

Trombosis y enfermedad coronaria: neutrófilos, óxido nítrico y aspirina

Antonio López-Farré, Jerónimo Farré, Lourdes Sánchez de Miguel, José Romero, Juan Gómez, Luis Rico y Santos Casado

Laboratorio de Nefrología, Hipertensión e Investigación Cardiovascular. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

ácido acetilsalicílico/ agregación plaquetaria/ enfermedad coronaria/ infarto de miocardio/ neutrófilos/ óxido nítrico/ plaquetas/ tromboembolismo

En los últimos años, se ha avanzado enormemente en el conocimiento de los mecanismos que regulan la agregación plaquetaria y la adhesión al endotelio. En concreto, se han estudiado con detalle las interacciones entre plaquetas, células endoteliales y neutrófilos. Estas interacciones no sólo afectan a las propiedades de estas células como promotoras o inhibidoras de la trombosis sino también a otros aspectos de la regulación de la función vascular. De esta forma, el fenómeno trombótico se entiende ahora como un fenómeno multicelular donde las interacciones entre plaquetas, neutrófilos y células endoteliales regulan el crecimiento del trombo. Así, se ha demostrado cómo dos sustancias vasodilatadoras producidas por el endotelio como son la prostaciclina y el óxido nítrico tienen efectos antiagregantes plaquetarios.

Es particularmente importante la activación plaquetaria en procesos de isquemia miocárdica y se han desarrollado, por ello, numerosas estrategias farmacológicas para evitar la activación plaquetaria intravascular. En este sentido, la aspirina sigue siendo uno de los principales fármacos usados para prevenir y reducir la lesión isquémica. El uso corriente de la aspirina suele ser en dosis bajas capaces de disminuir la agregación plaquetaria *in vivo* mediante su inhibición selectiva de la producción de tromboxano A_2 en las plaquetas manteniendo la producción de prostaciclina en el endotelio.

Durante estos últimos años, nuestros estudios se han desarrollado sobre la base de que los efectos antiagregantes de la aspirina no sólo se explican por los mecanismos descritos anteriormente sino también a través de su acción sobre los neutrófilos. Nuestros estudios *in vitro* y *ex vivo* han demostrado que los neutrófilos aumentan los efectos antiagregantes que la aspirina produce sobre las plaquetas. Demostramos que la aspirina estimula la producción de óxido nítrico de los neutrófilos inhibiendo los efectos agregantes plaquetarios de la trombina, adrenalina y adenosín trifosfato. Por otro lado, se ha estudiado extensamente el papel de los neutrófilos en los acontecimientos isquémicos

en los que producen una lesión tisular debido a la liberación de proteasas, radicales libres del oxígeno y factor de necrosis tumoral- α . En un modelo agudo de isquemia/reperfusión en conejos, hemos demostrado cómo la aspirina es capaz de aumentar la producción de óxido nítrico por el neutrófilo proporcionando en este caso un efecto beneficioso de los neutrófilos en el infarto de miocardio. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprobar los mecanismos de acción de la aspirina durante los fenómenos trombóticos y su efecto sobre las diferentes células del entorno vascular.

THROMBOSIS AND CORONARY HEART DISEASE: NITRIC OXIDE, NEUTROPHILS AND ASPIRIN

In recent years, relevant changes have occurred in the knowledge of the cellular mechanisms regulating platelet aggregation and adhesion to the endothelial surface. In particular, major aspects of the interactions between platelets and endothelial cells and neutrophils have been clarified. These interactions involve not only thrombosis-promoting or thrombosis-inhibiting properties but also several aspects of the regulation of vascular function. A new concept has progressively emerged showing thrombosis as a multicellular event in which cell-to-cell interactions between platelets, neutrophils, and endothelium regulate the size of a growing thrombus. In brief, there is consistent evidence showing that two vasodilating mediators produced by endothelial cells and neutrophils (nitric oxide and prostacyclin) have antiaggregating platelet effects.

Platelet activation is particularly relevant in myocardial ischemia, and several pharmacological strategies have been devised to prevent intravascular platelet activation. Aspirin remains a keystone of these preventive and damage-limiting strategies. Current knowledge maintains that low doses of aspirin decrease *in vivo* platelet aggregation by a selective inhibitory effect on thromboxane A_2 production by platelets with maintenance of prostacyclin production by the endothelium.

Correspondencia: Dr. A. López-Farré.
Laboratorio de Nefrología, Hipertensión e Investigación Cardiovascular.
Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.

