

**LA PLAQUETA  
I LA  
MALALTIA TROMBOEMBÒLICA**

DISCURS

Llegit en l'acte de recepció de l'Acadèmic corresponent

**Il·lustre Dr. Julià García i Rafanell**

Celebrat el dia 3 de Juny de 2009

PRESENTACIÓ

A càrrec de l'Acadèmic numerari

**Molt Il·lustre Dr. Joan Uriach i Marsal**

Barcelona  
2009

*L'Acadèmia no es fa solidària  
de les opinions que s'exposen en les  
publicacions de les que és responsable  
l'autor.*

**PRESENTACIÓ DEL DR. JULIÀ GARCÍA RAFANELL  
EN EL SEU INGRÉS A LA REIAL ACADÈMIA DE FARMÀCIA  
DE CATALUNYA.**

*Excel·lentíssim Senyor President,  
Molt Il·lustres senyores i senyors acadèmics,  
Senyores, senyors,*

Avui, aquest solemne esdeveniment d'entrada del Dr. Julià Garcia Rafanell com Acadèmic Corresponent en aquesta Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, representa amb escreix un dels actes que de manera personal em causen més goig i satisfacció, al temps que m'honora des del punt de vista més íntim, per què puc donar testimoni de les grans qualitats humanes del nostre recipiendari, i per què aquestes qualitats indiscutibles, que ha conreat en el decurs de la seva vida, complementen i de quina manera! la seva personalitat i evolució científica.

Pronuncio aquestes paraules amb fermesa, per què la seva trajectòria professional ha estat forjada en el sí d'un laboratori farmacèutic, un laboratori que ha tingut com a punt bàsic la recerca i on el Dr. Garcia Rafanell va saber capçar, refermar des del primer dia cap a una línia investigadora francament sòlida per a aquesta empresa farmacèutica.

Ben mirat, és una de les primeres persones que es va dedicar amb una gran dosi de fe i entusiasme, també de manera íntegra, a la Bioquímica, realitzant innombrables aportacions en aquest camp, sense deixar mai de banda el cultiu d'altres camps i activitats en el ferm caminar de la seva vida professional.

La seva manera de fer, serena, reflexiva, modesta, juntament amb la meticulositat i profunditat que el caracteritzen, l'ha convertit en autèntic prototip i exemple en el terreny de la recerca. Com a conseqüència d'aquesta manera de ser tan especial, tan seva, es pot entendre que mai no volgués ofendre a ningú, des de cap angle, ni des del punt de vista

humà com científic. Es pot parlar amb ell de moltes coses, i sempre dins la lògica disparitat d'aquest nostre món científic, és capaç de trobar els punts necessaris de comunicació i concordança per tirar endavant qualsevol mena de qüestió o iniciativa. En definitiva, que puc dir amb seguretat, que té un fort caràcter positiu.

En Julià Garcia Rafanell va néixer a Barcelona l'any 1948 i estudià la carrera de Ciències Químiques a la Universitat Central, llicenciant-se amb qualificació d'excel·lent. L'any 1974 va obtenir el títol de Doctor en Ciències Químiques, en l'especialitat de Bioquímica, amb qualificació d'excel·lent "Cum Laude", sota la tutela d'aquell gran mestre i catedràtic, antic acadèmic de Farmàcia i per tots recordat, el Dr. Ferran Calvet i Prats, que crec va tenir una gran influència en aquest esperit bioquímic.

El Dr. Julià Garcia Rafanell va ser professor a la Facultat de Ciències Químiques justament en aquesta càtedra, durant els anys 1970-1973, a la Universitat de Barcelona. L'any 1973 va entrar a treballar en el Departament de Farmacologia de J. Uriach i Cia., a Barcelona, on començà una nova i llarga etapa en la seva vida, que ja fa 36 anys que dura i li augurem que puguin ser molts més.

Aquests coneixements universitaris que va adquirir amb una solidesa tan ferma i brillant, va poder-los desenvolupar pas a pas i sense córrer, cosa que té molt mèrit perquè li va permetre realitzar un treball molt ben fet. Eren temps de penúries, que els que tenim uns quants anys recordem perfectament, en el sentit que hi havia una manca notòria de sensibilitat cap a la investigació, tant en les pròpies empreses com en la relació entre aquestes i la universitat. Però ell va ser un dels primers i dels pocs que mai no va defallir en aquest sentit. Cal recalcar-ho també fermament: mai no va defallir en les pitjors èpoques.

Garcia Rafanell és el retrat robot de l'home que va viure aquesta transformació. Encara més, és just afirmar que en cap moment no va perdre el sentit importantíssim del que es podria arribar a avançar gràcies a la investigació, esperit realment valuós que encara conserva en l'actualitat. Per a ell, la investigació ho ha estat tot, i més a més ho ha volgut transmetre a tothom, als seus companys i col·legues científics de professió, de manera humil i modesta, qualitats que li han fet guanyar un gran afecte i autoritat dins el difícil i complicat terreny de la recerca empresarial.

Aquesta carestia de mitjans, i a vegades igualment manca de pensament conceptual, no el desinflaven, mai no el van fer trontollar

i ell continuava treballant amb la constància, determinació i eficàcia que sempre l'han caracteritzat. Pressentia ja la globalització i moltes de les revolucions tecnològiques que s'han produït en els diferents àmbits sanitaris: però ell ho assimilava i al mateix temps intentava trobar-ne la part pràctica, l'aplicació, sense caure mai en la defallença que els in comptables problemes científics poden provocar, sobretot en l'enrevessat dia a dia de la tasca del laboratori bioquímic.

Es tracta d'un home amb una gran capacitat pedagògica, fet que l'ha portat a pronunciar nombroses conferències i dissertacions sobre aquesta temàtica, tant en català, castellà com en anglès, a Espanya i a diferents països d'Europa, Amèrica i Àsia.

Té publicats més de 125 treballs, com a primer firmant, junt amb el seu equip d'investigació, tant per revistes nacionals com estrangeres de màxima categoria, a part de nombrosíssimes comunicacions en congressos a Espanya i arreu del món. Tot això l'ha portat a conèixer, fer-se amic i col·laborar amb diverses figures pioneres en el camp de la bioneurologia. I això també té el seu mèrit.

I per acabar, no voldria deixar d'anomenar a la seva esposa Rosa, que és química igual que ell, sempre al seu costat, donant-li el seu suport incondicional i la seva ajuda inqüestionable, un recolzament absolutament necessari en tots els aspectes de la vida. Gràcies Rosa per tot el que has fet. I també m'agradaria citar els seus fills, Anna, Laura i David, a la seva mare Isabel, als seus germans; però igualment se'm fa necessari recordar de manera molt especial al seu pare, l'inoblidable professor de l'Institut Químic de Sarrià, el Dr. Francesc García Estartús, que amb els seus coneixements, el seu exemple i el seu paper de bon pare, perfectament plasmat en el llibre que els va llegar titulat "*El estado del hombre: mirando hacia dentro*", va saber inculcar fonament i sàvia a tota la família una sèrie de valors indiscutibles. Gràcies a tots per la vostra important participació i suport en el reconeixement que avui es fa al Dr. Garcia Rafanell en aquesta Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

Si em permeteu, abans d'acabar voldria citar unes paraules de l'escriptor, pensador i cineasta, Pier Paolo Passolini, que deia: "El millor de la vida és el present, el passat i el futur". Frase que es podria aplicar a la vida del nostre doctor, que ha viscut el món bioquímic en el passat, el present i també el futur, que esperem que sigui el més llarg possible.

Per tant, Sr. President de l'Acadèmia, per tot això que s'ha exposat, crec sincerament que ara el Dr. Garcia Rafanell és mereixedor del

títol que si li atorga. Tots plegats esperem escoltar amb fruïció la seva conferència sobre aquest tema tant remarcable i apassionant: “La plaqueta i la malaltia tromboembòlica (1950-2050)”.

Moltes gràcies a tothom.

# ÍNDICE

Introducció . . . . .	13
La plaqueta i l'hemostàsia primària . . . . .	14
La plaqueta i la patologia tromboembòlica . . . . .	15
La plaqueta i la inhibició del seu metabolisme . . . . .	18
Dues prostaglandines essencials: El tromboxà A2 i la prostaciclina . . . . .	19
El sistema de la prostaglandin-sintetasa i la ciclo-oxigenasa . . . . .	24
L'òxid nítric (NO) . . . . .	25
Els receptors GP IIB/IIIA o receptors del fibrinogen . . . . .	28
La inflamació en la malaltia tromboembòlica . . . . .	30
La recerca present i en les properes dècades: Estratègies de futur . . . . .	33
El triflusal . . . . .	36
Referències . . . . .	45





**Excel·lentíssim Senyor President,  
Molt Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics,  
Digníssimes autoritats i representants d'institucions  
Senyores i senyors**

Es per a mi un gran honor i una profunda satisfacció que avui, en la lectura d'aquest discurs de recepció, es formalitzi el meu ingrés com a acadèmic corresponent en una institució tan noble i reconeguda del nostre país com és la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

Vull agrair molt sincerament la distinció que m'atorguen els acadèmics per tres motius fonamentals, demostratius del tarannà obert i sense prejudicis d'aquesta Reial Corporació:

En primer lloc, pel fet que tot i que la meva vida professional ha estat lligada des del principi a la investigació farmacològica, la meva formació originària és de Química i Bioquímica. Agraeixo, per tant, que se m'aculli en aquesta Acadèmia, amb la qual penso col·laborar per oferir el millor de tants anys de dedicació al món de la farmacologia.

El segon motiu és que la meva feina com a farmacòleg dedicat a la investigació de nous fàrmacs s'ha desenvolupat en el nostre país. No sóc un cas que hagi portat a terme part de la seva tasca investigadora en altres països com els EUA o Anglaterra. En la meva joventut, semblava que per aconseguir unes fites professionals importants, particularment en recerca, era condició indispensable passar uns quants anys fora de les nostres fronteres.

Finalment, la meva activitat investigadora ha estat centrada des de sempre en la indústria farmacèutica. Tot i l'estret contacte que he mantingut amb el món universitari, no sóc una persona lligada professionalment a la universitat.

Aquests tres motius fan que valori de manera especial el reconeixement d'aquesta docta casa.

En el capítol d'agraïments voldria fer esment en concret als acadèmics que varen presentar la meua candidatura, els molt Il·lustres doctors Joan Uriach Marsal, Joan Sabater Tobella i Xavier Sorni Esteva, i en especial a l'acadèmic corresponent Joan Bladé Piqué, amic i company en la professió, per tota la seva il·lusió i dedicació per aconseguir tirar endavant la meua candidatura.

També voldria mostrar el meu reconeixement al Dr. Ferran Calvet Prats (q.e.p.d.), catedràtic de la facultat de Química de la Universitat de Barcelona, que en els anys setanta em va despertar l'interès per la Bioquímica en una època en què al nostre país s'iniciava el desenvolupament d'aquesta disciplina i que els pioners a Espanya i a Europa tenien les seves arrels, com en el cas del Dr. Calvet, en la Química Orgànica, origen de la que avui és una especialitat autònoma i d'una gran projecció i rellevància, com és la Bioquímica.

No puc oblidar els meus col·laboradors en la investigació farmacològica: tècnics, ajudants de laboratori i personal administratiu. Sense la seva labor constant, callada i professional no hauria pogut dur a terme amb èxit la meua tasca. En particular el Dr. Manel Merlos i el Dr. Xavier Bartrolí, dos pilars fonamentals en el decurs de tants anys de recerca que hem recorregut plegats. També el Dr. Xavier Forn, que em va ajudar en els meus inicis com a farmacòleg.

Pel que fa a la recerca farmacològica d'antiplaquetaris, voldria fer esment de tres persones. En primer lloc, el Dr. Felipe Sánchez de la Cuesta, que malauradament ens va deixar ara fa tres anys en plena activitat professional. Ell era catedràtic de Farmacologia de la facultat de Medicina de Màlaga i va ser fins al 2006 el president de la Societat Espanyola de Farmacologia. També la Dra. Lina Badimón, directora de l'Institut Català de Ciències Cardiovasculars i persona prou coneguda per a tothom i un referent aquí i fora del nostre país en el món de la recerca cardiovascular. Finalment, en l'àmbit més clínic però també molt lligat a la recerca, vull fer esment del Dr. Vladimir Hachinski, professor de Neurologia a la Universitat de Western Ontario a London (Canadà) i actual editor en cap de la revista *Stroke*. Amb tots ells he pogut constatar la seva vàlua científica i aprendre'n tot compartint projectes en comú, però el més important és haver pogut gaudir de la seva qualitat humana i la seva amistat.

