de trombina. Actualmente el modelo celular de hemostasia¹⁵ propone que la superficie de las plaquetas activadas es fundamental para el ensamblaje de los complejos de la coagulación (tenasa y protrombinasa). En línea con esta observación, se ha demostrado que el uso de abciximab inhibe significativamente la generación de trombina iniciada por acción de factor tisular, lo cual puede contribuir a la actividad antitrombótica de los antagonistas de la GPIIb/IIIa^{42, 43}.

Tabla 2. Características de los antagonistas de la GPIIb/IIIa.

	Abciximab	Eptifibatide	Tirofiban
Tipo	Anticuerpo monoclonal	Heptapéptido cíclico	Peptidomimético
Vida media plaquetaria	Larga (horas)	Corta (segundos)	Corta (segundos)
Vida media plasmática	Corta (minutos)	Larga (2.5 h)	Larga (1.8 h)
Dosis			
En bolo	0.25 mg/kg	180 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ x 30
Infusión	0.125 mg/kg/min	2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$	min 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
Ajuste dosis en insuficiencia renal	No	Si	Si
Disminución generación de trombina	++	+	+
Costo	\$\$\$\$	\$\$	\$

Conclusiones

La terapia antiplaquetaria se ha instaurado para prevenir los eventos cardiovasculares en pacientes con alto riesgo. Actualmente se dispone de cuatro clases de droga: Aspirina, tienopiridinas, antagonistas de GPIIb/IIIa y anticoagulantes. A pesar de su probada eficacia aún se observan episodios trombóticos en pacientes en tratamiento. Además se ha observado en forma creciente que una

proporción importante de paciente tratados con aspirina o tienopiridinas presentan disminución de la respuesta a estas drogas ("resistencia"). Debido a que las plaquetas juegan un papel fundamental en la etiopatogenia de la aterotrombosis, el futuro del desarrollo de las drogas antiplaquetarias incluirá la búsqueda de nuevos blancos, la inhibición de la capacidad de las plaquetas de liberar citoquinas inflamatorias y el perfeccionamiento de los métodos para evaluar la resistencia o fallas al tratamiento.