We have recently focussed our research on the basis that the antiaggregating effect of aspirin could be explained not only by the above-mentioned effects on thromboxane A₂ synthesis, but also through its action on neutrophils. Our *in vitro* and *ex vivo* studies have demonstrated that neutrophils enhance the antiaggregating effects of acetylsalicylic acid on platelets. We have shown that acetylsalicylic acid stimulates nitric oxide production on neutrophils inhibiting the aggregating effects of thrombin, ADP or epinephrine on platelets. The role of the neutrophils in ischemic events enhancing the tissue damage through the release of several proteases, reactive oxygen species and tumor necrosis factor-alpha has been extensively demonstrated. In an experimental model of acute ischemia/reperfusion in rabbits, we have shown that acetylsalicylic acid is able to enhance the nitric oxide production by neutrophils providing a potential mechanism for the beneficial action of aspirin in the myocardial infarction. Further research is needed to assess the mechanisms of the action of aspirin during the thrombotic phenomena and its effects on the different types of cells that compound the microvascular environment.

(*Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 171-177)

INTRODUCCIÓN

El mejor conocimiento de los mecanismos de interacción de las células que componen el microentorno vascular (plaquetas, neutrófilos, células endoteliales, músculo liso, monocitos, linfocitos, etc.) puede desvelar nuevos aspectos de la patogénesis de procesos vasculares como la aterosclerosis, la isquemia miocárdica y la disfunción endotelial.

La adhesión de las plaquetas al subendotelio, su agregación y reclutamiento, propician la formación de un trombo^{1,2}. En los últimos años, se ha demostrado que la trombosis vascular es un proceso en el que intervienen múltiples células, participando de manera directa no sólo las plaquetas, sino también otros elementos celulares como las células del endotelio vascular y elementos formes circulantes, como los neutrófilos. El papel de los neutrófilos en la formación y crecimiento del trombo es todavía controvertido.

FORMACIÓN DEL TROMBO

Cuando la continuidad endotelial en un vaso está interrumpida, o el endotelio es disfuncionante y ha perdido sus propiedades antitrombóticas, las plaquetas se adhieren a la pared endovascular³⁻⁶. Para que se inicie el proceso de adhesión plaquetaria es preciso que estos

elementos formes circulantes sean, en cierto modo, frenados. El mecanismo íntimo de este proceso de frenado es enormemente complejo y sólo parcialmente conocido en el momento actual⁷. El inicio de la formación de un trombo cuando no existe continuidad endotelial se comprende mejor que cuando existe sólo disfunción endotelial o ante superficies artificiales como son las prótesis valvulares cardíacas. En estas dos últimas situaciones es posible que proteínas circulantes, como el fibrinógeno, sean adsorbidas por estas superficies (el endotelio disfuncionante o el material protésico) iniciándose así la interacción (y adhesión) plaquetaria.

En el proceso de adhesión intervienen factores que actúan desde la superficie lesionada o disfuncionante, bien frenando directamente las plaquetas circulantes o haciendo que éstas expresen proteínas frenadoras en su superficie, que comúnmente se engloban dentro del concepto de proteínas de adhesión⁸. Entre estas proteínas frenadoras cabe destacar una familia de proteínas denominadas selectinas, de las que se han descrito tres miembros (E, L y P). La P-selectina se encuentra en los gránulos alfa de las plaquetas y también en los cuerpos de Palade de las células endoteliales. La expresión en la superficie plaquetaria de la P-selectina se produce en el curso del proceso de degranulación trombocitaria⁹ inducido por múltiples factores como el colágeno, la adrenalina, el ADP, etc. La presencia de la P-selectina en la superficie de las plaquetas no sólo va a favorecer la interacción de la plaqueta con la pared vascular, sino también la interacción de estas células con los leucocitos. En este sentido, Newmann et al¹⁰ han demostrado recientemente que la interacción de las plaquetas con leucocitos circulantes o adheridos induce la liberación por parte de éstos de distintas citocinas como interleucina 1β o interleucina 8. Este efecto se inhibió bloqueando la P-selectina plaquetaria. En estudios previos realizados en pacientes con infarto agudo de miocardio, se ha demostrado una liberación cardíaca y sistémica de citocinas proinflamatorias. Estas citocinas, a su vez, podrían modular la respuesta inflamatoria local y sistémica asociada al infarto agudo de miocardio. Es decir, la interacción neutrófilo-plaqueta podría contribuir a la respuesta inflamatoria de los síndromes coronarios agudos.