Com un cas especial que ha estat, en darrer terme, el màxim responsable del meu desenvolupament i la meua maduresa en la recerca farmacològica, i que ha permès la meua realització personal com a investigador a la indústria farmacèutica, he de fer menció del Dr. Joan

Uriach Marsal. Sense la seva empenta, la seva il·lusió per la recerca i el seu estímul constant, no hauria pogut dur a terme la meva tasca com cal. També vull fer esment de les persones que han donat continuïtat a la recerca iniciada pel Dr. Uriach, que han sapigut mantenir la unitat familiar i sempre m'han recolzat en la meva feina i demostrat el seu aprecí. Em refereixo als seus fills Enric, Joaquim, Joan i Xavier. Així s'ha pogut culminar amb èxit el descobriment i la comercialització de nou noves entitats químiques, i en sis d'elles he tingut la sort de participar-hi. En especial, el trifusil, del qual després parlaré amb més detall. Més enllà de la relació professional, és per a mi una satisfacció i un honor haver gaudit i poder continuar gaudint de la seva amistat, el seu consell i el seu suport en la meva feina.

Finalment, no puc acabar aquest capítol d'agraïments sense fer esment de la meva família. La meva esposa Rosa, sempre complaent i pacient com a bona esposa i excel·lent bioquímica, que ha compartit totes les meves preocupacions i elucubracions científiques. Els meus fills Anna, Laura i David, sempre al meu costat formant una família unida, que s'estima. La meva mare Isabel que, amb set fills, veu ara amb goig aquest reconeixement del fill gran. D'ella he rebut l'estímul i el consell per no defallir en la meva autoestima i la meva capacitat per arribar allà on em proposés. I, en darrer terme, el meu pare Francesc García Estartús, que malauradament ens va deixar ara fa 3 anys. D'ell, crec que he heretat la vocació científica i l'exemple per dur a terme la recerca amb constància, esforç i il·lusió, que són, potser, més importants que la mateixa intel·ligència. Ell, com a enginyer químic de l'Institut Químic de Sarrià, professor d'Alts Polímers d'aquell Institut i persona també lligada a la indústria dels plàstics, referent a tot l'Estat en la recerca i aplicació industrial dels mateixos, crec que estaria avui molt content de poder ser físicament aquí, i de fet crec que hi és, d'una manera misteriosa que no comprenem.



## INTRODUCCIÓ

Voldria, en primer lloc, explicar els motius que m'han portat a escollir aquest títol per al meu discurs d'ingrés.

Fins a la meitat del segle passat, a la dècada dels anys cinquanta, es desconeixia totalment la relació de la plaqueta amb la malaltia tromboembòlica, i no va ser fins als anys seixanta quan es va començar a albirar aquesta relació. Des de llavors el coneixement del funcionalisme plaquetari, dels mecanismes d'activació i interacció entre plaquetes, i de les plaquetes amb el seu entorn, bàsicament l'endoteli vascular, ha tingut un creixement exponencial, especialment durant la segona meitat del segle XX, i voldria resumir avui per a tots vostès algunes de les fites per a mi cabdals en aquest desenvolupament.

Amb l'any 2050 vull significar que, en l'immediat futur i en les properes dècades, la complexitat etiopatogènica de la malaltia tromboembòlica ens portarà que la plaqueta serà un element rellevant, però un entre molts, en l'inici i la progressió de l'arteriosclerosi i les seves complicacions trombòtiques. Procuraré resumir breument algunes estratègies de futur en aquest sentit.

El trajecte de la plaqueta durant la segona meitat del segle XX ha transcorregut en paral·lel a la nostra pròpia recerca i als resultats que hem assolit en el camp de la farmacologia cardiovascular, i en particular dels fàrmacs antiplaquetaris. Des dels inicis dels anys setanta, quan vam començar els nostres primers passos en aquesta recerca, l'evolució del coneixement i les fites que s'han anat assolint ens han permès, d'una manera quasi diria que providencial i amb la dosi de sort que tot procés de recerca necessita, descobrir el fàrmac antiplaquetari trifusil i evolucionar en el coneixement i aprofundiment de totes les seves propietats, que fins a dia d'avui encara són objecte de nous estudis i opcions terapèutiques de futur.

Em permetran, doncs, que una part del meu discurs el dediqui també al descobriment i desenvolupament d'aquest fàrmac, tant lligat a la plaqueta i a la malaltia tromboembòlica, al qual, durant més de 30 anys,

he dedicat molta part de la meua vida professional, que encara avui continua.

## LA PLAQUETA I L'HEMOSTÀSIA PRIMÀRIA

Fins a la primera meitat del segle passat la plaqueta era una gran desconeguda pel que fa a la seva participació en la gènesi i el desenvolupament de la malaltia tromboembòlica, particularment la malaltia tromboembòlica arterial. Se'n desconeixien la riquesa bioquímica i les capacitats funcionals, excepte pel que fa a la seva participació en l'hemostàsia primària i algunes malalties caracteritzades pel seu dèficit qualitatiu o quantitatiu, que dóna lloc a diatesis hemorràgiques, com per exemple diferents tipus de púrpures trombocitopàtiques (Rozman, 1970).

En condicions normals, la plaqueta era considerada com un mecanisme de defensa de l'organisme davant de qualsevol lesió vascular externa o interna, impedit l'extravasació excessiva de sang i, per tant, la mort per dessagnat. Es forma el que s'anomena tap hemostàtic, és a dir un agregat essencialment de plaquetes però també d'altres elements sanguinis i fibrina. El fibrinogen és una proteïna soluble circulant de la sang que es transforma en fibrina per un procés natural d'activació en circumstàncies com la que esmentem de l'hemostàsia primària. La fibrina, insoluble, actua com una argamassa o ciment que dóna solidesa i consistència al tap hemostàtic.

El tap hemostàtic permet la reparació del teixit vascular lesionat i novament l'organisme, en un equilibri perfecte i capacitat d'autoregulació, desenvolupa uns mecanismes naturals de protecció per destruir la porció intravascular d'aquest tap hemostàtic un cop ja ha tingut lloc la reparació de la lesió vascular. És el que coneixem com a fibrinolisi; és a dir, l'organisme, de manera natural i meravellosa, s'encarrega de destruir el que prèviament havia format (el tap hemostàtic) per restaurar l'equilibri circulatori dins l'aparell vascular.

Així doncs, fins a la primera meitat del segle passat aquesta era una, per no dir l'única, funció fisiològica de les plaquetes. Es desconeixia la rellevància en altres processos fisiopatològics. El fet de ser la plaqueta

un “element forme” de la sang, és a dir, que no arriba a la categoria de cèl·lula, perquè no té nucli, i amb una mida molt petita (2 micres de diàmetre) contribuïa a considerar-la com la “ventafocs” dins la complexitat cel·lular i corpuscular de la sang.

Sabem que la plaqueta és d’un color blanquinós, motiu pel qual avui també es coneix el trombus arterial, essencialment format per plaquetes, com a trombus blanc, en contraposició amb el trombus venós o trombus roig, que rep aquest nom degut a la important participació dels eritrocits i de l’hemoglobina. La plaqueta es genera a les grans cèl·lules de la medul·la òssia, els megacariòcits, i s’allibera al torrent circulatori amb una vida d’entre 7 a 10 dies i un nombre que oscil·la entre 120.000 i 300.000 per mil·límetre cúbic. És a dir, hi ha un recanvi constant de plaquetes en el nostre organisme i es considera que *el turnover* o la renovació completa del contingut plaquetari de la circulació sanguínia s’aconsegueix cada 15 dies aproximadament (Cazenave, 1981).

La forma de la plaqueta és discoïdal, semblant a un botó. També se l’ha identificat amb un objecte que en la nostra joventut es va anomenar per primera vegada com a OVNI (objecte volador no identificat). No està malament aquesta comparança. Llavors, poc es coneixia de l’interior de la plaqueta i dels OVNI. Avui dels OVNI continuem sense saber-ne res, però el coneixement sobre la plaqueta i la seva riquesa bioquímica ha augmentat de manera espectacular en els darrers cinquanta anys.

## LA PLAQUETA I LA PATOLOGIA TROMBOEMBÒLICA

El concepte que la plaqueta ja no és solament un element forme de la sang amb una simple i exclusiva funció hemostàtica es comença a dibuixar al principi dels anys seixanta. En aquest sentit, un dels treballs pioners que posa de manifest que la plaqueta és un actor important en la patologia trombòtica, i que per la seva agregació pot ser causa immediata de trombosi, es deu a Gustav Victor Rudolf Born, que l’any 1962 va publicar a *Nature* un treball en el qual es descriu per primera vegada la tecnologia per mesurar l’agregació plaquetària i on es diu el següent: “Pathologically, the aggregation of platelets is an immediate cause of thrombosis”. És a dir, es posa ja de manifest la contribució important de la plaqueta en la patologia trombòtica i també la important participació de l’ADP en el procés de l’agregació plaquetària, ja sigui en la formació

del tap hemostàtic o en la formació del trombus. L'ADP s'allibera dels vasos sanguinis lesionats per transformació massiva de l'ATP.

Born va descriure la tecnologia i també va desenvolupar l'aparell anomenat agregòmetre de Born, per tal de poder mesurar al laboratori la capacitat d'agregació de les plaquetes i d'aquesta manera poder també investigar fàrmacs inhibidors d'aquesta agregació. En la dècada dels anys seixanta ja es començava a considerar com un camp d'investigació de futur prometedor, com veurem més endavant.

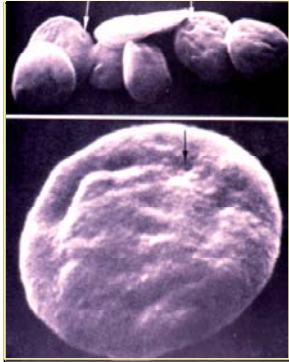
L'aparell de Born, molt simple i que vam utilitzar en les nostres primeres investigacions en la dècada dels setanta, incorpora un mètode fotomètric amb llum blanca per mesurar el pas de llum a través d'una suspensió de plasma ric en plaquetes. Pas de llum que és inversament proporcional a la turbidesa de la suspensió i que s'incrementa de manera proporcional a l'agregació plaquetària, ja que aquesta agregació disminueix la turbidesa de la suspensió i permet un major pas de llum. El major o menor pas de llum es transforma en senyal elèctric, i aquest canvi finalment es reflecteix en un registre gràfic en forma de corba d'agregació. En la mesura que un fàrmac és capaç d'inhibir aquesta agregació, la turbidesa de la suspensió plaquetària disminueix menys, el pas de llum és inferior i això es reflecteix en una corba d'agregació més petita (inhibida) respecte als controls sense fàrmac.

Amb aquesta simple tecnologia es va poder començar a valorar a nivell de laboratori el fenomen de l'agregació de les plaquetes i el potencial antiplaquetari de possibles fàrmacs. Tot i la sofisticació i més prestacions dels aparells actuals, en essència la tecnologia en la qual es basen actualment és la mateixa que va dissenyar Born.

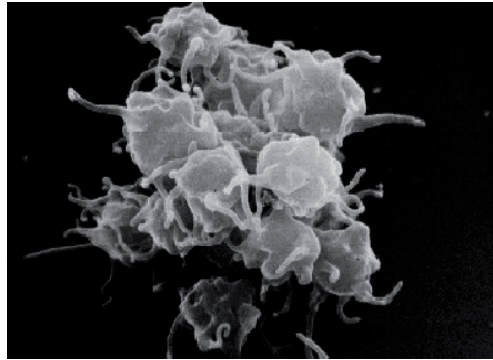
El descobriment per part de Born del mètode òptic per mesurar l'agregació plaquetària i el descobriment de la importància de l'ADP en la inducció de l'agregació, li va permetre observar, a més, un fenomen molt important: la plaqueta, davant d'un estímul inductor de l'agregació, augmenta el seu volum d'un 30%, i de la forma discoïdal passa a la forma esfèrica; la densitat òptica, que es mesura amb l'agregòmetre, augmenta com a pas previ a una disminució fruit de la subseqüent agregació plaquetària.

Aquests descobriments pioners de Born varen ser el preludi d'una fecunda investigació que va permetre posar de manifest que la plaqueta ja no és un simple "element forme" de la sang sinó un corpuscle amb una rica activitat bioquímica al seu interior i que per poc que s'estimuli actua com un "castell de focs d'artifici", alliberant diferents mediadors que es demostraran cabdals en la trombosi.





**Plaquetes humanes no activades. Forma discoidal. Fletxa: orificis del sistema canicular obert que connecta amb l'exterior.**



**Plaquetes humanes activades. Forma esfèrica. Emissió de pseudòpodes. Fase inicial d'agregació.**

Figura 1.

És per la seva contribució tecnològica en la determinació de l'agregació plaquetària i de la seva inhibició, i pel que jo crec que és encara més important, per la introducció del concepte que la plaqueta juga un paper fonamental en l'etiopatogènia de la trombosi, pel que crec que Born es mereixeria un reconeixement més important.