Referencias

1. RUGGERI ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002; 8: 1227-1234.
2. STEINHUBL SR, MOLITERNO DJ. The role of the platelet in the pathogenesis of atherothrombosis. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005; 5: 399-408.
3. SANTOS MT, ARANDA E, VALLÉS J, PALOMO I. Hemostasia primaria En: Palomo I, Pereira J, Palma J. (Eds.) *Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico*. Editorial Universidad de Talca, Talca 2005. Pags. 459-492.
4. BOMBELI T, SCHWARTZ BR, HARLAN JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb/IIIa-dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), alpha v beta 3 integrin and GPIIb/IIIa. *J Exp Med* 1998; 187: 329-339.
5. BOMBELI T, SCHWARTZ BR, HARLAN JM. Endothelial cells undergoing apoptosis become proadhesive for nonactivated platelets. *Blood* 1999; 93: 3831-3838.
6. GAWAZ M, LANGER H, MAY AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3378-3384.
7. WEBER C. Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in a crime. *Circ Res* 2005; 96: 612-616.
8. HENN V, SLUPSKY JR, GRAFE M, ANAGNOSTOPOULOUS I, FORSTER R, MULLER-BERGHAUS G, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998; 391: 591-594.
9. MACH F, SCHONBECK U, SUKHOVA GK, ATKINSON E, LIBBY P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signaling. *Nature* 1998; 394: 200-203.
10. NIESWANDT B, BRAKEBUSCH C, BERGMEIER W, SCHULTE V, BOUVARD D, MOKHTAR-NEJAD R et al. Glycoprotein VI but not alpha2beta1 integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J*. 2001 May 1;20(9):2120-30.
11. RUGGERI ZM. Old concepts and new developments in the study of platelet aggregation. *J Clin Invest* 2000; 105: 699-701.
12. VANSCHOONBEEK K, FEIJGE MAH, VAN KAMPEN RJW, KENIS H, HEMKER HC, GIESEN PLA, HEEMSKERK JWM. Initiating and potentiating role of platelets in tissue-factor-induced thrombin generation in the presence of plasma: subject-dependent variations in thrombogram characteristics. *J Thromb Haemost* 2003; 2: 476-484.
13. WALSH PN, SCHMAIER AH. 1994. Platelet-coagulant protein interactions. En: *Hemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 3° Edición, RW Colman, J Hirsh, VJ Marder, EW Salzman (eds). JB Lippincott, Philadelphia, 629-651.
14. SIMS PJ, WIEDMER T, ESMON CT, WEISS HJ, SHATTIL SJ. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation on the platelet plasma membrane. *Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity*. *J Biol Chem* 1989; 264: 17049-17057.
15. HOFFMAN M, MONROE DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85: 958-965.
16. GAWAZ M. Platelets in the onset of atherosclerosis. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36: 206-210.
17. WEBER C. Platelets and chemokines in atherosclerosis. Partners of a crime. *Circ Res* 2005; 96: 612-616.
18. SMITH WL, GARAVITO RM, DEWITT DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and-2. *J Bio Chem* 1996; 271: 33157-33160.
19. VANE JR, BAKHLE YS, BOTING RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97-120.
20. PATRONO C. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 1994; 330: 1287-1294.
21. PEDERSEN AK, FTIZGERALD GA. Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med* 1984; 311: 1206-1211.
22. MCADAM BF, CATELLA-LAWSON F, MARDINI IA, KAPOOR S, LAWSON JA, FITZGERALD GA. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 272-277.
23. FOX CS, COADY S, SORLIC PD, LEVY D, MEIGS JB, D'AGOSTINO RB et al. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17.187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) collaborative group. *Lancet* 1988; 2: 349-360.
24. Antithrombotic Trialist's Collaboration (ATT). Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71-86.
25. PATRONO C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemostas* 2003; 1: 1710-1713.
26. VIOLI F, PIGNATELLI P. Aspirin resistance: is this term meaningful? *Curr Opin Hematol* 2006; 13: 331-336.
27. CATTANEO M. Aspirin and Clopidogrel. Efficacy, safety and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1980-1987.
28. EIKELBOOM JW, HIRSH J, WEITZ JI, JOHNSTON M, YI Q, YUSUF S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650-1655.
29. GACHET C, LEÓN C, HECHLER B. The platelet P2 receptors in arterial thrombosis. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36: 223-227.
30. SUGIDACHI A, ASAI F, MONEDA K, IWAMURA R, OGAWA T, OTSOGURO K, KOIKE H. Antiplatelet action of R-99224, an active metabolite of a novel thienopyridine-type G(i)-linked P2T antagonist, CS-747. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 47-54.
31. JANZON L. The STIMS trial: the ticlopidine experience and its clinical applications. *Swedish Ticlopidine Multicenter Study*. *Vasc Med* 1996; 1: 141-143.
32. LEON MB, BAIM DS, POPMA JJ, GORDON PC, CUTLIP DE, HO KK, et al. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. *Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators*. *N Engl J Med* 1998; 339: 1665-1671.
33. SAVI P, PEREILLO JM, UZABIAGA MF, COMBALBERT J, PICARD C, MAFFRAND JP. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2000; 84: 891-896.
34. CAPRIE Steering Committee: A randomised, blinded trial of

- clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-1339.
35. JNEID H, BHATT DL, CORTI R, BADIMON JJ, FUSTER V, FRANCIS GS et al. Aspirin and clopidogrel in acute coronary síndromes: therapeutics insights from the cure studies. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1145-1153.
36. BHATT DL, FOX KAA, HACKE W, BERGER PB, BLACK HR, BODEN WE et al. Clopidogrel and aspirin versus Aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354: 1706-1717.
37. BURNS TL, MOOSS AN, HILLEMANN DE. Antiplatelet drug resistance: not ready for prime time. *Pharmacotherapy* 2005; 25: 1621-1628.
38. MULLER I, BESTA F, SCHILZ C, MÁSSBERG S, SCHONIG A, GAWAZ M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783-787.
39. MATETZKY S, SHENKMAN B, GUETTA V, SCHECHTER M, BIENART R, GOLDENBERG I et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109: 3171-3175.
40. O'SHEA JC, MADAN M, CANTOR WJ, PACCHIANA CM, GEENBERG S, JOSEPH DM et al. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. The EPIC investigation. *N Engl J Med* 1994; 330: 956-961.
41. SCARBOROUGH RM, KLEIMAN NS, PHILLIPS DR,. Platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists. What are the relevant issues concerning their pharmacology and clinical use? *Circulation* 1999; 100: 437-444.
42. REVERTER JC, BEGUIN S, KESSELS H, KUMAR R, HEMKER HC, COLLIER BS. Inhibition of platelet mediated tissue factor-induced thrombin generation by the mouse/human chimeric 7E3 antibody: potential implications for the effect of c7E3 fab treatment on acute thrombosis and clinical restenosis. *J Clin Invest* 1996; 98: 863-874.
43. DANGAS G, BADIMON JJ, COLLIER BS, FALLON JT, SHARMA SK, HAYES RM, et al. Administration of abciximab during percutaneous coronary intervention reduces both ex vivo platelet thrombus formation and fibrin deposition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1342-1349.