

**LA PLAQUETA
Y LA
ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA**

DISCURSO

Leído en el acto de presentación del académico correspondiente

Ilustre Dr. Julián García Rafanell

Celebrado el día 3 de Junio de 2009

PRESENTACIÓN

A cargo del Académico numerario

Muy Ilustre Dr. Juan Uriach i Marsal

Barcelona

2009

PRESENTACIÓN DEL DR. JULIÁN GARCÍA RAFANELL EN SU INGRESO EN LA “REIAL ACADÈMIA DE FAR- MÀCIA DE CATALUNYA”

**Excelentísimo Señor Presidente,
Muy Ilustres señoras y señores académicos,
Señoras, señores,**

Hoy, este solemne acontecimiento de ingreso del Dr. Julián García Rafanell como Académico Correspondiente en esta “Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya”, representa con mucho uno de los actos que a nivel personal me producen más gozo y satisfacción, al tiempo que me honra desde el punto de vista más íntimo, porque puedo dar testimonio de las grandes cualidades humanas de nuestro recipiendario, y porque estas cualidades indiscutibles, que ha cultivado a lo largo de su vida, complementan y de que manera! su personalidad y evolución científica.

Pronuncio estas palabras con firmeza, porque su trayectoria profesional se ha forjado en el sí de un laboratorio farmacéutico, un laboratorio que ha tenido como punto básico la investigación y donde el Dr. García Rafanell supo captar, reforzar desde el primer día hacia una línea investigadora francamente sólida para esta empresa farmacéutica.

De hecho, és una de las primeras personas que se dedicó con una gran dosis de fe y entusiasmo, también de manera íntegra, a la Bioquímica, realizando innumerables aportaciones en este campo, sin olvidar el cultivo de otras disciplinas y actividades en la firme andadura de su vida profesional.

Su forma de ser, serena, reflexiva, modesta, junto con la meticulosidad y profundidad que lo caracterizan, lo ha convertido en auténtico prototipo y ejemplo en el terreno de la investigación. Como consecuencia de esta manera de ser tan especial, tan suya, se puede entender

que nunca quisiera ofender a nadie, desde ningún ángulo, ni desde el punto de vista humano o científico. Se puede hablar con él de muchas cosas, y siempre dentro la lógica disparidad en este mundo científico nuestro, es capaz de encontrar los puntos necesarios de comunicación y concordancia para seguir avanzando en cualquier tema o iniciativa. En definitiva, que puedo decir con seguridad, que tiene un fuerte carácter positivo.

Julián García Rafanell nació en Barcelona el año 1948 y estudió la carrera de Ciencias Químicas en la Universidad Central, licenciándose con la calificación de sobresaliente. El año 1974 obtuvo el título de Doctor en Ciencias Químicas, en la especialidad de Bioquímica, con la calificación de Sobresaliente “Cum Laude”, bajo la tutela de aquel gran maestro y catedrático, antiguo académico de Farmacia y por todos recordado, el Dr. Fernando Calvet Prats, que creo tuvo una gran influencia en este espíritu bioquímico.

El Dr. Julián García Rafanell fue profesor en la Facultad de Ciencias Químicas precisamente en esta cátedra, durante los años 1970-1973, en la Universidad de Barcelona. El año 1973 entró a trabajar en el Departamento de Farmacología de J. Uriach y Cía., en Barcelona, donde empezó una nueva y larga etapa en su vida, que ya hace 36 años que dura y le auguramos que puedan ser muchos más.

Estos conocimientos universitarios que adquirió de manera firme y brillante, los pudo desarrollar paso a paso y sin precipitación, lo cual tiene mucho mérito porque le permitió realizar un trabajo muy bien hecho. Eran tiempos de penurias, que los que tenemos unos cuantos años recordamos perfectamente, en el sentido que había un déficit notorio de sensibilidad por la investigación, tanto en las propias empresas como en la relación entre estas y la Universidad. Pero él fue uno de los primeros y de los pocos que nunca desfalleció en este sentido. Hay que remarcarlo firmemente: nunca desfalleció en las épocas peores.