Las plaquetas, al adherirse a la pared vascular (al endotelio, si éste es disfuncionante, o a la matriz subendotelial, si hubo pérdida de continuidad endotelial) liberan agentes protrombóticos, vasoactivos y quimiotácticos para la práctica totalidad de las células circulantes de la sangre, lo que da lugar a la formación y crecimiento del trombo^{2,4,11}. La interacción entre la plaqueta y otros elementos celulares (incluidos otros trombocitos) se lleva a cabo a través de distintas proteínas de adhesión y agregación expresadas en la superficie de la membrana trombocitaria¹². El término adhesión se refiere a la unión de la plaqueta con cualquier

otra célula que no sea un trombocito. El término agregación, sin embargo, se refiere exclusivamente a la unión plaqueta-plaqueta. Cuando se produce una falta de continuidad endotelial, la adhesión parece depender de la interacción entre diversas glucoproteínas de la membrana plaquetaria y componentes de la matriz sub-endotelial. Entre tales glucoproteínas se encuentran la Ia y Ib que intervienen en los mecanismos de adhesión y la IIb-IIIa que participa en el proceso de adhesión y agregación¹³. Así, la glucoproteína (GP) IIb-IIIa es un complejo que permite agregar entre sí plaquetas a través de fibrinógeno, vitronectina, fibronectina y el denominado factor de von Willebrand, o adherir plaquetas a la pared vascular a través del factor de von Willebrand o la fibronectina.

ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y FUNCIÓN PLAQUETARIA

La inhibición de la actividad plaquetaria se basa fundamentalmente en dos principios: *a)* la estimulación de los factores antiagregantes fisiológicos endógenos, y *b)* la inhibición de los factores protrombóticos. Ambas situaciones pueden alcanzarse actuando sobre la síntesis de dichos factores o sobre los mecanismos intraplaquetarios que utilizan tales factores para inhibir o estimular la agregación plaquetaria.

Entre los agentes agregantes más potentes que existen en el organismo se encuentra el tromboxano A_2 (TXA_2). El TXA_2 tiene también un potente efecto vasoconstrictor; la vasoconstricción condiciona modificaciones en el flujo sanguíneo vascular que en sí mismas favorecen la adhesión plaquetaria y aumentan el estrés de rozamiento que puede inestabilizar una placa de ateroma^{14,15}. El TXA_2 es sintetizado y liberado por las plaquetas a partir del ácido araquidónico, en respuesta a una gran variedad de estímulos que activan la ciclooxigenasa plaquetaria. La ciclooxigenasa convierte el ácido araquidónico en un intermediario metabólico que, a su vez, se transforma en TXA_2 bajo la influencia de la sintetasa del TXA_2 . La agregación plaquetaria inducida por el TXA_2 es irreversible. Muchos de los factores que actúan sobre la activación plaquetaria lo hacen a través del TXA_2 , de modo que este agente sirve como amplificador de la respuesta plaquetaria a estímulos protrombóticos como el ADP, la adrenalina o el colágeno^{14,15}.

El ácido acetilsalicílico, de forma selectiva, acetila el grupo hidroxilo de un residuo de serina en posición 529 de la cadena polipeptídica de la GH sintasa 1 de las plaquetas, causando la pérdida irreversible de la actividad ciclooxigenasa plaquetaria^{16,17}. Las plaquetas, al carecer de núcleo, no tienen la maquinaria biosintética necesaria para formar nueva ciclooxigenasa, por lo que la inhibición irreversible de esta actividad enzimática inducida por el ácido acetilsalicílico no puede repararse durante la vida de la plaqueta (aproxima-

madamente 8-10 días). Tras interrumpir un tratamiento con ácido acetilsalicílico, la actividad ciclooxigenasa plaquetaria se recupera de forma lenta, en función de la nueva generación de trombocitos. A nivel plaquetario, la pérdida de la actividad de la ciclooxigenasa impide la generación y liberación de TXA_2 ¹⁸.

El ácido acetilsalicílico también inhibe la actividad ciclooxigenasa en otras células, como el endotelio, que dispone del arsenal enzimático necesario para producir endoperóxidos cíclicos a partir del ácido araquidónico. La célula endotelial tiene una tasa muy escasa de sintetasa de tromboxano, mientras que dispone de gran cantidad de sintetasa de prostaciclina. La célula endotelial, por tanto, apenas genera TXA_2 sino que a través de la prostaciclina-sintetasa condiciona la formación de prostaciclina, una de las sustancias endógenas antiagregantes y vasodilatadoras más potentes. Aunque este efecto podría entenderse como la contrapartida fisiológica de la acción del ácido acetilsalicílico sobre la plaqueta, en el organismo vivo posiblemente está contrarrestado por el hecho de que, en el endotelio, el efecto sobre la ciclooxigenasa es transitorio, dado que la célula del endotelio posee núcleo. Esta acción, en principio negativa, del ácido acetilsalicílico sobre la agregación plaquetaria a través de su efecto endotelial (el denominado dilema de la aspirina) es la base para el uso de dosis bajas de esta sustancia en pacientes con cardiopatía isquémica¹⁹.