Born va néixer a Göttingen (Alemanya) l'any 1921. Fill d'un físic famós, Max Born, que va rebre el premi Nobel de Física l'any 1954 i que va haver d'emigrar a Anglaterra l'any 1933 forçat per l'Alemanya nazi donada la seva condició de jueu. El seu fill, Gustav Victor Rudolf Born, doncs, va desenvolupar la seva carrera a Anglaterra com a farmacòleg expert en la plaqueta i les malalties cardiovasculars, i avui és professor emèrit de Farmacologia al King's College de Londres i, almenys fins fa poc, desenvolupava la seva tasca investigadora com a professor investigador al William Harvey Institute de Londres. Born, que té molt sentit del humor, deia que tota la seva vida ha estat el fill d'un famós científic (el seu pare) i després s'ha convertit en l'oncle d'una famosa actriu del cinema: l'Olivia Newton John, a qui tots recordem de quan érem més joves a la pel·lícula *Grease* (Gustav R.V. Born, 2002). Potser per això no ha tingut tot el reconeixement que es mereixeria, i jo avui voldria deixar-ne constància per la seva gran vàlua científica i la seva important contribució al coneixement de la patofisiologia plaquetària i la seva relació amb la malaltia tromboembòlica.

## LA PLAQUETA I LA INHIBICIÓ DEL SEU METABOLISME

Born i d'altres com Grette (1962), Zucker (1964) i O'Brien (1962,1963) als inicis dels seixanta varen posar de manifest que la plaqueta s'activa i s'agrega per agents inductors com l'ADP, l'adrenalina i el col·lagen. Com a conseqüència d'aquests estímuls es produeix una activació metabòlica, un canvi morfològic i un alliberament de substàncies intraplaquetàries, entre elles també l'ADP, que contribueixen a aquesta agregació. Aquests descobriments van ser cabdals per als esdeveniments o les fites de la segona meitat dels anys seixanta.

En aquest sentit, és fonamental el treball publicat l'any 1968 a *Lancet* per J.R. O'Brien, on mitjançant experiències prèvies de Zucker i Peterson (1968), Weis (1967), Evans (1967) i Gast (1964), estudia amb detall i posa de manifest l'efecte inhibidor dels salicilats, i particularment de l'aspirina, sobre les plaquetes humanes alterant-ne el metabolisme.

En una primera part d'aquest estudi, hi van participar 4 voluntaris sans que van prendre una dosi inicial d'1,3 grams d'aspirina, seguit d'1 gram al cap de 10 hores. A continuació es va mesurar l'agregació induïda per ADP, adrenalina, col·lagen, trombina, serotonina i boles de vidre. Es va utilitzar plasma ric en plaquetes obtingut de les mostres de sang d'aquests voluntaris.

Després, la confirmació dels efectes de l'aspirina es va aconseguir en un total de 22 membres de l'staff del laboratori d'O'Brien d'edats compreses entre els 18 i els 52 anys.

Els resultats d'aquest estudi van permetre suggerir per primera vegada que l'aspirina altera el metabolisme plaquetari d'una manera específica i que aquest efecte no té solament un interès acadèmic sinó que podria tenir un interès terapèutic, ja que l'aspirina podria alterar el curs de la trombosi. O'Brien recomana que es dugui a terme un assaig clínic per determinar el seu efecte en individus amb risc trombòtic.

És important, doncs, que tinguem present aquesta seqüència d'esdeveniments per comprendre l'evolució del coneixement del funcionalisme plaquetari i de la seva participació en el fenomen trombòtic:

1. Dècada dels cinquanta: pràcticament la plaqueta es considera rellevant només per la seva participació en l'hemostàsia primària.
2. Primera meitat de la dècada dels seixanta: es comença a demostrar la complexitat funcional de la plaqueta i la seva possible participació en la trombosi. Es comença a estudiar i a mesurar amb més detall el fenomen de l'agregació plaquetària.

3. Segona meitat de la dècada dels seixanta: es comença a entreveure que incidint sobre el metabolisme i funcionalisme plaquetari es podria actuar amb eficàcia en malalts amb risc trombòtic.

Aquest estat del coneixement, pren una embranzida extraordinària com a conseqüència del descobriment, a la dècada dels setanta, de dues prostaglandines fonamentals: el tromboxà A2 i la prostaciclina.

La plaqueta deixa de ser la “ventafocs” dels elements corpusculars i cel·lulars sanguinis per convertir-se en actor fonamental. Es posa de manifest la seva complexitat metabòlica i riquesa bioquímica, fonamentals en la interacció plaqueta-plaqueta, en la interacció plaqueta amb d’altres elements sanguinis, particularment els eritròcits, i, sobretot, en la interacció plaqueta-endoteli. Hi ha un gran augment d’estudis en aquest sentit que avui encara perdura però que jo crec que va tenir el seu punt àlgid durant la dècada dels anys vuitanta i noranta.

## **DUES PROSTAGLANDINES ESSENCIALS: EL TROMBOXÀ A2 I LA PROSTACICLINA**

El descobriment d’aquestes dues prostaglandines, amb poc temps de diferència, primer el tromboxà A2 (TxA2) l’any 1975 i després la prostaciclina (PGI2) l’any 1976, marca un abans i un després en el coneixement del funcionalisme plaquetari i la seva interacció amb l’endoteli vascular i la participació en els processos trombòtics d’origen arterial.

### **El tromboxà A2**

L’any 1969, en un treball publicat a *Nature*, Piper i Vane van detectar una substància que es produïa en un procés d’anafilàxia en pulmons aïllats de cobais sensibilitzats, amb la singularitat de tenir una potent capacitat per contraure l’aorta de conill i també el múscul llis d’altres procedències, com el tracte gastrointestinal i la tràquea. Per això la varen anomenar RCS (*rabbit aorta contracting substance*). Van comprovar que era de naturalesa inestable (vida mitjana de menys de 2 minuts a temperatura ambient) i que la seva alliberació es podia inhibir per substàncies com l’aspirina. Però no van anar més lluny en aquest primer treball.

No va ser fins uns anys després, en concret el 1975, que l’equip de Samuelsson, del Karolinska Institut d’Estocolm, va demostrar que en plaquetes humanes unes prostaglandines inestables anomenades PGG2

i PGH2 eren capaces de transformar-se en una substància làbil amb una gran capacitat de contraure la musculatura llisa vascular, així com amb una gran capacitat per agregar les plaquetes. La van identificar estructuralment i caracteritzar. És per la seva potent capacitat d'agregació plaquetària i per la seva estructura química que la varen anomenar tromboxà A2. Van demostrar que es produïa a les plaquetes, i s'alliberava d'elles contribuint a l'agregació d'unes amb les altres. Aquest potent intermedi es transformava en tromboxà B2, que era estable però inactiu des del punt de vista farmacològic. El mateix equip, un any abans, havia ja identificat una substància estable que van anomenar PHD i que es produïa en plaquetes humanes com a conseqüència del metabolisme de l'àcid araquidònic (Hamberg, 1974). Ara es comprovava que la PHD era concretament el tromboxà B2.

D'altra banda, ja se sabia que l'àcid araquidònic era una substància de naturalesa lipídica, precursora d'aquestes i d'altres prostaglandines, i que s'obtenia per metabolització dels fosfolípids de la membrana cel·lular per acció de la fosfolipasa A2.

El més important és que es va poder concloure que el tromboxà A2 descobert per l'equip de Samuelsson era bàsicament la substància RCS que Piper i Vane havien observat, però no identificat i caracteritzat estructuralment, l'any 1969.

Un any després del descobriment del tromboxà A2, el 1976, Hamberg i Samuelsson, en col·laboració amb Needleman, Moncada, Bunting i Vane de la Wellcome Research Laboratories a Anglaterra, publiquen a *Nature* un treball on identifiquen, en microsomes de plaquetes de cavall i de plaquetes humanes, l'enzim que transformava els endoperòxids PGG2 i PGH2 en tromboxà A2. Es va donar a aquest enzim el nom de tromboxà-sintetasa.

El mecanisme pel qual el tromboxà A2 produeix la seva acció proagregant plaquetària és essencialment el mateix que el de la seva acció vasoconstrictora. A nivell de plaqueta, el tromboxà A2 té la capacitat de formar un complex amb el calci, mobilitzant-lo des dels seus reservoris plaquetaris fins a la membrana. El calci actua sobre l'estructura trilaminar de la membrana i contribueix a la reacció de contracció de la plaqueta (canvi de forma, emissió de pseudòpodes) i a la subseqüent reacció d'alliberació de les substàncies proagregants intraplaquetàries. El mateix mecanisme s'observa a nivell de l'endoteli vascular per acció del tromboxà alliberat de les plaquetes que produirà l'efecte vasoconstrictor per contracció de la membrana endotelial.

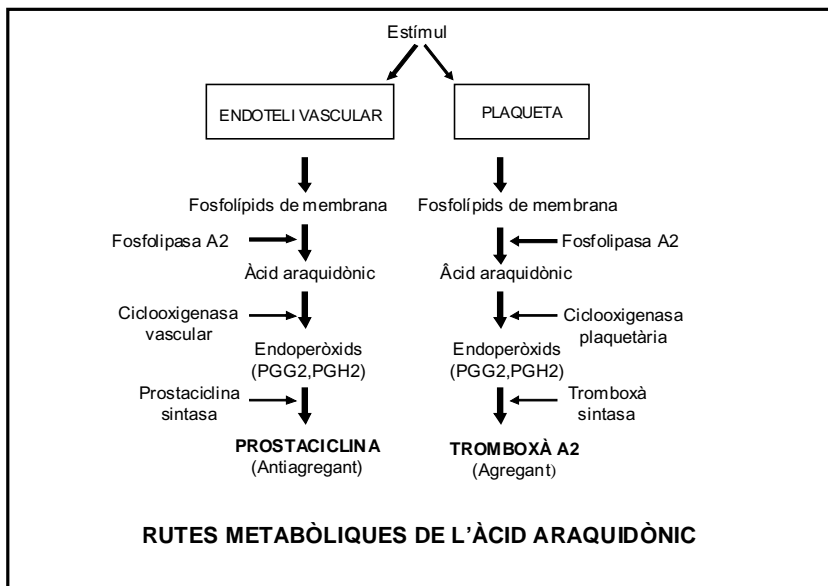


Figura 2.

## La prostaciclina (PGI<sub>2</sub>)

Quasi simultàniament al descobriment del tromboxà A<sub>2</sub>, l'any 1976, Moncada, Gryglewski, Bunting i Vane publiquen a *Nature* un treball on demostren per primera vegada que un enzim present en microsomes d'aortes de porc i de conill és capaç de transformar els endoperòxids PGG<sub>2</sub> i PGH<sub>2</sub> en una substància inestable amb una potent acció inhibidora de l'agregació plaquetària i també amb una potent acció relaxant de la musculatura llisa dels vasos.

Els anomenen aquesta substància PGX, i el mateix equip, poc temps després, la identifica estructuralment i li posen el nom de prostaciclina. L'abreviatura PGX finalment es transforma en PGI<sub>2</sub>, tal com avui també es coneix aquesta prostaglandina.

L'enzim responsable de transformar els endoperòxids en prostaciclina es coneixerà com a prostaciclina-sintetasa.

El descobriment els anys 1975 i 1976 del tromboxà A<sub>2</sub> i de la prostaciclina, i la identificació dels respectius enzims responsables de la seva síntesi: la tromboxà-sintetasa i la prostaciclina-sintetasa, va resultar fonamental per poder conèixer a fons la interacció plaqueta-plaqueta i plaqueta-endoteli, i va donar lloc a un desenvolupament extraordinari

del coneixement del funcionalisme plaquetari, que en la dècada dels vuitanta i noranta ha tingut un creixement exponencial.

Per a mi és realment meravellós comprovar com la naturalesa, en un equilibri perfecte, és capaç de transformar, a la plaqueta, per acció de la tromboxà sintetasa, els endoperòxids PGG<sub>2</sub> i PGH<sub>2</sub> en tromboxà A<sub>2</sub> amb una potent activitat agregant plaquetària i vasoconstrictora i, en canvi, a l'endoteli, els mateixos endoperòxids es transformen per acció de la prostaciclina-sintetasa en prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), amb una potent activitat antiagregant plaquetària i vasodilatadora. És a dir, oposat completament a l'acció del tromboxà A<sub>2</sub>. A més a més, a la plaqueta, no hi ha prostaciclina-sintetasa i a l'endoteli no hi ha tromboxà sintetasa.

Evidentment, pel que fa a la seva relació amb la malaltia tromboembòlica, no podem reduir el funcionalisme plaquetari i la seva interacció amb l'endoteli a aquests dos processos metabòlics. És molt més complexa. No podem estendre'ns però sí que podem dir que, des del seu descobriment fins avui, aquestes vies metabòliques continuen essent vigents i han permès explicar en gran part la participació de la plaqueta en els processos trombòtics, particularment els de naturalesa arterial, i aprofundir en el mecanisme d'actuació d'antiagregants plaquetaris com l'aspirina i el triflusal.

D'una manera simple, però entenedora, es considera que en condicions normals, és a dir fisiològiques, hi ha un equilibri perfecte entre la síntesi de tromboxà A<sub>2</sub> per la plaqueta i de la prostaciclina per l'endoteli, que compensen mútuament les seves accions, impeding que la plaqueta s'adhereixi a l'endoteli. L'acció proagregant i vasoconstrictora de l'un, es balanceja amb l'acció antiagregant i vasodilatadora de l'altre. Quan per circumstàncies diverses aquest equilibri es trenca per una activació plaquetària (síntesi augmentada de tromboxà) o es lesiona l'endoteli (síntesi de prostaciclina compromesa) i les estructures subendotelials (particularment les microfibrilles de col·lagen) es posen en contacte amb la plaqueta i l'activen, es donen les condicions òptimes per a l'inici del procés trombòtic arterial.