García Rafanell es el retrato robot del hombre que vivió esta transformación. Aún más, es justo afirmar que en ningún momento perdió el sentido importantísimo de lo que se podría llegar a avanzar gracias a la investigación, espíritu realmente valioso que aún conserva en la actualidad. Para él, la investigación lo ha sido todo, y además lo ha querido transmitir a todos, a sus compañeros y colegas científicos de la profesión, de manera humilde y modesta, cualidades que le han hecho ganar un gran afecto y autoridad en el difícil y complicado terreno de la investigación en la empresa.

Esta carestía de medios y a veces igualmente falta de pensamiento conceptual, no lo desmotivaban, nunca le hicieron tambalear y él continuaba trabajando con la constancia, determinación y eficacia que siempre le han caracterizado. Presentía ya la globalización y muchas de las revoluciones tecnológicas que se han producido en los diferentes ámbitos sanitarios: pero él lo asimilaba y al mismo tiempo intentaba encontrar la parte práctica, la aplicación, sin caer nunca en el desfallecimiento que los incontables problemas científicos pueden provocar, sobretodo en el enrevesado día a día de la tarea del laboratorio bioquímico.

Se trata de un hombre con una gran capacidad pedagógica, hecho que lo ha llevado a pronunciar numerosas conferencias y disertaciones sobre esta temática, tanto en catalán, castellano como en inglés, en España y en diferentes países de Europa, América y Asia.

Tiene publicados más de 125 trabajos, como primer firmante, junto con su equipo de investigación, tanto en revistas nacionales como extranjeras de máxima categoría, además de numerosas comunicaciones en congresos en España y en el mundo. Todo esto lo ha llevado a conocer, hacerse amigo y colaborar con diversas figuras pioneras en el campo de la bioneurología. Y esto también tiene mérito.

Y para terminar, no quisiera dejar de nombrar a su esposa Rosa, que es química igual que él, siempre a su lado, dándole su soporte incondicional y su ayuda incuestionable, un apoyo absolutamente necesario en todos los aspectos de la vida. Gracias Rosa por todo lo que has hecho. Y también me gustaría citar a sus hijos, Ana, Laura y David, a su madre Isabel, a sus hermanos; pero igualmente es necesario recordar de una manera muy especial a su padre, el inolvidable profesor de Instituto Químico de Sarriá, el Dr. Francisco García Estartús, que con sus conocimientos, su ejemplo y su papel de buen padre, perfectamente plasmado en el libro que les ha legado titulado “*El estado del hombre: mirando hacia dentro*”, supo inculcar de manera honda y sabia a toda la familia una serie de valores indiscutibles. Gracias a todos por vuestra importante participación y soporte en el reconocimiento que hoy se hace al Dr. García Rafanell en esta “Acadèmia de Farmàcia de Catalunya”.

Si se me permite, antes de terminar, quisiera citar unas palabras del escritor, pensador y cineasta, Pier Paolo Passolini, que decía: “Lo mejor de la vida es el presente, el pasado y el futuro”. Frase que se podría aplicar a la vida de nuestro doctor, que ha vivido el mundo bioquímico en el pasado, el presente y también el futuro, que esperemos que sea lo más largo posible.

Por tanto, Sr. Presidente de la Academia, por todo esto que se ha expuesto, creo sinceramente que ahora el Dr. García Rafanell es merecedor del título que se le otorga. Todos juntos deseamos escuchar con fruición su conferencia sobre este tema tan importante y apasionante: “La plaqueta y la enfermedad tromboembólica (1950-2050)”.

Muchas gracias a todos.