PAPEL DEL NEUTRÓFILO EN LA REGULACIÓN DE LA AGREGACIÓN DE LAS PLAQUETAS

El efecto antiagregante plaquetario del ácido acetilsalicílico no puede explicarse únicamente por el mecanismo anteriormente aludido de la inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria. Otras células de la sangre pueden tener un papel importante en la acción antiplaquetaria del ácido acetilsalicílico. En este sentido, se ha demostrado que en presencia de ácido acetilsalicílico, los eritrocitos inhiben la actividad plaquetaria^{6,20}.

También, nuestro laboratorio ha puesto de manifiesto recientemente que el ácido acetilsalicílico también ejerce un potente efecto antiagregante plaquetario estimulando en los neutrófilos la liberación de óxido nítrico (NO)²¹. El NO es un gas generado por distintas células del entorno vascular (entre ellas el neutrófilo) que tiene un potente efecto vasodilatador y antiagregante plaquetario a través de un aumento de GMP-cíclico en la plaqueta²². Además, el NO regula la expresión de distintas proteínas de adhesión, entre las que se encuentra la P-selectina anteriormente citada²³. El GMP-cíclico disminuye la cantidad de calcio libre intracitosólico en la plaqueta, catión que resulta imprescindible en el proceso de agregación.

Nuestros experimentos in vitro demostraron que en presencia de ácido acetilsalicílico, los neutrófilos inhi-

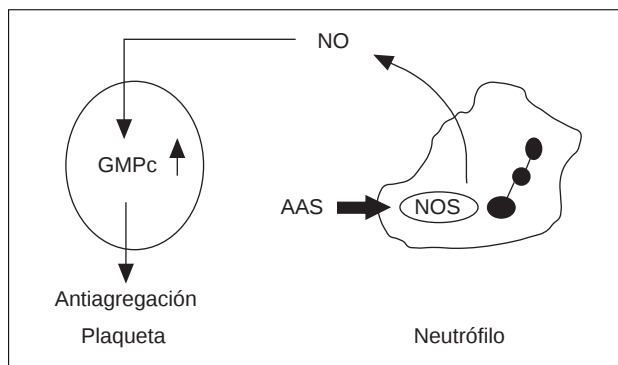


Fig. 1. Esta figura resume el mecanismo por el cual el óxido nítrico (NO) regula la interacción entre neutrófilos y plaquetas. El ácido acetilsalicílico (AAS), por mecanismos todavía desconocidos, estimula la liberación de NO por los neutrófilos. Este NO actúa sobre las plaquetas incrementando sus concentraciones de GMP cíclico (GMPc) e induciendo una respuesta antiagregante plaquetaria; NOS: óxido nítrico sintetasa.

ben la agregación de las plaquetas inducida por trombina, ADP o adrenalina. En ausencia de neutrófilos, el ácido acetilsalicílico no varió la respuesta agregante de las plaquetas a la trombina²¹. 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 antiagregante plaquetario al activar las plaquetas con ADP o adrenalina, este efecto se potenció en presencia de neutrófilos, lo que indica que la inhibición de la agregación plaquetaria mediada por los neutrófilos en presencia de aspirina se modificó a nivel posreceptor (fig. 1).

Hemos obtenido resultados similares con plaquetas y neutrófilos aislados de voluntarios sanos a quienes

se había administrado una dosis diaria de 200 mg de ácido acetilsalicílico por vía oral, durante 4 días. Antes de tomar el ácido acetilsalicílico, los neutrófilos de estos voluntarios no modificaron la agregación de las plaquetas en respuesta a la trombina; sin embargo, tras 4 días de tratamiento con ácido acetilsalicílico, los neutrófilos inhibieron de forma significativa la agregación de las plaquetas.

Al igual que la célula endotelial, el neutrófilo tiene la maquinaria enzimática necesaria para generar de forma constitutiva NO²⁴. 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. 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-plaqueta²¹. 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 para interpretar el efecto protector de la aspirina en la lesión isquémica.