Tant a la plaqueta com a l'endoteli aquests processos metabòlics s'inicien amb l'àcid araquidònic (un precursor de les prostaglandines que es produeix per acció de la fosfolipasa A<sub>2</sub> sobre els fosfolípids de membrana).

El mecanisme pel qual la prostaciclina produeix la seva acció a la plaqueta, inhibint-ne l'agregació, i en el vas produint la vasodilatació, és essencialment el mateix. S'ha demostrat que la prostaciclina és un

potent activador de l'enzim adenil ciclasa. L'adenil ciclasa transforma l'ATP en AMPc i, per tant, una activació d'aquest enzim es traduirà a la plaqueta en un augment important de les concentracions intraplaquetàries d'AMPc. Un augment d'AMPc intraplaquetari produirà, per la seva part, un efecte inhibidor de la mobilització del calci, que romandrà així emmagatzemat en els seus reservoris plaquetaris sense poder actuar a nivell de la membrana plaquetària. D'aquesta manera no es podrà produir l'activació de la plaqueta (canvi de forma, de discoïdal a esfèrica, emissió de pseudòpodes i conseqüent reacció d'alliberació de substàncies intraplaquetàries proagregants). El mateix mecanisme a la cèl·lula endotelial del vas produirà un efecte vasodilatador en no poder actuar el calci en el manteniment del to vascular.

Per les seves importants contribucions a la investigació en el camp de les prostaglandines, i en concret pel transcendent descobriment de la prostaciclina l'any 1976, es va concedir al professor John R. Vane, director aleshores del Centre d'Investigació de la Wellcome a Anglaterra, el premi Nobel de Medicina de l'any 1981. Voldria mencionar aquí que aquest premi Nobel, en la meua opinió, hauria de tenir un segon guardonat, el professor Salvador Moncada, que va néixer a Hondures però es va formar científicament a Anglaterra i va ser un estret col·laborador del professor Vane, contribuint de manera decisiva al descobriment de la prostaciclina.



**Gustav V. R. Born**



**John R. Vane**



**Salvador Moncada**

Figura 3

Més endavant veurem com Salvador Moncada va quedar també exclòs injustament del premi Nobel de Medicina de l'any 1998 pel descobriment de l'òxid nítric.

Alguns membres de la mateixa comunitat científica varen considerar que qüestions polítiques més que científiques (potser l'origen hispanoamericà del Dr. Moncada) van tenir el seu pes en contra i es van doblegar davant l'hegemonia i la influència dels països anglosaxons (Aguirre de Cárcer, 1998). Jo, que conec el doctor Moncada i he parlat amb ell d'aquest tema, participo també d'aquesta opinió.

## **EL SISTEMA DE LA PROSTAGLANDIN-SINTETASA I LA CICLO-OXIGENASA**

Tot just uns anys abans del descobriment del tromboxà A<sub>2</sub> i de la prostaciclina, és a dir en la dècada dels anys seixanta i inici dels setanta, no es coneixien amb detall els enzims involucrats en la cascada metabòlica de l'àcid araquidònic, i es parlava del sistema de la prostaglandina-sintetasa en general com un sistema enzimàtic únic en el procés de biosíntesi de les prostaglandines, sense precisar-ne més detalls.

L'any 1973 el grup de Samuelsson va publicar un treball on es detectaven i s'aïllaven els endoperòxids PGG<sub>2</sub> i PGH<sub>2</sub>. Aquest descobriment va permetre suggerir que la via de la biosíntesi de les prostaglandines a partir de l'àcid araquidònic havia de ser objecte de la participació de més d'un enzim. En efecte, el mateix grup va publicar un any després, el 1974, l'evidència que la transformació de l'àcid araquidònic en endoperòxids es catalitza per l'acció d'un enzim que anomenen ciclooxigenasa (COX).

Avui, d'aquest enzim, i depenent de la seva ubicació, se'n coneixen 3 isoenzims anomenats COX1, COX 2 i COX3, que catalitzen el mateix procés metabòlic però amb propietats i característiques fisicoquímiques diferents.

Aquests descobriments permetran avançar en el coneixement de la cascada bioquímica del metabolisme de l'àcid araquidònic amb la identificació, els anys 1975 i 1976, dels enzims tromboxà-sintetasa i prostaciclina sintetasa pels grups de Samuelsson i Vane, simultàniament al descobriment del tromboxà A<sub>2</sub> i de la prostaciclina, respectivament.

Tots aquests descobriments esdevindran fonamentals per explicar la gènesi dels processos trombòtics i el mecanisme d'actuació de fàrmacs antiplaquetaris com l'aspirina i el triflusal.



## L'ÒXID NÍTRIC (NO)

Una altre fita important per a la comprensió i el coneixement de la interacció de la plaqueta amb l'endoteli i la seva relació amb la malaltia tromboembòlica, així com per al disseny de fàrmacs capaços d'inhibir aquests processos, ha estat el descobriment de l'òxid nítric (NO).

Treballant de manera independent però complementària, l'any 1986, tres investigadors americans, Furchgott, Murad i Ignarro varen arribar a la conclusió que la substància desconeguda que l'any 1978 Furchgot havia batejat com a EDRF (Endotelial Derived Relaxing Factor) sense conèixer-ne però l'estructura, era un gas, i que aquest gas era el NO, que prèviament era considerat simplement com un gas atmosfèric pol·lucionant.

Com ha passat en d'altres importants descobriments en el món de la investigació biomèdica, es pot dir que el descobriment de l'EDRF va ser un cas de *serendipity* (*sagacitat, atzar*), perquè un tècnic de laboratori del professor Furchgott, per equivocació del protocol que li havia marcat el seu mestre, va comprovar que l'acetilcolina produïa in vitro una relaxació d'una preparació d'aorta toràcica de rata però que això només s'observava quan l'endoteli d'aquesta preparació estava intacte i no s'havia lesionat. Es va comprovar que els receptors muscarínics intactes de l'endoteli, en activar-se per l'acetilcolina, alliberaven el factor relaxant que van batejar com a EDRF (García,1998). Els resultats d'aquest descobriment es van publicar a *Nature* el juliol de l'any 1980, no sense dificultats editorials, ja que els revisors van titllar d'heterodoxes i anecdòtics els experiments de Furchgott.

Com més endavant comentaré, també en el descobriment de triflusal en les nostres investigacions d'ara fa més de 30 anys es pot parlar d'un cas interessant de *serendipity*.

L'any 1992 la revista *Science* va nomenar el NO "molècula de l'Any" tot i que era una de les 10 molècules més petites conegudes, i el 1998 Furchgott, Murad i Ignarro van rebre el premi Nobel de Medicina per aquest important descobriment. Aquest mateix any la revista *Circulation* (1998) es feia ressò del fet controvertit i estrany que el Dr. Salvador Moncada, aleshores professor a l'University College de Londres, fos exclòs del premi. Es considera que el primer treball que deia que l'EDRF era el NO i que aquest s'obtenia a partir de l'aminoàcid L-arginina per acció de l'enzim NO sintasa, el va publicar Moncada el juliol de 1987. No va ser fins al desembre del mateix any que Ignarro, un dels tres premis Nobel abans esmentats, va publicar el mateix.

Crec que és just fer referència al Dr. Salvador Moncada per la seva important contribució al descobriment de dues importants substàncies en l'àrea cardiovascular i la seva funció: la prostaciclina i l'òxid nítric, i reconèixer que, almenys, al nostre país se li va atorgar el premi Príncep d'Astúries d'Investigació Científica i Tècnica de l'any 1990.

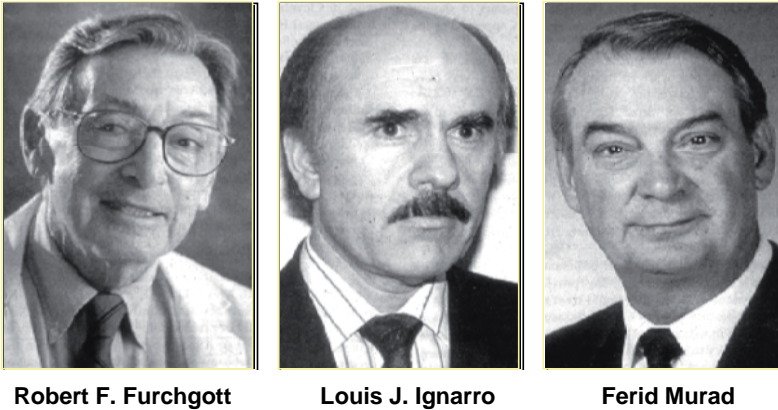


Figura 4.

S'ha demostrat que aquesta molècula, amb una potent activitat vasodilatadora, antiadhesiva i antiagregant plaquetària, juga un paper fonamental en l'homedstasi sanguínia, mantenint el to vascular que és essencial per a la regulació de la pressió sanguínia (Colasanti,2000).

També en el sistema nerviós central s'ha demostrat que el NO és un neurotransmissor que pot tenir un paper important en els processos d'aprenentatge i memòria, així com en la regulació de diferents funcions dels sistemes respiratori, gastrointestinal i genitourinari.

Pel que fa a la seva relació amb la plaqueta i la malaltia tromboembòlica, s'ha demostrat que el NO alliberat de l'endoteli i de cèl·lules sanguínies, com els neutròfils, és capaç d'interactuar amb la plaqueta produint un increment dels nivells de GMPc per activació de l'enzim guanilat ciclasa. Aquest increment intraplaquetari de GMPc es tradueix en una inhibició del calci intraplaquetari i, com a conseqüència d'aquest fet, en una inhibició de l'agregació plaquetària. També el NO alliberat de l'endoteli, actuant de la mateixa manera que a la plaqueta, activa la guanilat ciclasa de les cèl·lules musculars llises del vas i incrementa els nivells de GMPc, que, per inhibició de la mobilització del calci, produirà, per defecte, una acció vasodilatadora.

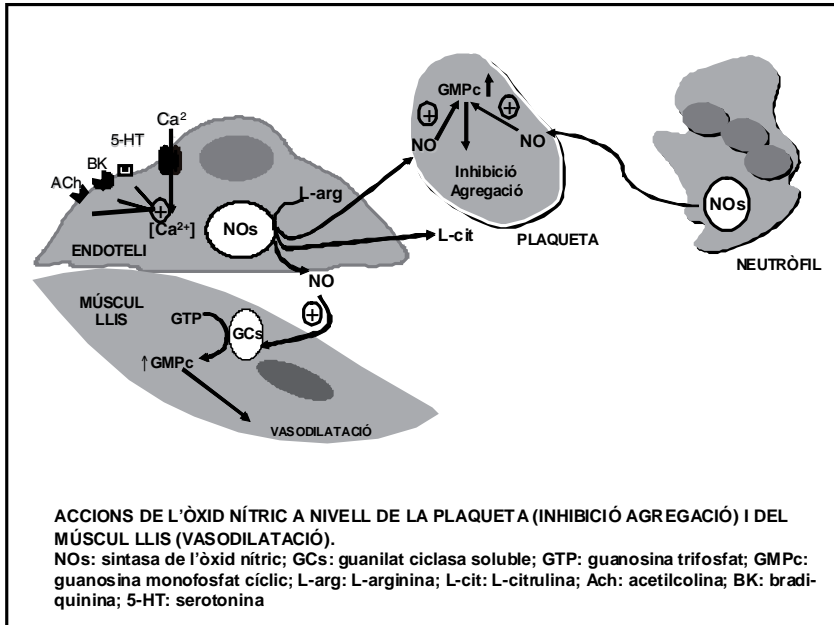


Figura 5.

El descobriment de l'acció vasodilatadora del NO va proporcionar una explicació del mecanisme d'acció dels fàrmacs que ja s'utilitzaven per al tractament de l'angina i de la hipertensió en situacions d'emergència, i que coneixem com a "nitrovasodilatadors", entre els quals la nitroglicerina i el nitroprusiat sòdic ja s'havien estat utilitzant durant dècades (Rees,1993).

El descobriment del NO i les seves propietats antiagregants i vasodilatadores ha estimulat la investigació de nous fàrmacs que s'identifiquen amb el nom genèric de donadors de NO, dels quals encara no en tenim cap al mercat però alguns estan en fases clíniques avançades. Entre els fàrmacs que s'han investigat o s'estan investigant com a portadors de NO i capaços d'alliberar NO en la diana adequada, podem anomenar l'aspirina i d'altres antiinflamatoris no esteroidals com el naproxè. Tot i la importància reconeguda d'aquest gran descobriment, que avui continua tenint plena vigència, creiem que encara no se n'ha arribat a obtenir tot el profit clínic i terapèutic que seria desitjable.