ÍNDICE

Introducción	13
La plaqueta y la hemostasia primaria.	14
La plaqueta y la patología tromboembólica.	15
La plaqueta y la inhibición de su metabolismo	18
Dos prostaglandinas esenciales: El tromboxano A2 y la prostaciclina.	19
El sistema de la prostaglandina-sintetasa y la ciclooxigenasa	24
El óxido nítrico (NO).	25
Los receptores GP IIB/IIIA o receptores del fibrinógeno . . .	28
La inflamación en la enfermedad tromboembólica	31
La investigación actual y en las próximas décadas: Estrategias de futuro.	34
El triflusal.	37
Bibliografía	46

**Excelentísimo Señor Presidente,
Muy Ilustres Señoras y Señores Académicos,
Dignísimas Autoridades y Representantes de Instituciones,
Señoras y Señores:**

Es para mí un gran honor y una profunda satisfacción que hoy, en la lectura de este discurso de recepción, se formalice mi ingreso como académico correspondiente en esta noble y reconocida institución de nuestro país que es la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

Quiero agradecer muy sinceramente la distinción que me otorgan los académicos, por tres motivos fundamentales que demuestran el talante abierto y sin prejuicios de esta Real Corporación:

En primer lugar por el hecho de que, a pesar de que mi vida profesional ha estado ligada desde el principio a la investigación farmacológica, mi formación originaria es química y bioquímica. Agradezco, por tanto, que se me acoja en esta Academia con la que pienso colaborar para ofrecer lo mejor de tantos años de dedicación al mundo de la farmacología.

El segundo motivo es que mi trabajo como farmacólogo dedicado a la investigación de nuevos fármacos se ha desarrollado en nuestro país. No soy una de esas personas que han llevado a cabo parte de su labor investigadora en otros países, como EEUU o Inglaterra. En mi juventud, parecía que para conseguir unos hitos profesionales importantes, especialmente en investigación, era condición indispensable pasar unos cuantos años allende nuestras fronteras.

Finalmente, mi actividad investigadora se ha centrado desde siempre en la industria farmacéutica. A pesar del estrecho contacto que he mantenido con el mundo universitario, no soy una persona ligada profesionalmente a la Universidad.

Estos tres motivos hacen que valore de manera especial el reconocimiento que me otorga esta docta casa.

En el capítulo de agradecimientos, querría mencionar en primer lugar a los académicos que presentaron mi candidatura, los muy ilustres doctores Juan Uriach Marsal, Juan Sabater Tobella y Javier Sorni Esteva, y en especial al académico correspondiente Juan Bladé Piqué, amigo y compañero en la profesión, por toda su dedicación para conseguir que progresara mi candidatura.

También quisiera mostrar mi reconocimiento al Dr. Fernando Calvet Prats (q. e. p. d.), catedrático de la Facultad de Química de la Universidad de Barcelona, quien en los años setenta despertó mi interés por la Bioquímica, en una época en la que en nuestro país se iniciaba el desarrollo de esta disciplina y los pioneros, en España y en Europa, tenían sus raíces, como en el caso del Dr. Calvet, en la Química Orgánica, origen de la que hoy es una especialidad autónoma con una gran proyección y relevancia.

No puedo olvidar a mis colaboradores en la investigación farmacológica: técnicos, ayudantes de laboratorio y personal administrativo. Sin su labor constante, callada y profesional no habría podido llevar a término con éxito mi tarea. En particular, el Dr. Manuel Merlos y el Dr. Xavi Bartrolí, dos pilares fundamentales en el transcurso de los muchos años de investigación que hemos recorrido juntos. También al Dr. Xavier Forn, quien me ayudó en mis inicios como farmacólogo.