IMPLICACIÓN DE LA PLAQUETA Y EL NEUTRÓFILO EN LOS SÍNDROMES CORONARIOS AGUDOS

Es bien conocida la importancia que tiene la formación del trombo en la génesis y desarrollo del infarto de miocardio y de otros síndromes coronarios agudos, principalmente los que resultan en angina en reposo o infarto sin onda Q^{11,14,25} (fig. 2). Muchas muertes repentinas son también debidas al desarrollo de arritmias de origen isquémico (principalmente fibrilación ventricular). La angina inestable (sobre todo la que cursa

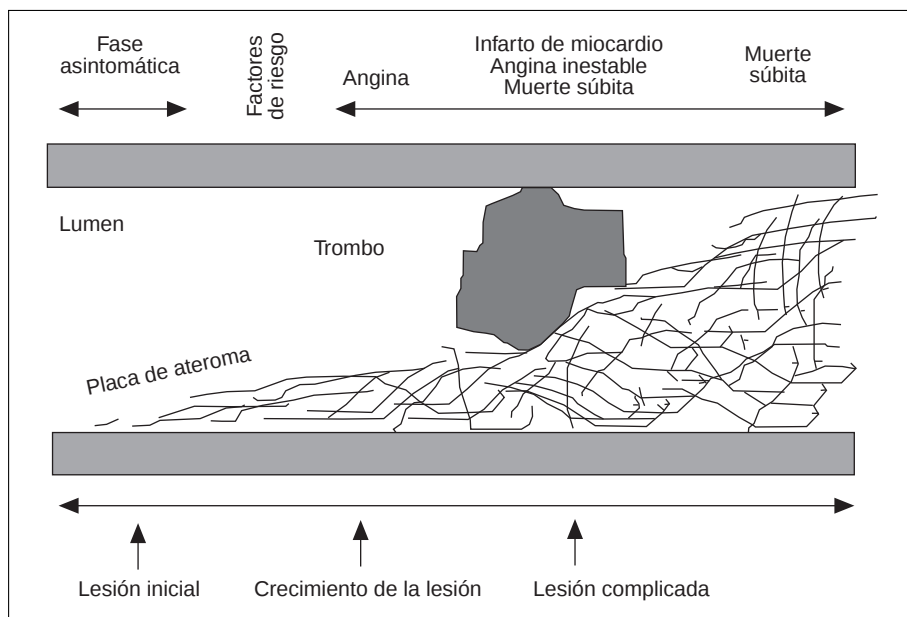


Fig. 2. Esquema en el que se observa la progresión de la enfermedad aterosclerótica de un vaso. Durante la primera etapa, asintomática, se forman pequeñas placa ateroscleróticas que todavía no producen una disminución importante del flujo sanguíneo. Si en ese momento existen factores de riesgo, las placas crecen hasta que alcanzan un tamaño tal que va a dificultar el riego sanguíneo durante el ejercicio o en caso de necesitar un incremento del flujo sanguíneo (angina). A partir de este momento, cualquier rotura de la placa puede provocar un fenómeno trombótico que puede conducir a un infarto de miocardio o muerte súbita.

como angina en reposo), el infarto miocárdico sin onda Q y el infarto agudo transmural representan, en realidad, el espectro continuo de un mismo proceso patológico: la trombosis coronaria aguda¹⁴. Una cierta proporción de estos pacientes van incluso a desarrollar una muerte súbita.

En la angina inestable se admite que una fisura, incluso pequeña, en una placa aterosclerótica, puede ser el gatillo que dispare la reacción en cadena que resulta en la formación de un trombo y en la consiguiente reducción del flujo coronario que empeora (inestabiliza) la angina²⁶. Los episodios de dolor en reposo pueden deberse a oclusiones trombóticas completas pero transitorias del vaso, o a oclusiones incompletas sobre las que se sobreañaden fenómenos vasospásticos coronarios, también transitorios. Las plaquetas y la disfunción endotelial (pérdida de la capacidad relajante en respuesta a estímulos vasodilatadores que actúan a través del NO) pueden desempeñar un papel importante en la génesis de tales vasospasmos coronarios asociados al trombo agudo²⁷. El factor de crecimiento derivado de las plaquetas es un vasoconstrictor muy potente. Las plaquetas activadas liberan serotonina que amplifica el efecto vasospástico del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

En el infarto sin onda Q, los fenómenos trombóticos totalmente oclusivos (con o sin vasospasmo asociado) serían más persistentes que los que dan lugar a síndromes anginosos inestables. Eventualmente, el desarrollo de circulación colateral podría impedir, en presencia de un vaso total y persistentemente ocluido, el desarrollo de una necrosis transmural quedando el accidente coronario agudo como un infarto sin onda Q²⁸.