## ELS RECEPTORS GP IIB/IIIa O RECEPTORS DEL FIBRINOGEN

En aquest procés temporal, pel que fa a fites importants plaqueta-malaltia tromboembòlica, és obligat fer menció de la identificació que Phillips i el seu equip van fer del receptor GP IIB/IIIa de la membrana plaquetària com a principal mediador en l'agregació de les plaquetes, en un excel·lent article de revisió publicat l'any 1988 a *Blood*. Uns anys abans, però, el 1983, Coller i col·laboradors van obtenir un anticòs monoclonal muri que bloquejava la unió del fibrinogen a les plaquetes, i ja van suggerir que el punt d'unió era molt probablement la glicoproteïna GpIIB/IIIa.

També conegut com a receptor del fibrinogen, es tracta d'una glicoproteïna de la família de les molècules d'adhesió anomenades integrines, que només es troba a la plaqueta, i es distribueix a l'atzar per la membrana en un nombre d'entre 50.000 i 100.000 (Phillips, 1988, 1991).

Avui coneixem l'existència de nombrosos receptors de membrana que en la interacció amb els respectius mediadors (adrenalina, ADP, trombina, PAF, col·lagen, tromboxà...) participen de manera rellevant en el procés d'activació de la plaqueta i la posterior agregació d'unes amb les altres, que acabarà produint el trombus irreversible.

Dins d'aquesta sèrie de receptors plaquetaris, els GPIIb/IIIa es consideren d'una especial importància, ja que s'ha comprovat que la seva activació i unió al fibrinogen és la via final comuna en el procés de l'agregació plaquetària. És a dir que, sigui quin sigui l'estímul plaquetari, totes les vies acaben per produir l'activació dels GPIIb/IIIa, que en condicions normals, fisiològiques, de la plaqueta, romanen inactius (forma zimògena). Quan s'activen, el fibrinogen s'uneix a aquests receptors i fa de pont en l'agregació d'unes plaquetes amb les altres, contribuint de manera decisiva a l'inici i el desenvolupament del procés trombòtic.

La importància d'aquests receptors en l'activació plaquetària i en la formació del trombus arterial ha estimulat una investigació molt activa, particularment durant la dècada dels anys noranta, per trobar fàrmacs capaços d'antagonitzar-los. Són els antagonistes del receptor del fibrinogen.

S'intuïa que donada la contribució estratègica d'aquests receptors en el procés d'activació plaquetària, un fàrmac capaç d'inhibir-los eficaçment podria tenir una importància terapèutica cabdal.

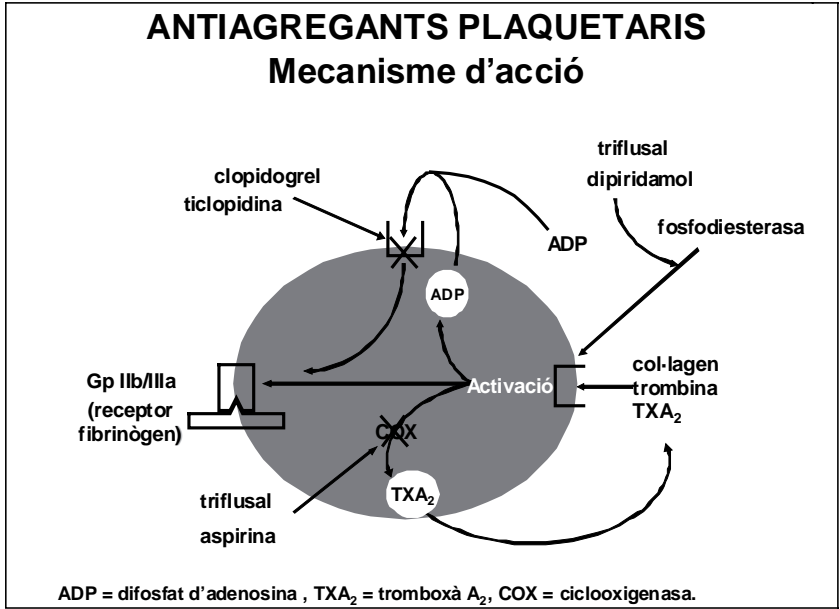


Figura 6.

Això ha estat així només parcialment. En efecte, la investigació farmacològica en aquest terreny, en les darreres dècades, va donar lloc a una família de fàrmacs molt potents, obtinguts per enginyeria genètica, com l'abciximab (anticòs monoclonal) , o de naturalesa peptídica com el tirofiban o l'eptifibatide. Es va començar a popularitzar per a ells el nom de “superaspirines” (Swainger, 1997). Tots tenien la característica de la seva gran potència antiplaquetària i en conseqüència un important risc hemorràgic, però ,sobretot, que només eren actius per via endovenosa. Això ha provocat que la seva utilització s'hagi limitat a nivell hospitalari, en situacions d'alt risc trombòtic, especialment en el preoperatori de cirurgia cardíaca major, obligant a un control estricte del sever risc hemorràgic que han demostrat.

Es per això que la investigació farmacològica es va orientar a obtenir molècules de síntesi química, amb un pes molecular més petit, que fossin actives per via oral. L'esforç, però, no ha donat els fruits que s'esperaven i fàrmacs que fa uns anys varen crear fortes expectatives, com per exemple l'orbofiban (Cannon,2000) i el xemilofiban (O'Neill,2000) o el sibrafiban, van fracassar en els estudis clínics pivotals amb milers de malalts (OPUS/TIMI-16, EXCITE i SYMPHONY, respectivament).

No es va aconseguir la potent activitat que es buscava ni reduir el risc hemorràgic dels fàrmacs per via endovenosa. En alguns casos, fins i tot semblava que s'obtenien resultats oposats als esperats.

Probablement la complexa naturalesa proteica d'aquest receptor no permet que molècules petites no peptídiques puguin produir una inhibició prou eficaç. No s'obté una inhibició irreversible i es poden induir canvis conformacionals en el receptor més perjudicials que beneficiosos.

Quan l'any 2000 es varen publicar els resultats negatius dels principals estudis amb aquests fàrmacs, la investigació es va parar, i avui, el que es pensava que seria un prometedor camp de recerca per obtenir la "superaspirina" ha quedat reduït als fàrmacs per via endovenosa amb les limitacions que ja hem comentat. Al final hem de reconèixer que és difícil superar aquest fàrmac centenari, l'aspirina.

De totes maneres, sí que considerem molt important, dins de la seqüència de fites, el descobriment, l'any 1988, de la importància d'aquest receptors específics de la membrana plaquetària com a darrer esglaió, fonamental, en el procés d'activació de la plaqueta, sigui quin sigui l'inductor inicial.

## **LA INFLAMACIÓ EN LA MALALTIA TROMBOEMBÒLICA**

Fins ara hem centrat l'atenció en la plaqueta, en el coneixement creixent dels processos bioquímics involucrats en la seva activació i en la seva interacció amb l'endoteli.

Continuant en aquest procés evolutiu en el temps, introduïm ara el concepte de la inflamació i la importància que té a nivell vascular en el desenvolupament de la malaltia arterioscleròtica, una malaltia que està estretament lligada amb la malaltia tromboembòlica per l'elevat risc trombòtic que comporta.

En la inflamació vascular, la plaqueta també hi juga un paper important però es començaran a introduir nous elements del coneixement que ens obriran nous horitzons. La plaqueta activada i en la seva interacció amb l'endoteli ja no serà l'únic actor o l'únic actor important.

Devem a Rusell Ross, en els seus treballs d'investigació i de síntesi del coneixement en aquest camp, la introducció del concepte que s'ha anat consolidant en els darrers anys que l'arteriosclerosi és una malaltia inflamatòria.

Ja l'any 1973 a la revista *Science*, i després en un article de revisió l'any 1976 al *New England Journal Medicine*, Ross comença a posar de manifest la importància que en la patogènesi de l'arteriosclerosi juga la lesió de l'endoteli vascular i els processos subsequents de proliferació de les cèl·lules musculars llises de l'íntima, i d'engruiximent i formació de nou teixit connectiu. En aquest article es va donar un paper rellevant a la lesió endotelial i a la interacció de les plaquetes amb les estructures subendotelials, com el col·lagen, produint activació plaquetària i alliberament de diferents factors de creixement cel·lular que contribueixen al procés d'hiperplàsia vascular. Tot i que no es parla encara de la inflamació com un mecanisme important latent en aquests processos de lesió vascular, aquests treballs de Ross obren les portes i aplanen el camí per a la millor comprensió dels mecanismes proinflamatoris que es posaran de manifest uns anys més tard.

En aquest sentit, per a mi marca un abans i un després l'article de revisió de Ross de l'any 1999 al *New England Journal Medicine*, on posa de manifest que el procés aterogènic no es pot considerar simplement una acumulació de lípids a la paret arterial. És molt més que això i tot un seguit de respostes a nivell cel·lular i molecular permetran observar com, més que una lesió de l'endoteli, que també, és el concepte de disfunció endotelial induïda per tot un seguit d'estímuls, que de manera crònica aniran configurant un estat inflamatori a nivell arterial que tindrà un gran impacte en la malaltia.

Es posa de manifest la importància dels radicals lliures (que es produeixen per exemple quan es fuma una cigarreta), la hipertensió, la diabetis mellitus, les alteracions genètiques, les concentracions elevades d'homocisteïna en plasma, les infeccions víriques o bacterianes com les produïdes pel virus de l'herpes o per la *Chlamydia pneumoniae*, la participació dels monòcits i dels limfòcits T i la seva interacció amb l'endoteli, inclús en persones joves. Aquests serien alguns dels factors proinflamatoris importants en el desenvolupament de l'arteriosclerosi i, per tant, de la malaltia tromboembòlica.

A partir d'aquests treballs, la investigació del concepte de la inflamació en l'arteriosclerosi ha donat lloc a una explosió d'estudis i de treballs en els darrers anys que demostren la complexitat i la interrelació de diferents processos bioquímics en la gènesi i el desenvolupament de les lesions arterioscleròtiques i la seva influència en els accidents trombòtics.

En aquest punt, i per completar aquest capítol, no podem deixar de fer menció del paper destacat d'un factor de transcripció nuclear present

en moltes estructures de l'organisme i que, a la paret vascular, a nivell de l'endoteli, regula l'expressió de diverses proteïnes proinflamatòries com les proteïnes d'adhesió VCAM-1 i ICAM-1, les interleucines com la IL-6, la ciclooxigenasa tipus 2 (COX-2) i el factor de necrosi tumoral TNF-alfa.

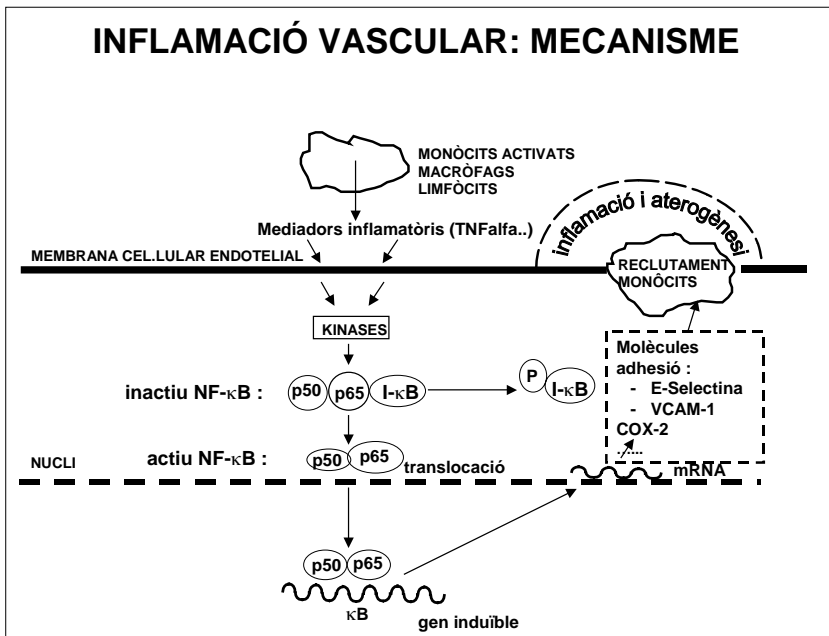


Figura 7.

Aquest factor de transcripció es coneix com a NF-kappaB, i les investigacions dutes a terme en els darrers 15 anys han permès posar de manifest la seva important participació en els mecanismes proinflamatoris a nivell de la paret arterial. En efecte, per activació dels monòcits o davant d'altres estímuls (infecció bacteriana, radicals lliures etc.) l'endoteli vascular sofreix un "insult" proinflamatori, i es produeix una activació de les proteïnases de la membrana endotelial. L'activació d'aquests enzims provoca una activació del NF-kappaB del citoplasma cel·lular que es troba en forma inactiva (zimògena). Quan s'activa, el NF-kappaB perd les subunitats que l'inactivaven i aleshores és capaç de translocar-se al nucli de la cèl·lula i unir-se als gens inductors de la síntesi de les proteïnes proinflamatòries abans



esmentades. La síntesi d'aquestes proteïnes farà que s'expressin a nivell de la membrana cel·lular, on, per la seves propietats adhesives de diferents elements cel·lulars sanguinis i per les seves propietats inflammatòries, contribuiran a la gènesi i el desenvolupament de la malaltia tromboembòlica.