En la investigación farmacológica de antiplaquetarios, querría hacer mención de tres personas: el Dr. Felipe Sánchez de la Cuesta, que desgraciadamente nos dejó hace ahora tres años en plena actividad profesional. Él era catedrático de Farmacología de la Facultad de Medicina de Málaga y fue hasta 2006 el presidente de la Sociedad Española de Farmacología. También la Dra. Lina Badimón, directora del Institut Català de Ciències Cardiovasculars y persona bien conocida por todos y un referente en el mundo de la investigación cardiovascular en nuestro país y fuera de él. Finalmente, en el ámbito más clínico pero también muy ligado a la investigación, el Dr. Vladimir Hachinski, profesor de Neurología en la Universidad de Western Ontario, en London (Canadá) y actual editor jefe de la revista *Stroke*. De todos ellos he podido aprender y constatar su valía científica compartiendo proyectos en común, pero, lo que es más importante, he podido disfrutar de su calidad humana y su amistad.

Debo hacer una mención especial al que ha sido, en último término, el máximo responsable de mi desarrollo y madurez en la investigación farmacológica y ha permitido mi realización personal como investiga-

dor en la industria farmacéutica: el Dr. Joan Uriach Marsal. Sin su empuje, ilusión por la investigación y estímulo constante, no habría podido llevar a cabo mi tarea como es debido. También quiero hacer mención de las personas que han dado continuidad a la investigación iniciada por el Dr. Uriach, que han sabido mantener la unidad familiar y siempre me han apoyado en mi trabajo y demostrado su aprecio. Me refiero a sus hijos Enrique, Joaquin, Juan y Javier. Así, se ha podido culminar con éxito el descubrimiento y comercialización de nueve entidades químicas nuevas, en seis de las cuales he tenido la suerte de participar, y en especial el triflusal, al que después me referiré con más detalle. Más allá de la relación profesional, es para mí una satisfacción y un honor haber disfrutado y continuar disfrutando de su amistad, consejo y soporte en mi trabajo.

Finalmente, no puedo terminar este capítulo de agradecimientos sin mencionar a mi familia. A mi paciente esposa Rosa, partícipe, como buena compañera y excelente bioquímica, de todas mis preocupaciones y elucubraciones científicas. A mis hijos Anna, Laura y David, siempre a mi lado, formando una familia unida por los lazos del amor. A mi madre Isabel, quien ve ahora con gozo este reconocimiento del mayor de sus siete hijos. De ella hemos recibido el estímulo y los consejos que nos han permitido mantener nuestra autoestima y capacidad para llegar allí donde nos propusiéramos. Y para terminar, a mi padre Francisco García Estartús, que desgraciadamente nos dejó hace ahora tres años. De él creo haber heredado la vocación científica y el ejemplo para llevar a término la investigación mediante constancia, esfuerzo e ilusión, que son cualidades quizás más importantes que la propia inteligencia. Él, como ingeniero químico por el Instituto Químico de Sarriá, profesor de Altos Polímeros de este Instituto y persona ligada también a la industria del plástico, y un referente de ámbito estatal en la investigación y aplicación industrial de estos materiales, se hubiera sentido muy contento si hubiera podido estar hoy aquí; aunque creo que, si no físicamente, sí lo está de alguna forma misteriosa que no comprendemos.

INTRODUCCIÓN

Quisiera, en primer lugar, explicar los motivos que me han conducido a escoger este título en mi discurso de ingreso.

Hasta la mitad del siglo pasado, en la década de los cincuenta, la plaqueta era una gran desconocida en su relación con la enfermedad tromboembólica, y no fue hasta finales de los años sesenta cuando se empezó a vislumbrar esta relación. Desde entonces, el conocimiento del funcionalismo plaquetario, los mecanismos de activación e interacción entre plaquetas y de las plaquetas con su entorno, principalmente el endotelio vascular, han tenido un crecimiento exponencial, especialmente durante la segunda mitad del siglo XX, y hoy quisiera resumir aquí para todos ustedes algunos de los hitos, para mí esenciales, en este desarrollo.

Con el año 2050 quiero significar que, en el inmediato futuro y en las próximas décadas, la complejidad etiopatogénica de la enfermedad tromboembólica hará que la plaqueta sea un elemento relevante, aunque uno entre muchos, en el inicio y progresión de la arteriosclerosis y de sus complicaciones trombóticas. Procuraré resumir algunas estrategias de futuro en este sentido.