Hoy día se admite que fisuras algo mayores en placas ateroscleróticas darían lugar a la formación de un trombo persistente (posiblemente mayor) que dejaría sin flujo a un territorio miocárdico durante más de una hora¹². La placa ateromatosa fisurada no tiene por qué ser una zona muy estenosada antes de haber desarrollado la complicación trombótica. De hecho, la mayoría de las placas que se fisuran y dan lugar a un infarto de miocardio (y a los síndromes coronarios agudos en general) suelen estenotar la luz del vaso sólo de forma ligera o moderada antes de desarrollar un trombo mural. Estudios autópsicos en pacientes fallecidos súbitamente también han encontrado placas coronarias fisuradas. Se ha postulado que la rotura de un trombo mural puede dar lugar a embolias distales de agregados plaquetarios que, ocluyendo porciones muy distales del árbol coronario, podrían causar arritmias ventriculares fatales a pesar de haber producido necrosis miocárdicas mínimas.

El neutrófilo desempeña también un papel destacado en muchos de los fenómenos que ocasionan todos estos síndromes coronarios agudos^{8,29}. Las plaquetas activadas y el propio endotelio activado tienen la capacidad de atraer a los neutrófilos y de modificar la acti-

vidad de estos polimorfonucleares. El TXA₂ liberado por las plaquetas activadas incrementa la adhesividad de los neutrófilos y su diapédesis a través del endotelio. El neutrófilo, a su vez, podría favorecer la rotura de la placa de ateroma a través de la liberación de enzimas proteolíticas del tipo de la elastasa y de la colagenasa²⁹. Sin embargo, su papel parece más claro en la fragmentación del trombo mural a través de estas proteasas y de su efecto de atracción sobre otras células circulantes con potente actividad proteolítica (principalmente los monocitos); esta atracción se ejerce por los neutrófilos mediante la liberación de factores quimiotácticos, como radicales libres y citocinas^{10,30}. Muchos aspectos acerca del papel que pueden desempeñar los neutrófilos en la patogenia de los síndromes coronarios agudos son todavía parcial o totalmente desconocidos. Los neutrófilos activados parecen producir vasoconstricción sobre vasos ateroscleróticos pero no sobre arterias normales, fenómeno que podría ser mediado por el TXA₂³¹. El neutrófilo activado produce factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que, a su vez, induce disfunción endotelial. Si el TNF- α está o no aumentado en el infarto agudo de miocardio y en el resto de los síndromes coronarios agudos es una cuestión hoy día altamente controvertida, por lo que el papel de esta citocina en la fisiopatología de la isquemia miocárdica aguda está todavía por establecerse. Ya hemos comentado previamente otras relaciones entre neutrófilos y plaquetas, así como el papel de los polimorfonucleares en la formación del trombo y el papel de las plaquetas en la liberación de otras citocinas por el neutrófilo.

Es preciso comentar aquí el papel del neutrófilo en la lesión miocárdica a través de la producción de radicales libres de oxígeno. Casi inmediatamente después de su activación, el consumo de oxígeno del neutrófilo aumenta unas cien veces a través de la catálisis del oxígeno a anión superóxido mediada por la activación de la enzima NADPH-oxidasa^{8,29}. El anión superóxido es un radical libre del oxígeno (más correctamente denominados especies reactivas del oxígeno) que tiene alto poder citotóxico y además puede participar en reacciones que dan lugar a otros radicales libres citotóxicos (peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilos, cloraminas, etc.). El anión superóxido es, además, un potente vasoconstrictor y aumenta la sensibilidad del músculo liso vascular a otras influencias vasoconstrictoras, como el estímulo alfaadrenérgico³².

Los neutrófilos se acumulan en el miocardio durante el proceso de isquemia/reperfusión bajo la influencia de distintos quimioattractantes. Estudios experimentales han demostrado que el neutrófilo participa en la lesión miocárdica inducida tras isquemia/reperfusión^{33,34}. Así, el tamaño del infarto en animales deplecionados de neutrófilos sometidos a un proceso de isquemia/reperfusión coronaria es menor³⁵. Resultados similares se han obtenido impidiendo la adhesión de los neutró-

filos al miocardio mediante el empleo de anticuerpos monoclonales contra la subunidad CD18 de las proteínas de adhesión β -2 integrinas que se expresan en la superficie de los neutrófilos activados^{36,37}.