El descobriment i les accions d'aquest factor de transcripció ha obert nous camins d'investigació de fàrmacs capaços d'inhibir-ne la seva activació i així poder intervenir en el control dels processos inflamatoris que estan regulats per aquest factor. Entre aquests processos, hi podríem considerar la malaltia tromboembòlica arterial i també malalties neurodegeneratives a nivell del sistema nerviós central (la demència tipus Alzheimer i l'esclerosi múltiple), on els mecanismes proinflamatoris regulats pel NF-kappaB sembla que també hi juguen un paper important.

## **LA RECERCA PRESENT I EN LES PROPERES DÈCADES: ESTRATÈGIES DE FUTUR**

Quin és el present, i el futur a mig termini, pel que fa a la investigació en el camp de l'antiagregació plaquetària i el tractament de la malaltia tromboembòlica d'origen arterial?

### **Antiagregants plaquetaris**

Actualment, l'arsenal terapèutic en el camp dels antiagregants plaquetaris no és gaire ampli, contràriament al que seria d'esperar. Es pot reduir a 4-5 fàrmacs rellevants: l'aspirina, el clopidogrel, la ticlopidina el dípíridamol i el trifusal. I, com ja he dit, l'aspirina, un fàrmac centenari, continua essent el "patró or" de referència a nivell mundial, i les investigacions en les darreres dècades i les que s'estan duent a terme semblen confirmar-ho.

La investigació de futur tampoc no sembla gaire activa. El proper fàrmac que probablement s'introduirà serà el "prasugrel" que pertany a la mateixa família química que el clopidogrel, i no creiem que pugui aportar un avenç substancial.

També hi ha investigacions, però en una fase menys avançada, de fàrmacs que actuen sobre els receptors purínics P2Y<sub>12</sub> de la plaqueta (AZD-6140).

Per altra banda, els fàrmacs antitrombòtics que no actuen sobre la plaqueta sinó a través de la via de la coagulació, i per tant són útils en la malaltia tromboembòlica venosa, que aquí no hem tractat, no han donat els resultats esperats. El ximelagatran n'és un exemple. És un inhibidor de la trombina que s'ha retirat del mercat per problemes tòxics hepàtics.

El no descobriment de vies metabòliques noves d'actuació a nivell plaquetari, i les exigències regulatòries de milers i milers de malalts per demostrar un benefici terapèutic clar respecte als fàrmacs actuals, particularment l'aspirina, fa difícil la investigació en aquest camp i no es preveuen a mig termini grans descobriments.

### **Poliera i poliproductes**

En canvi, on sí que es preveu una investigació més activa és en la utilització combinada de diversos fàrmacs que actuen de manera complementària. Així com en la dècada dels anys vuitanta i principis dels noranta la plaqueta era el centre, la diana sobre la qual concentrar les investigacions de fàrmacs beneficiosos per prevenir la trombosi arterial, últimament grans estudis clínics han posat de manifest la importància de la reducció dels nivells de colesterol, o la prevenció de la seva síntesi i el control de la hipertensió com dues vies d'actuació clares per reduir els accidents trombòtics d'origen arterial.

Per això alguns experts han considerat que estem entrant en la que podríem anomenar la "poliera", on la utilització combinada de diversos fàrmacs en unes dosis i pautes terapèutiques determinades podria significar un avenç substancial (Franco,2007). Des d'un punt de vista teòric es considera que amb una polipíndola que combinés una estatina, tres antihipertensius diferents, aspirina i àcid fòlic, es podria reduir de més d'un 80% la malaltia cardiovascular (DeWilde, 2008).

En aquest sentit, el Dr. Valentín Fuster, en una conferència de desembre de 2006 al Centre d'Investigacions Cardiovasculars de Barcelona, ja va comentar que una bona estratègia per al tractament de la malaltia arterial coronària crònica seria la utilització combinada en una polipíndola de l'aspirina, una estatina i un inhibidor de l'enzim convertidor de l'angiotensina (ACE). La plaqueta ja no és l'únic actor. Tot és molt més complex. Veurem si els estudis en curs que valoren aquesta i d'altres combinacions donaran els resultats esperats sense un increment excessiu dels efectes secundaris.

## **Medicina personalitzada**

El descobriment del genoma humà i el ràpid desenvolupament del que es coneix com a tecnologia -OMICA, és a dir la genòmica, la proteòmica, la toxicogenòmica, la metabolòmica, la històmica, etc., seran unes eines que ens podran ajudar en el que s'anomena farmacologia a la carta o medicina personalitzada.

La investigació en aquest camp encara està lluny d'assolir resultats concrets, però crec que en un futur, dins de l'horitzó del 2050, la medicina personalitzada en el camp cardiovascular donarà fruits concrets. S'obindrà una major taxa de resposta i major seguretat, major relació benefici-risc, menys cost i menys temps de desenvolupament d'un nou fàrmac. En contra hi ha que el tractament personalitzat exigirà, probablement, la utilització prèvia de tests diagnòstics per determinar el fàrmac a utilitzar i això encarrirà el cost del tractament i les dificultats de finançament per la sanitat pública (Lonn,2006)

## **Teràpia cel·lular. Medicina regenerativa**

Un altre camp d'investigació molt actiu ja ara i durant les pròximes dècades és el que coneixem com a teràpia cel·lular, aplicada concretament en el nostre cas a la medicina regenerativa del miocardi.

Els estudis duts a terme per diferents investigadors, entre els quals podem destacar Piero Anversa(2003) i Bernat Nadal (2003) (mallorquí establert als EUA des de fa més de 40 anys) del New York Medical Center, han permès demostrar que la implantació de cèl·lules mare cardíques o de medul·la òssia en animals d'experimentació és capaç de produir una regeneració del teixit miocàrdic necrosat. L'expectativa que aquests descobriments ha generat en tot el món ha portat a una veritable febre per intentar reproduir aquests resultats en la persona humana, de moment sense resultats clars.

Amb l'aplicació directa d'aquestes cèl·lules s'ha aconseguit com a màxim regenerar 1 g de teixit quan, a efectes d'utilitat pràctica, seria necessari regenerar-ne aproximadament 150 g (Urbanek,2003).

Per altra banda investigacions més recents s'orienten no tant a implantar cèl·lules mare sinó a provocar la regeneració per estímul farmacològic *in situ* al voltant de la zona necrosada de factors de creixement cel·lular com el factor de creixement de la insulina (IGF-1) i el factor de creixement dels hepatòcits (HGF) o d'altres citocines com les interleucines 3 i 6 (IL-3,IL-6).

En qualsevol cas, el més important d'aquesta investigació en el camp cardíac és que el concepte que es tenia, que els miòcits (les cèl·lules del miocardi), des dels seus inicis de vida postnatal, aconseguien ja una diferenciació terminal que no els permetia generar-ne de nous, ha quedat definitivament obsoleta.

Creiem, però, que la investigació en aquest camp no serà fàcil, i ja l'any 2004 un editorial de *Nature* posava de manifest la manca de consens sobre la importància de les cèl·lules mare en la regeneració miocàrdica. Els avenços en el tractament de l'infart agut de miocardi i la reducció de la mortalitat han provocat un augment significatiu de malalts amb cardiopatia isquèmica crònica (4,8 milions als EUA i més de 400.000 casos nous a l'any) i és en aquest context que qualsevol èxit en la investigació de la regeneració miocàrdica suposarà una revolució terapèutica de primer nivell.

## **Tècniques d'imatge**

El gran desenvolupament en els darrers anys de les tècniques d'imatge és un altre aspecte a considerar que ajudarà al tractament de la malaltia tromboembòlica. En el futur es preveu que màquines que puguin combinar les tècniques de ressonància magnètica (MRI), tomografia computeritzada (CT) i tomografia d'emissió de protons (PET) permetran una millor caracterització anatòmica de la placa d'eteroma i del procés inflamatori que l'acompanya, i això haurà de permetre un tractament i una profilaxi d'aquesta malaltia molt més eficient.

## **EL TRIFLUSAL**

Arribats en aquest punt, un cop hem pogut fer una revisió d'algunes fites rellevants del funcionalisme plaquetari i la interacció amb l'endoteli i la malaltia tromboembòlica des de 1950 fins ara, així com d'algunes estratègies terapèutiques de futur, crec adient fer un resum del que ha estat el descobriment i desenvolupament del triflusal, que ha ocupat una bona part de la meva vida professional quasi des de la meva incorporació a Uriach fins avui.

Ho crec adient donat que el descobriment i la recerca d'aquest fàrmac, que encara avui continua, han anat estretament lligats a la majoria dels esdeveniments i fites científiques que he comentat, i això ha estat per a mi un motiu d'una gran satisfacció i realització professional.

Des de l'any 1973, a l'inici de la meua activitat investigadora a Uriach fins avui, he participat amb un equip d'excel·lents professionals en el descobriment i la comercialització de 6 noves entitats químiques: la glisentida (1974, un antidiabètic oral de la família de les sulfonilurees), la brovanexina (1975, mucolític), el triflusal (1981, antiagregant plaquetari), el fosfosal (1984, un analgèsic de la família dels salicilats), el flutrimazol (1995, antifúngic tòpic) i la rupatadina (2003, antihistamínic).

Però no hi ha dubte que de tots aquests principis actius el més important quant a la meua dedicació professional i sortosament també quant a contribució científica i terapèutica ha estat i continua essent el triflusal.

## **El seu descobriment**

Quan anteriorment m'he referit al terme anglès *serendipity* (sagacitat i atzar), pensava també en el triflusal i com el seu descobriment bé es podria considerar un cas de *serendipity*.

Quan l'any 1974 vaig començar a treballar al laboratori amb el triflusal no és pretenia trobar un antiagregant plaquetari. Si tenim en compte l'evolució dels esdeveniments que he presentat abans, aquell any encara no s'havia descobert el tromboxà, ni la prostaciclina, i tot just es començava a entreveure que l'aspirina podia tenir algun interès terapèutic com a antiplaquetari. Seria difícil d'entendre que nosaltres ja teníem una visió clara de futur sobre la importància d'aquests tipus de fàrmacs. El que preteníem era obtenir un antiinflamatori més potent que l'aspirina, amb la hipòtesi que en afegir a la molècula àtoms de F (fluor), de manera semblant al que s'havia observat amb els corticosteroides, s'incrementaria la potència antiinflamatòria de l'aspirina. Hem de dir que el triflusal és l'àcid 2-hidròxi-4trifluorometil benzoic, o, dit d'una altra manera, és la molècula d'aspirina a la qual s'ha incorporat un grup trifluorometil en l'anell benzènic en posició "para" respecte al grup carboxil. Però com sol passar molt sovint en la recerca, les nostres previsions teòriques no es van complir en la realitat. Vam obtenir un compost amb una potència antiinflamatòria inferior a la de l'aspirina.

Arribats a aquest punt estàvem ja decidits a abandonar el producte quan vam tenir la sort de llegir a *Lancet* el treball d'O'Brien de l'any 1968 que he esmentat al principi, on es posava de manifest l'acció antiagregant plaquetària de l'aspirina en humans i que podia tenir, per

tant, un paper important en un futur com antitrombòtic. Aquest treball ens va despertar l'interès i la curiositat per veure si el triflusal, abans d'abandonar-lo definitivament, podria tenir un lloc en aquest camp terapèutic.

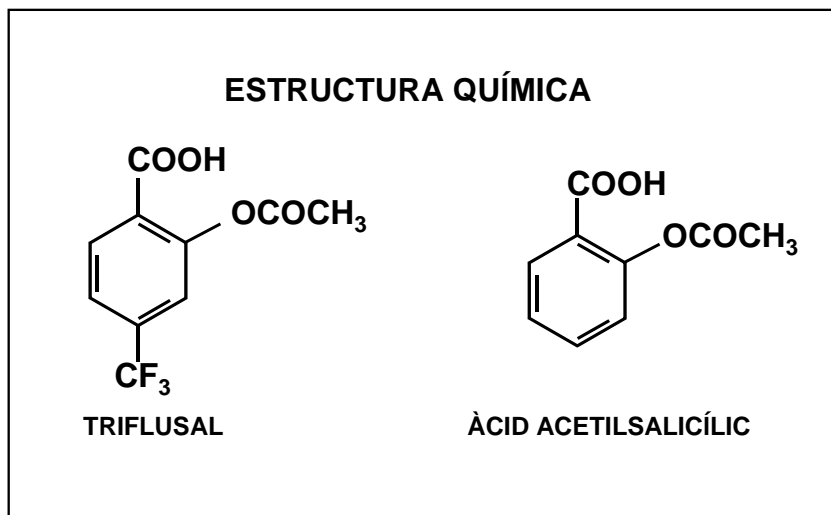


Figura 8.