La trayectoria de la plaqueta durante la segunda mitad del siglo XX ha transcurrido en paralelo a nuestra propia investigación y a los resultados que hemos conseguido en el campo de la farmacología cardiovascular y, en particular, de los fármacos antiplaquetarios. Desde el comienzo de los años setenta, cuando iniciamos nuestra andadura en esta investigación, la evolución del conocimiento y los hitos que se han ido consiguiendo nos han permitido, de una forma casi diría que providencial y con la dosis de suerte que todo proceso de este tipo necesita, descubrir el fármaco antiplaquetario triflusal y evolucionar en el conocimiento y profundización de todas sus propiedades que, hasta hoy, todavía son objeto de nuevos estudios y opciones terapéuticas de futuro.

Me permitirán, pues, que una parte de mi discurso lo dedique también al descubrimiento y desarrollo de este fármaco tan ligado a la pla-

queta y a la enfermedad tromboembólica, a la que durante más de 30 años le he dedicado buena parte de mi vida profesional y que aún hoy continúa.

LA PLAQUETA Y LA HEMOSTASIA PRIMARIA

Hasta la primera mitad del siglo pasado la plaqueta era una gran desconocida por lo que se refiere a su participación en la génesis y desarrollo de la enfermedad tromboembólica arterial. Se desconocía su riqueza bioquímica y capacidades funcionales, excepto en lo que se supone su participación en la hemostasia primaria y en algunas enfermedades caracterizadas por su déficit cualitativo o cuantitativo que da lugar a diátesis hemorrágicas; como por ejemplo, distintos tipos de púrpuras trombocitopáticas (Rozman,1970).

En condiciones normales, la plaqueta se consideraba como un elemento de defensa del organismo frente a cualquier lesión vascular externa o interna, impidiendo la extravasación excesiva de sangre y, por tanto, la muerte por sangrado. En tales circunstancias, se forma lo que se conoce como tapón hemostático, es decir, un agregado formado básicamente de plaquetas, pero también de otros elementos sanguíneos y fibrina. El fibrinógeno es una proteína soluble circulante de la sangre, que se transforma en fibrina por un proceso natural de activación en circunstancias como la que hemos comentado de la hemostasia primaria. La fibrina, insoluble, actúa como argamasa o cemento que da solidez y consistencia al tapón hemostático.

El tapón hemostático permite la reparación del tejido vascular lesionado, y nuevamente el organismo, con su perfecto equilibrio y capacidad de autorregulación, desarrolla unos mecanismos naturales de protección para destruir la porción intravascular del mismo, una vez se ha reparado la lesión vascular. Es lo que se conoce como fibrinólisis; es decir, el organismo, de manera natural y maravillosa, se encarga de destruir lo que previamente había formado (el tapón hemostático) para restaurar el equilibrio circulatorio dentro del aparato vascular.

Así pues, hasta la primera mitad del siglo pasado esta era la principal, por no decir la única, función fisiológica de las plaquetas. Se desconocía su relevancia en otros procesos fisiopatológicos. El hecho de ser la plaqueta un “elemento forme” de la sangre, es decir que no llega a la categoría de célula, pues no tiene núcleo, y el tener un tamaño muy pe-

queño (2 micras de diámetro) contribuyen a considerarla la “cenicienta” dentro de la complejidad celular y corpuscular de la sangre.

Sabemos que la plaqueta es de un color blanquecino, motivo por el cual hoy también se conoce al trombo arterial, formado esencialmente por plaquetas, como trombo blanco, en contraposición al trombo venoso o trombo rojo, que recibe este nombre debido a la importante participación de los eritrocitos y la hemoglobina. La plaqueta se genera en las grandes células de la médula ósea, los megacariocitos, y se libera al torrente circulatorio, con una vida que dura entre 7 y 10 días y un número que oscila entre 120.000 y 300.000 por milímetro cúbico. Es decir, hay una renovación constante de las plaquetas en nuestro organismo, de manera que el *turnover* o recambio completo del contenido plaquetario de la circulación sanguínea se consigue cada 15 días, aproximadamente (Cazenave, 1981).