En nuestro laboratorio hemos puesto de manifiesto que, en presencia de ácido acetilsalicílico, neutrófilos de conejos sometidos a isquemia/reperfusión coronaria tienen mayor capacidad antiagregante plaquetaria y generan más NO que neutrófilos de esos mismos animales antes de sufrir el proceso isquémico³⁸. Es interesante destacar que en ausencia de aspirina los neutrófilos de los conejos isquémicos también generan más NO que los controles, si bien este NO generado por los neutrófilos activados por la isquemia no es capaz de impedir la agregación plaquetaria. Estas observaciones nos hicieron sugerir que el proceso de isquemia/reperfusión miocárdica activa de algún modo al neutrófilo para que éste consiga generar cantidades mayores de NO en el conejo. Si este fenómeno se produce o no en humanos es desconocido. El mecanismo por el que la presencia de aspirina sea la que confiera el poder antiagregante plaquetario al NO liberado por el neutrófilo del conejo isquémico es desconocido, así como si este fenómeno tiene lugar en humanos. También se desconoce si el grado de activación de la plaqueta y el neutrófilo es similar cuantitativa y cualitativamente en los distintos tipos de síndromes isquémicos coronarios que se presentan en la clínica humana. Dadas las múltiples y no siempre conocidas interrelaciones existentes entre las variadas sustancias generadas por las diversas poblaciones celulares involucradas, existen probabilidades fundadas de que esto así sea, aunque hasta la fecha no haya sido estudiado.

Las dosis de ácido acetilsalicílico empleadas en nuestro modelo experimental de isquemia/reperfusión miocárdica en el conejo fueron de 60 mg para animales entre 3 y 4 kg de peso. Estas son dosis habituales en modelos experimentales. En la clínica humana la cuestión dosis ha sido mal estudiada, principalmente en cuanto a la cuantía de la cantidad inicial de ácido acetilsalicílico administrado³⁹⁻⁴¹. Principalmente se ha valorado si existen diferencias entre megadosis (en torno a un gramo diario) con dosis no antiinflamatorias de aspirina (menores de 500 mg) en su papel de dosis de mantenimiento. En este sentido, los ensayos clínicos disponibles no han encontrado que dosis de mantenimiento mayores de un gramo diario de aspirina sean superiores a las dosis de mantenimiento convencionales entre 75 y 325 mg diarios. En el paciente coronario agudo, y dado que las bajas dosis de aspirina tardan varios días en alcanzar su efecto antiplaquetario completo, se recomiendan dosis iniciales de 325 a 500 mg e incluso su administración en tabletas masticables para favorecer una absorción a través de la mucosa bucal, que es más rápida que su absorción gástrica⁴².