Tot i que era un camp nou amb un futur incert, la nostra intuïció i la sort que en tota investigació sempre hi ha ens van dur a comprovar si el triflusal hi podria tenir algun interès. Vam portar a terme els primers experiments amb un agregòmetre quasi artesanal que avui forma part del Museu d'Uriach d'aparells antics. Era l'anomenat agregòmetre de Born basat en el mètode fotomètric de Born de l'any 1962 del qual n'he parlat al principi de la meua conferència.

Els resultats prometedors d'aquests experiments inicials, molts d'ells duts a terme amb les plaquetes de la nostra pròpia sang (avui totalment impensable), ens van fer replantejar el projecte inicial, no abandonar el triflusal i desenvolupar-lo com a antiagregant plaquetari (Murdoch, 2006).

### **La seva síntesi**

En la síntesi del Triflusal en grans quantitats, en tonatges considerables i amb qualitat superior, hi ha un factor que vull esmentar: els

avenços aconseguits mitjançant l' Enginyeria Química en el disseny de maquinària i condicions de reacció avançades.

La reacció clau de la síntesi és una Kolbe-Schmitt. És, o millor dit era, una reacció estàtica que tenia lloc a pressió i temperatura considerable i que la seva duració era molt prolongada. Després de delicats estudis cinètics i de seguretat es van modificar totalment les condicions i es va aconseguir disminuir el temps de reacció més de cinquanta vegades i millorar la qualitat del producte final tot incrementant la seguretat del procés, que requereix precaucions especials. Per aconseguir-ho va ser necessari dissenyar un reactor especial, dinàmic, i treballar a alta pressió i temperatura, la qual cosa, per una reacció en fase sòlida, fou tot un repte.

Les millores aconseguides foren notables i van permetre incrementar les exigències analítiques de la Farmacopea Europea.

Aquesta millora de procés representà un gran pas endavant en sostenibilitat i puresa del producte. També es millorà l'eficiència atòmica i fou un avenç mediambiental i tecnològic.

## **Mecanisme d'acció**

En la investigació del mecanisme d'acció del triflusal que vam iniciar a la segona meitat de la dècada dels anys setanta i que vam continuar i completar en les dècades següents (anys vuitanta i noranta), ens van ser de gran utilitat els avenços científics que he comentat abans. En particular, el coneixement detallat del funcionalisme plaquetari i del metabolisme de l'àcid araquidònic, amb el descobriment del tromboxà A<sub>2</sub> i de la prostaciclina, i després amb el descobriment de l'òxid nítric, per acabar amb la constatació de la importància dels processos inflamatoris en el desenvolupament de la malaltia ateroscleròtica. En certa manera el descobriment de tots aquests avenços científics ens ha permès de manera paral·lela descobrir, aprofundir i afinar en el mecanisme d'acció del triflusal.

Així doncs, després d'uns quants anys de recerca avui podem proposar un mecanisme prou definit per al triflusal. S'ha demostrat que, igual que l'aspirina, és un inhibidor irreversible de la ciclooxigenasa plaquetària i, per tant, de la biosíntesi de tromboxà A<sub>2</sub>, però a diferència de l'aspirina té un efecte negligible sobre la ciclooxigenasa vascular i, per tant, la síntesi de prostaciclina queda preservada (García-Rafanell, 1979; Albors, 1987; Duran, 2008). A més, i a diferència també de l'aspirina,

és un inhibidor de la fosfodiesterasa plaquetària i incrementa els nivells intraplaquetaris d'AMPC que produiran una inhibició de la mobilització del calci dels seus reservoris plaquetaris (García-Rafanell,1986). Com se sap, la mobilització plaquetària del calci és fonamental per la reacció d'activació de la plaqueta i per la seva agregació i, per tant, el fet de inhibir la seva mobilització en incrementar els nivells d'AMPC intraplaquetari contribueix a la inhibició de l'agregació plaquetària. Aquest efecte tampoc no s'ha demostrat amb l'aspirina.

Per altra banda, amb col·laboració amb l'equip del Dr. López Farré a la Fundació Jiménez Díaz a Madrid, es va poder demostrar la capacitat del triflusal per estimular la síntesi i alliberament d'òxid nítric dels neutròfils humans (Sánchez de Miguel,1998). L'òxid nítric alliberat pot contribuir a un efecte antiplaquetari actuant sobre la plaqueta per estímul de l'activitat de la guanilat-ciclasa, incrementant com a conseqüència els nivells de GMPc que actuaran de manera semblant a l'increment dels nivells d'AMPC: inhibint la mobilització del calci intraplaquetari.

Finalment, treballant amb l'equip del Dr. Sánchez Crespo del CSIC a Valladolid, s'ha pogut demostrar l'efecte del triflusal i del seu metabòlit principal, l'HTB, en la inhibició de l'activació del factor de transcripció NF-kappaB (Bayón,1999). Com ja hem dit abans, aquest factor regula l'expressió en l'endoteli vascular de diverses proteïnes proinflamatòries com la VCAM-1, ICAM-1, COX-2, IL-6 i TNF-alfa. Amb la demostració d'aquests efectes complementaris del triflusal i de l'HTB, s'obra la porta a considerar que l'efecte antitrombòtic del triflusal pot ser, en part, també degut a un efecte beneficiós a nivell de la inflamació vascular que, com avui s'admet, juga un paper important en el desenvolupament de la malaltia arterioscleròtica.

Aquest factor de transcripció també es troba en el cervell, en la neurona i en d'altres cèl·lules del sistema nerviós central, com les cèl·lules de la glia. S'ha pogut demostrar l'efecte del triflusal i de l'HTB en la inhibició de l'activació del NF-kappaB a nivell neuronal, i aquest efecte s'ha correlacionat amb un efecte favorable del fàrmac en els processos neurodegeneratius, en els quals la inhibició d'aquest factor de transcripció pot jugar un paper important. Això ha obert també les portes a una investigació de futur del triflusal en aquests tipus de malalties, en concret en la prevenció de l'Alzheimer amb malalts amb deteriorament cognitiu lleu, és a dir, en una fase clínica preAlzheimer. Un assaig clínic pilot al qual em referiré més endavant ha donat uns resultats molt esperançadors en aquesta direcció.



El que volia posar de manifest en aquest apartat, més enllà de comentar el mecanisme d'acció de triflusal i les diferències amb l'aspirina, és que els avenços científics al llarg d'aquestes dècades que abans he resumit han estat fonamentals per a les nostres investigacions. Han permès comprovar, quasi en paral·lel, a mesura que s'anaven coneixent, que l'acció de triflusal estava estretament lligada a molts d'ells.

## **Eficàcia terapèutica**

Va ser durant la dècada dels anys noranta quan es van dur a terme els estudis clínics més rellevants amb triflusal, que han permès acreditar la seva eficàcia com a antiagregant plaquetari en la prevenció secundària de l'infart agut de miocardi i de l'infart cerebral. Ens referim als estudis TIM (cruz-Fernández, 2000), TACIP (Matías-Guiu, 2003) i TAPIRSS (Culebras, 2004) amb milers de malalts i duts a terme en les condicions de Bones Pràctiques Clíniques. El més important d'aquests estudis és que s'ha pogut demostrar una eficàcia similar a la de l'aspirina però amb una incidència d'efectes secundaris, particularment hemorràgies gàstriques i sistèmiques greus, significativament inferior a la de l'aspirina.

En aquest sentit és important destacar que gràcies a aquests estudis, per primera vegada un medicament d'investigació del nostre país ha estat inclòs a les Guies Clíniques Oficials Europees per al Tractament de l'Ictus Isquèmic i de l'Accident Isquèmic Transitori, publicades per l'European Stroke Organization l'any 2008, dins la màxima categoria d'evidència (classe I) i màxim nivell de recomanació (nivell A). En aquestes guies s'indica específicament que “triflusal redueix la recurrència d'infart cerebral amb una eficàcia similar a la de l'aspirina però amb menys efectes adversos”.

Més recentment, l'any 2004 la publicació de l'estudi NASPEAF en una de les revistes de més prestigi en el món de la cardiologia, el *Journal of American College of Cardiology*, demostra, per primera vegada, que amb la combinació d'un antiagregant plaquetari, el triflusal, amb dosis moderades d'anticoagulant oral, s'obtenia una eficàcia superior al règim terapèutic establert d'anticoagulació sola a dosis estàndard, en malalts amb fibril·lació auricular. Quan s'associava el triflusal a l'anticoagulació s'obtenia una reducció del 50% dels accidents cardiovasculars, inclosa la mort vascular, sense incrementar el risc hemorràgic respecte al grup de l'anticoagulació sola a dosis estàndard. Aquest estudi

fet al nostre país per distints cardiòlegs de tot l'Estat ha obert una nova aproximació al tractament de la fibril·lació auricular que ha despertat un gran interès a nivell internacional (Pérez-Gómez, 2004).

Altres camps on l'eficàcia del triflusal ha quedat demostrada han estat, per exemple, la prevenció de l'oclusió dels empelts vasculars en malalts sotmesos a *by-pass* aorto-coronari (Guiteras, 1989), o la prevenció d'accidents vasculars en malalts operats amb pròtesis valvulars cardíacques de tipus biològic (Aramendi, 2005).

Finalment, el descobriment de les accions de triflusal a nivell de la inflamació, no solament en l'àmbit vascular sinó també en el neuronal i els seus efectes en diversos models animals de neurodegeneració que hem comentat anteriorment, va obrir un nou camp d'investigació per a la prevenció d'aquest tipus de malalties, en concret la prevenció de l'Alzheimer de tipus amnèsic. En aquest sentit, l'any 2008 es va publicar a la revista *Alzheimer Disease and Associated Disorders* un estudi pilot amb més de 250 malalts amb deteriorament cognitiu lleu de tipus amnèsic (situació clínica pre-Alzheimer), on s'observa que el tractament d'aquests malalts amb triflusal s'associa a una reducció superior al 40% en la taxa de conversió a Alzheimer (Gómez-Isla, 2008). Aquest fet es considera, en opinió dels experts, d'una gran importància i mereixeria la confirmació en un estudi pivotal amb una mostra més gran de malalts.

## **Presència Internacional**

Nosaltres vam iniciar les investigacions amb el triflusal l'any 1974, i aquest fàrmac es va comercialitzar per primera vegada, al nostre país l'any 1981. De llavors ençà s'ha comercialitzat a 35 països d'arreu del món i avui, al cap de 28 anys de la seva introducció a Espanya i quan aquí ja hi ha més de 10 genèrics de triflusal, es continua comercialitzant a nous països com Filipines, Tailàndia, Indonèsia, Malàsia i Hongria, en els darrers dos anys, i està previst la propera comercialització a Orient Mitjà i més endavant molt probablement a Rússia i països satèl·lits i també a la Xina.

Estarem d'acord que no és freqüent que, després de tants anys, i amb un producte sense protecció de patent, es continuï introduint en nous mercats i amb èxit. Tampoc és freqüent que, en desenvolupar la meva tasca professional a Uriach des de sempre, hagi pogut estar directament involucrat en tota l'evolució del fàrmac des dels seus inicis fins

avui. Per a mi ha estat, i continua essent, una de les majors satisfaccions com a investigador i una experiència difícil d'aconseguir, pel fet d'haver pogut participar activament en el seu descobriment i en totes les fases del desenvolupament experimental i clínic i després en el procés, que encara continua, de la seva comercialització arreu del món.

L'any 1981, els recursos i objectius d'Uriach estaven enfocats al llançament d'aquest fàrmac solament al mercat espanyol. L'èxit terapèutic ja des del principi va estimular l'interès de la companyia per aconseguir la seva comercialització en d'altres països. L'increment exponencial dels requeriments regulatoris dels anys vuitanta i noranta per registrar un nou medicament va obligar, en la mesura de les nostres possibilitats, a dedicar els recursos per aconseguir l'expansió internacional del fàrmac i, quan això ha estat possible, el fet que el producte no tingui ja la protecció de patent ha marcat les possibilitats de la seva comercialització en diferents països europeus i als EUA.

En qualsevol cas, avui està reconegut, a nivell internacional i en moltes guies clíniques d'actuació terapèutica, que el trifusal és un fàrmac antiplaquetari que, respecte al "patró or" que avui continua essent l'aspirina, ha demostrat una eficàcia terapèutica similar a la d'aquest fàrmac però amb un risc hemorràgic a nivell gàstric i sistèmic manifestament menor. Donada la importància d'aquest efecte advers en el tractament crònic de la malaltia tromboembòlica amb antiagregants plaquetaris, creiem que l'aportació de trifusal ha suposat un avenç i una millora significativa.

## **Consideracions finals**

Per acabar, voldria deixar clar que la història de la plaqueta pel que fa al seu funcionalisme, activació i relació amb la malaltia tromboembòlica és molt més complexa i amplia del que jo avui aquí he resumit. He procurat solament destacar algunes de les fites que considero més importants en aquest procés evolutiu que es remunta a la meitat del segle passat i va tenir la seva explosió en les dècades dels anys noranta i vuitanta. També he procurat apuntar, molt breument, alguns dels camins actuals i de futur que marcaran les properes dècades d'investigació en aquest camp.