La forma de la plaqueta es discoidal, parecida a un botón, o también se la ha identificado con un objeto que en nuestra juventud se bautizó por primera vez como OVNI (objeto volador no identificado). No está mal esta comparación. Entonces poco se conocía del interior de la plaqueta y de los OVNI. Hoy, de los OVNI continuamos sin saber nada, pero el conocimiento sobre la plaqueta y su riqueza bioquímica ha tenido un crecimiento espectacular en los últimos 50 años.

LA PLAQUETA Y LA PATOLOGÍA TROMBOEMBÓLICA

El concepto de que la plaqueta ya no es únicamente un elemento forme de la sangre, con la simple y exclusiva función hemostática, se comienza a dibujar a principios de los años sesenta. En este sentido, uno de los trabajos pioneros que pone de manifiesto que la plaqueta es un actor importante en la patología trombótica, y que debido a su agregación puede ser causa inmediata de trombosis, se debe a Gustav Victor Rudolf Born, quién en el año 1962 publicó en *Nature* un trabajo en el que se describe por primera vez la tecnología para medir la agregación plaquetaria, y en el que se dice lo siguiente: “Patológicamente, la agregación de las plaquetas es una causa inmediata de trombosis”. Es decir, se pone ya de manifiesto la importante contribución de la plaqueta en la patología trombótica y también la importante participación del ADP en el proceso de la agregación plaquetaria, tanto en la formación del tapón hemostático como en la formación del trombo. El ADP se libera de los vasos sanguíneos lesionados por transformación masiva del ATP.

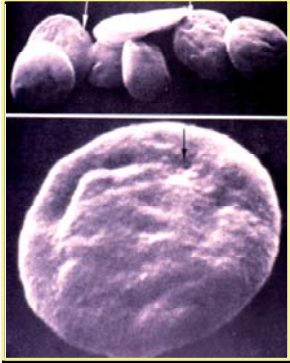
Born describió la tecnología y también desarrolló el aparato conocido como agregómetro de Born, para poder medir en el laboratorio la capacidad de agregación de las plaquetas y, de esta manera, poder también investigar fármacos inhibidores de dicha agregación. En la década de los sesenta ya se empezaba a considerar como un campo de investigación con un futuro prometedor, como veremos más adelante.

El aparato de Born, muy simple y que ya utilizamos en nuestras primeras investigaciones en los años setenta, incorpora un método fotométrico con luz blanca para medir el paso de luz a través de una suspensión de plasma rico en plaquetas. Paso de luz que es inversamente proporcional a la turbidez de la suspensión y que se incrementa de manera proporcional a la agregación plaquetaria, debido a que esta agregación disminuye la turbidez y permite un mayor paso de luz. El mayor o menor paso de luz se transforma en señal eléctrica y este cambio, finalmente, se refleja en un registro gráfico en forma de curva de agregación. En la medida en que un fármaco es capaz de inhibir esta agregación, la turbidez de la suspensión plaquetaria disminuye menos, el paso de luz es menor y esto se refleja en una curva de agregación más pequeña (inhibida) respecto a los controles sin fármaco.

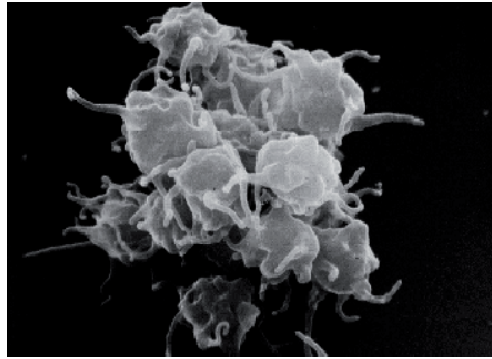
Con esta sencilla tecnología se pudo empezar a valorar en el laboratorio el fenómeno de la agregación de las plaquetas y el potencial antiplaquetario de posibles fármacos. A pesar de la sofisticación y mayores prestaciones de los aparatos actuales, la tecnología en la que se basan es, en esencia, la misma que diseñó Born.