BIBLIOGRAFÍA

- Marcus AJ, Safier LB. Thromboregulation: multicellular modulation of platelet reactivity in hemostasis and thrombosis. *FASEB J* 1993; 7: 516-522.
- Marcus AJ. Thrombosis and inflammation as a multicellular process: pathophysiologic significance of transcellular metabolism. *Blood* 1990; 76: 1.903-1.907.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 362: 801-808.
- Marcus AJ, Safier LB, Broekman MJ, Islam N, Fliesbach JH, Hajjar KA et al. Thrombosis and inflammation as multicellular processes: significance of cell-cell interactions. *Thromb & Haem* 1995; 74: 213-217.
- Metha JL, Nicolini FA, Donnelly WH, Nichols WW. Platelet-leukocyte-endothelial interactions in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1992; 69: 8B-13B.
- Marcus AJ. Thrombosis and inflammation as multicellular processes: significance of cell-cell interactions. *Sem Hematol* 1994; 31: 261-269.
- Dinerman JL, Mehta JL. Endothelial, platelet and leukocyte interactions in ischemic heart disease: insight into potential mechanisms and their clinical relevance. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 206-222.
- Siminiak T, Flores NA, Sheridan DJ. Neutrophil interactions with endothelium and platelets: possible role in the development of cardiovascular injury. *Eur Heart J* 1995; 16: 160-170.
- Lefer AM. Role of selectins in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 773-777.
- Neumann FJ, Marx N, Gawaz M, Brand K, Ott I, Rokitta C et al. Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets. *Circulation* 1997; 95: 2.387-2.394.
- Fuster V. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90: 2.126-2.146.
- Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992; 326: 242-250 y 310-318.
- Ware JA, Heistad DD. Platelet-endothelium interactions. *N Engl J Med* 1993; 328: 628-635.
- Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 1994; 330: 1.287-1.294.
- DiGaetano G, Carletti C, Dejana E, Latin R. Pharmacology of platelet inhibition in humans: implications of the salicylate-aspirin interaction. *Circulation* 1985; 72: 1.185-1.193.
- Atkinson DC, Collier HOJ. Salicylates: molecular mechanism of therapeutic action. *Adv Pharmacol Chemother* 1980; 17: 233-240.
- Desforges JF. The use of aspirin in ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1992; 327: 175-181.
- Abramson SB, Weissmann G. The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Arth & Rheum* 1989; 32: 1-9.
- Fitzgerald G, Oates JA, Hawiger J, Maas RL, Roberts II LJ, Lawson JA et al. Endogenous biosynthesis of prostacyclin and thromboxane and platelet function during chronic administration of aspirin in man. *J Clin Invest* 1983; 71: 676-688.
- Santos MT, Vallés J, Aznar J, Marcus AJ, Broekman MJ, Safier LB. Prothrombotic effects of erythrocytes on platelet reactivity. *Circulation* 1997; 95: 63-68.
- López-Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola ML, Millás I, Montón M et al. Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation* 1995; 91: 2.080-2.088.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-141.
- Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 2: 3.051-3.064.
- Riesco A, Caramelo C, Blum G, Cernadas MR, Montón M, Gallego MJ et al. Nitric oxide generating system as an autocrine mechanism in human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem J* 1993; 292: 791-796.

25. Handin RI. Platelets and coronary artery disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 1.126-1.128.
26. Falk E. Plaque rupture with severe preexisting stenosis precipitating coronary thrombosis: characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusion thrombi. *Br Heart J* 1993; 50: 127-134.
27. Ma X, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993; 72: 403-412.
28. Henderson A. Coronary heart disease: overview. *Lancet* 1996; 348 (Supl): 1-4.
29. Riis Hansen P. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995; 91: 1.872-1.885.
30. Del Maschio A, Evangelista V, Rajtar G, Min Chen Z, Cerletti C, De Gaetano G. Platelet activation by polymorphonuclear leukocytes exposed to chemotactic agents. *Am J Physiol* 1990; 258: H870-H879.
31. Patterson CE, Jin N, Packer CS, Rhoades RA. Activated neutrophils alter contractile properties of the human pulmonary artery. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 6: 260-269.
32. Shandelya SML, Kuppusamy P, Weisfeldt ML, Zweier JL. Evaluation of the role of polymorphonuclear leukocytes on contractile function in myocardial reperfusion injury: evidence for plasma-mediated leukocyte activation. *Circulation* 1993; 87: 536-546.
33. Chatelain P, Latour JG, Tran D, De Lorgier M, Dupras G, Bourassa M. Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect of reperfusion. *Circulation* 1987; 75: 1.083-1.090.
34. Go LO, Murry CE, Richard VJ, Weischedel GR, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial neutrophil accumulation during reperfusion after reversible or irreversible ischemic injury. *Am J Physiol* 1988; 255: H1.188-H1.196.
35. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1.016-1.023.
36. Lefer DJ, Shandelya SML, Serrano CV, Becker LC, Buerke M, Albertine KH et al. Cardioprotective actions of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1993; 88: 1.779-1.787.
37. Tanaka M, Brooks SE, Richard VJ, FitzHarris GP, Stoler RC, Jennings RB et al. Effect on anti-CD18 antibody on myocardial neutrophil accumulation and infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 1992; 86 (Supl 2): 364-370.
38. López-Farré A, Riesco A, Digiuni E, Mosquera JR, Caramelo C, Sánchez de Miguel L et al. Aspirin-stimulated nitric oxide production by neutrophils after acute myocardial ischemia in rabbits. *Circulation* 1996; 94: 83-87.
39. Lewis HD, Davies JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty III JE et al. Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina: results of a Veterans Administration Cooperative Study. *N Engl J Med* 1983; 309: 396-403.
40. Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA et al. Aspirin, sulfinpirazone or both in unstable angina: results of a canadian multicenter trial. *N Engl J Med* 1985; 313: 1.369-1.375.
41. Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy - I: prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *Br Med J* 1994; 308: 81-106.
42. Collins R, Petto R, Baigent C, Sleight P. Aspirin, heparin and fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1997; 336: 847-859.