Per altra banda, he volgut posar de manifest com les nostres investigacions, centrades en el descobriment i desenvolupament del trifusal, han transcorregut en paral·lel amb aquests grans descobriments, i com

alguns d'ells (tromboxà A2, prostaciclina, òxid nítric, mediadors d'inflamació vascular...), que hem viscut en el temps, ens han permès poder conèixer el seu mecanisme d'acció i explicar la seva eficàcia terapèutica.

Quan a la dècada dels setanta i vuitanta estàvem en ple desenvolupament experimental i clínic del fàrmac en uns moments encara d'incertesa sobre la contribució real dels antiplaquetaris en aquesta malaltia, recordo que sempre em feia a mi mateix la següent reflexió: “si els estudis de molts equips d'investigadors a nivell mundial demostren l'èxit terapèutic de l'aspirina com a antitrombòtic, no podrem fracassar amb el triflusal si no és que fallen els principis de la Química i la Farmacologia”. Així ha estat, l'aspirina s'ha consolidat com a “patró or” mundial en el tractament antiplaquetari de la malaltia tromboembòlica, i la Química i la Farmacologia en les que ens vam basar en les nostres investigacions primeres amb el triflusal no ens han fallat. La clínica, després, s'ha encarregat de confirmar que amb aquest fàrmac, triflusal, hem pogut contribuir, ni que sigui modestament, de manera eficaç i segura al tractament de la malaltia tromboembòlica d'origen arterial, aportant un benefici addicional al tractament convencional antiplaquetari.

Vull agrair una vegada més al president i a tots els acadèmics la seva confiança i el meu nomenament com a acadèmic corresponent, i a tots vostès, senyores i senyors, la seva assistència i atenció.

Moltes gràcies a tothom

## REFERÈNCIES

- Aguirre de Cárcer,A; Fernández-Rúa,JM. NO un gas mensajero, ABC cultural, 15 Octubre,1998.
- Albors,M.; deCastellarnau,C; Vila,C. et al. Inhibition of thromboxane production and platelet function by triflusal in healthy volunteers. *Rev.Farmacol.Clin.Exp.* 4(1):11-16,1987.
- Antithrombotic flow restored? [www.drugmarket.com](http://www.drugmarket.com), 18:29-31, 2007.
- Aramendi,J.I.; Mestres, C.A.; Martínez-León,J. et al. Triflusal versus oral anticoagulation for primary prevention of thromboembolism after bioprosthetic valve replacement (trac) : prospective, randomized,co-operative trial. *Eur.J. Cardithorac.Surg.*, 27::854-860, 2005.
- Bayón,Y.; Alonso,A.; Sánchez-Crespo,M. 4-trifluoromethyl derivatives of salicylate, triflusal and its main metabolite 2-hydroxy-4-trifluoromethyl acid, are potent inhibitors of nuclear factor kappaB activation. *Br.J.Pharmacol.*,126(6):1359-1366,1999.
- Born, G.V.R; Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194:927-929; 1962.
- Cazenave, J.P. ; Interactions plaquettes-vaisseaux. *La Revue du Practicien* 31(7) : 447-459, 1981.
- Cannon,C.P.; McCabe,C.H., Wilcox, R.G. et al. Oral glycoprotein IIb/IIIa inhibition with Orbofiban in patients with unstable coronary syndrome (OPUS-TIMI 16) trial. *Circulation* , 102:149-156, 2000.
- Colasanti,M.; Suzuki,H. The dual personality of NO. *TiPS*, 21:249-252, 2000.
- Coller, B.S.; Peerschke, E.I.; Scudder,L.E. et al. A murine monoclonal antibody that completely blocks the binding of fibrinogen to platelets produces a thrombasthenic-like state in normal platelets and binds to glycoproteins IIb and /or IIIa. *J.Clin.Invest.*, 72:325-338, 1983.
- Cruz-Fernández, J.M.; López-Bescós, L.; García-Dorado,D. et al., and triflusal in myocardial infarction (TIM) investigators. Randomized comparative trial of triflusal and aspirin following acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 21:457-465, 2000.
- Culebras, A.; Rotta-Escalante,R.; et al and the TAPIRSS investigators. Triflusal vs aspirin for prevention of cerebral infarction. A randomized stroke study. *Neurology*, 62:1073-1080, 2004.

- DeWilde,S.; Carey,I.M.; Richards,N. et al Trends in secondary prevention of ischemic heart disease in the UK 1994 2005: use of individual and combination treatment. *Heart*, 94(1):83-88,2008.
- Diener,H.C. The PRoFESS trial: future impact on secondary stroke prevention. *Expt Rev.Neurther.*, 7(9):1085-1091, 2007.
- Duran,X.; Sánchez,S.; Vilahur,G. et al. Protective effects of triflusal on secondary thrombus growth and vascular cyclooxygenase-2. *J.Thromb.Haemost.* 6:1385-1392 ,2008.
- Evans,G.; Mustard,G.F. Spontaneous bruising *Lancet*,ii:724-725, 1967.
- Franco, O.H.; Karnik,K.; Bonneux,L. The future of metabolic syndrome and cardiovascular disease prevention: polyhype or polyhope?. *Tales from the polyera. Horm Metab. Res.* 39(9):627-631, 2007.
- García, A. Un hallazgo casual. *Noticias Médicas*, 3684:8-10, 1998.
- García-Moll,X.; Royo,T.; Badimón,L. Atherosclerosis y trombosis. *Rev. Lat. Cardiol.* 19:140-155, 1998.
- García-Rafanell,J.; Planas,J.M., Puig-Parellada,P. Comparison of the inhibitory effects of acetylsalicylic acid and triflusal on enzymes related to trombosis. *Arch.Int.Pharmacodyn.* 237(2):343-350, 1979.
- García-Rafanell, J.; Ramis,J; Gómez,L. et al. Effect of triflusal and other salicylic acid derivatives on cyclic AMP levels in rat platelets. *Arch.Int.Pharmacodyn.*, 284:155-165, 1986.
- Gast,L.F.Influence of aspirin on haemostatic parameters. *Ann. Rheum.Dis*, 23:500-504, 1964.
- Gómez-Isla,T.; Blesa,R., Boada,M et al. A randomized, double blind, placebo controlled-trial of triflusal in Mild Cognitive Impairment. *The TRIMCI study. Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 22 :21-29, 2008.
- Grette, K. Studies on the mechanism of thrombin-catalyzed hemostatic reactions in blood platelets.*Acta Physiol. Suppl*, 195:1-93, 1962.
- Guidelines for the management of ischemic stroke and transient ischaemic attack 2008. (the European Stroke Organization Executive (ESO) Committee and the ESO Writing Committee). *Cerebrovasc. Dis.*, 25:457-507, 2008.
- Guiteras,P.; Altimiras,J.; Arís,A. Et al. Prevention of aortocoronary vein-graft attrition with low-dose aspirin and triflusal, both associa-

- ted with dipyridamole: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Eur. Heart J.*, 10:159-167, 1989.
- Gustav V.R. Born. "The Born family in Göttingen and Beyond". ISBN 978-3-938016-05-3. Göttingen Institut für Wissenschaftsgeschichte, 2002.
  - Hamberg,M; Samuelsson,B. Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis. *Proc.Nat.Acad. Sci. USA* ,70: 899-903, 1973.
  - Hamberg,M; Samuelsson,B. Prostaglandin endoperoxides. Novel transformation of arachidonic acid in human platelets. *Proc.Nat. Acad. Sci.USA* 71:3400-3404, 1974.
  - Hamberg,M; Svensson,J.; Samuelsson,B. Thromboxanes : a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72:2994-2998, 1975.
  - Lamas,S.; Pérez-Sala,D.; Moncada,S. Nitric Oxide: from discovery to clinic. *TiPS*, 19:436-438,1998.
  - Lonn,E., Grewal,J. Drug therapies in the secondary prevention of cardiovascular diseases: successes,shortcomings and future directions. *Curr.Vasc.Pharmacol.* 4(3):253-268, 2006.
  - Matías-Guiu,J.; Ferro,J.M.; Alvarez-Sabín,J. et al. Comparison of Triflusal and Aspirin for prevention of vascular events in patients after cerebral infarction. The TACIP study: a randomized, double blind, multicenter trial. *Stroke*, 34:840-848, 2003.
  - Moncada,S.; Gryglewski, R.; Bunting,S.; Vane, JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, 263:663-665, 1976.
  - Murdoch,D.; Plosker,G.L. Triflusal: a review of its use in cerebral infarction and myocardial infarction, and as thromboprophylaxis in atrial fibrillation. *Drugs*, 66(5):671-692, 2006.
  - Mustard,J.F. ; Packham, M.A.. Normal and abnormal haemostasis. *British Medical Bulletin* 33:187-192,1977.
  - Nadal-Ginard,B.; Kajstura,J.; Anversa,P. et al A matter of life and death: cardiac myocyte apoptosis and regeneration. *J.Clin.Invest.* 111(10) :1457-1459, 2003.
  - Nadal-Ginard,B; Kajstura,J.; Leri,A. et al. Myocyte death,growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Cir.Res.* 92(2):139-150, 2003.
  - Needleman, P.; Moncada, S.; Bunting,S.; Vane, JR; Hamberg,M;

Samuelsson,B. Identification of an enzyme in platelet microsomes which generates thromboxane A2 from prostaglandin endoperoxides. *Nature* 261:558-560, 1976.

- No consensus on stem cells (editorial). *Nature*, 428:587, 2004.
- Nobel Prize Awarded to Scientists for Nitric Oxide Discoveries. *Circulation*, 98:2365-2366, 1998.
- Nugteren,D.H.; Hazelhoff,E. Isolation and properties of intermediates in prostaglandin biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 326:448-461, 1973.
- O'Brien, J.R.. Platelet aggregation : Part I. Some effects of the adenosine phosphates,thrombin, and cocaine upon platelet aggregation. *J Clin Path.*15(5) :446-452, 1962.
- O'Brien, J.R.Some effects of adrenaline and anti-adrenaline compounds on platelets in vitro and in vivo. *Nature* 200: 763-764, 1963.
- O'Brien, JR; Oxon,DM; Path,FC. Effects of salicylates on human platelets. *Lancet* i: 779-783, 1968.
- O'Neill, W.W., Serruys, P., Knudtson,M. et al. Long Term treatment with a platelet glycoprotein-receptor antagonist after percutaneous coronary revascularization. EXCITE trial investigators. Evaluation of oral Xemilofiban in controlling thrombotic events. *N. Engl. J. Med.* 342:1316-1324, 2000.
- Pérez-Gómez,F.; Alegría,E.; Berjón,J. et al. For the NASPEAF investigators. Comparative effects of antiplatelet, anticoagulant, or combined therapy in patients with valvular and non-valvular atrial fibrillation. *J.Am.Coll.Cardiol.*, 44:1557-1566, 2004.
- Phillips D.R.; Charo,I.F.; Parise,L.V. et al. The platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa complex. *Blood*, 71 :831-843, 1988.
- Phillips D.R. ; Charo, I.F., Scarborough,R.M. GpIIb/IIIa : the responsive integrin. *Cell*, 65:359-362, 1991.
- Piero Anversa. Methods and compositions for the repair and/or regeneration of damaged myocardium. US Patent Pub.No: US 2003/0054973 A1. March 20, 2003.
- Piper,PJ; Vane, JR. Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by antiinflammatory drugs. *Nature*, 223:29-35, 1969.
- Rees,D.D.; Moncada,S. Nitric Oxide, a clever phylogenic solution to many biological needs (review). *Amersham Life Science*, Issue2:1-5, 1993.



- Ross, R; Glomset, J.A. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*, 180:1332-1339, 1973
- Ross, R.; Glomset, J.A. The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 298:420-425, 1976.
- Ross, R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 340:115-126, 1999.
- Rozman, C.; García San Miguel, J.; Castillo, R.; Domingo-Albós, A. Les púrpuras trombocitopàtiques. *Monografies Mèdiques*, nº 3. Edicions 62; 1970.
- Sánchez de Miguel, L.; Casado, S.; Farré, J. et al. Comparison of in vitro effects of triflusal and acetylsalicylic acid on nitric oxide synthesis by human neutrophils. *Eur. J. Pharmacol.* 343:57-65, 1998.
- Spaet, T.H.; Zucker, M.B. Mechanism of platelet plug formation and role of adenosine diphosphate. *Am. J. Physiol.* 206:1267-1274, 1964.
- Straznicki, I.T.; Zambanini, A.; White, H.D. Ongoing Clinical trials in anti-platelet agents in the management of acute coronary syndromes. *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 7:811-821, 1998.
- Swanger, C. Antiplatelet Agents: The rise of superaspirin? *Scrip Report BS 836*; PJB Publications Ltd, 1997.
- Urbanek, K.; Quaini, F.; Tasca, G. et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(18):10440-10445, 2003.
- Weis, H.J.; Aledort, L.M. Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. *Lancet*, ii: 495-457, 1967.
- Zucker, M.B.; Peterson, J. Inhibition of adenosine diphosphate-induced secondary aggregation and other platelet functions by acetylsalicylic acid ingestion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127(2):547-551, 1968.