El descubrimiento por parte de Born del método óptico para medir la agregación plaquetaria, y el descubrimiento de la importancia del ADP en la inducción de la agregación, le permitió observar, además, un fenómeno muy importante: la plaqueta, ante un estímulo inductor de la agregación, aumenta su volumen en un 30%, y de la forma discoidal pasa a la esférica; la densidad óptica, que se mide con el agregómetro, aumenta como paso previo a una disminución, fruto de la subsiguiente agregación plaquetaria.

Estos descubrimientos pioneros de Born fueron el preludio de una fecunda investigación que permitió poner de manifiesto que la plaqueta ya no es un simple “elemento forme” de la sangre, sino un corpúsculo con una rica actividad bioquímica en su interior, y que a poco que se la estimule actúa como un “castillo de fuegos artificiales”, liberando diferentes mediadores que van a resultar decisivos en la trombosis.



Plaquetas humanas no activadas. Forma discoidal. Flecha: orificios del sistema canicular abierto que



Plaquetas humanas activadas. Forma esférica. Emisión de seudópodos. Fase inicial de agregación

Figura 1.

Es por su contribución tecnológica a la determinación de la agregación plaquetaria y su inhibición, y lo que es más importante desde mi punto de vista, por la introducción del concepto de que la plaqueta juega un papel importante en la etiopatogenia de la trombosis, por lo que creo que Born se merecería un mayor reconocimiento.

Born nació en Göttingen (Alemania) el año 1921, hijo de un físico famoso, Max Born, que recibió el premio Nobel de Física en 1954 y tuvo que emigrar a Inglaterra el año 1933 forzado por la Alemania nazi, dada su condición de judío. Su hijo Gustav Victor Rudolf Born, por tanto, desarrolló su carrera en Inglaterra como farmacólogo experto en la plaqueta y las enfermedades cardiovasculares. Hoy es profesor emérito de Farmacología en el King's College de Londres y, por lo menos hasta hace poco, desarrollaba su labor como profesor investigador en el William Harvey Institute de Londres. Born, que tiene un gran sentido del humor, decía que toda su vida ha sido el hijo de un famoso científico (su padre) y después se ha convertido en el tío de una famosa actriz, Olivia Newton John, a quien todos recordamos por su papel en la película *Grease* (Gustav R.V. Born, 2002). Quizás por esto no ha recibido todo el reconocimiento que se merecía, y yo quisiera hoy dejar constancia de ello por su gran valía científica y su importante contribución al conocimiento de la patofisiología plaquetaria y su relación con la enfermedad tromboembólica.

LA PLAQUETA Y LA INHIBICIÓN DE SU METABOLISMO

Born y otros, como Grette (1962), Zucker (1964) y O'Brien (1962,1963) a principios de los sesenta, pusieron de manifiesto que la plaqueta se activa y se agrega por agentes inductores como el ADP, la adrenalina y el colágeno. Como consecuencia de estos estímulos se produce una activación metabólica, un cambio morfológico y una liberación de sustancias intraplaquetarias, entre ellas también el ADP, que contribuyen a esta agregación. Estos descubrimientos fueron esenciales para los acontecimientos o hitos de la segunda mitad de los años sesenta.

En este sentido es fundamental el trabajo publicado en el año 1968 en *Lancet* por J.R. O'Brien en el que, recogiendo experiencias previas de Zucker y Peterson (1968), Weis (1967), Evans (1967) y Gast (1964), estudia con detalle y pone de manifiesto el efecto inhibitor de los salicilatos, y particularmente de la aspirina, sobre las plaquetas humanas, alterando su metabolismo.

En una primera parte de este estudio, se incluyeron 4 voluntarios sanos que tomaron una dosis inicial de 1,3 gramos de aspirina seguido de 1 gramo 10 horas después. A continuación, se midió la agregación inducida por ADP, adrenalina, colágeno, trombina, serotonina y bolas de vidrio. Se utilizó plasma rico en plaquetas obtenido de muestras de sangre de estos voluntarios.

Más tarde, la confirmación de los efectos de la aspirina se consiguió en un total de 22 miembros del propio laboratorio de O'Brien con edades entre 18 y 52 años.

Los resultados de este estudio permitieron sugerir por primera vez que la aspirina altera el metabolismo plaquetario de una manera específica y que este efecto no tiene solo un interés académico sino también terapéutico, pues la aspirina podría alterar el curso de la trombosis. O'Brien recomienda que se lleve a término un ensayo clínico para determinar su efecto en pacientes con riesgo trombótico.

Es importante, pues, que tengamos presente esta secuencia de acontecimientos clave para comprender la evolución del conocimiento del funcionalismo plaquetario y de su participación en el fenómeno trombótico:

1. Década de los cincuenta: prácticamente la plaqueta se considera relevante solo en su participación en la hemostasia primaria.

2. Primera mitad de la década de los sesenta: se empieza a demostrar la complejidad funcional de la plaqueta y su posible participación en la trombosis. Se comienza a estudiar y a medir con más detalle el fenómeno de la agregación plaquetaria
3. Segunda mitad de la década de los sesenta: se empieza a entrever que, incidiendo sobre el metabolismo y funcionalismo plaquetario, se podría actuar con eficacia en enfermos con riesgo trombótico

Este estado del conocimiento adquiere un empuje extraordinario como consecuencia del descubrimiento, en la década de los setenta, de dos prostaglandinas fundamentales: el tromboxano A₂ y la prostaciclina.

La plaqueta deja de ser la “cenicienta” entre los elementos corpusculares y celulares sanguíneos para convertirse en actor fundamental. Se pone de manifiesto su complejidad metabólica y riqueza bioquímica, fundamentales en la interacción plaqueta-plaqueta, en la interacción plaqueta con otros elementos sanguíneos, particularmente los eritrocitos, y sobre todo en la interacción plaqueta-endotelio. Hay un gran aumento de estudios en este sentido que hoy todavía perdura pero que tiene, para mí, su máximo exponente durante las décadas de los ochenta y noventa.

DOS PROSTAGLANDINAS ESENCIALES: EL TROMBOXANO A₂ Y LA PROSTACICLINA

El descubrimiento de estas dos prostaglandinas, con poco tiempo de diferencia, primero el tromboxano A₂ (TxA₂) el año 1975 y después la prostaciclina (PGI₂) el año 1976, marcan un antes y un después en el conocimiento del funcionalismo plaquetario y su interacción con el endotelio vascular y participación en los procesos trombóticos de origen arterial.

El tromboxano A₂

El año 1969, en un trabajo publicado en *Nature*, Piper y Vane detectaron una sustancia que se producía en un proceso de anafilaxia en pulmones aislados de cobayas sensibilizados, con la singularidad de tener una potente capacidad de contraer la aorta de conejo y también el músculo liso de otras procedencias, como el tracto gastrointestinal

y la tráquea. Por esto la denominaron RCS (*rabitt aorta contracting substance*). Comprobaron que era de naturaleza inestable (vida media de menos de 2 minutos a temperatura ambiente) y que su liberación se podía inhibir por sustancias como la aspirina. Pero no fueron más lejos en este primer trabajo.

No fue hasta unos años después, en concreto en 1975, cuando el equipo de Samuelsson, del Karolinska Institut de Estocolmo, demostró que en plaquetas humanas unas prostaglandinas inestables denominadas PGG2 y PGH2 eran capaces de transformarse en una sustancia lábil con una gran capacidad de contraer la musculatura lisa vascular y también con una gran capacidad para agregar las plaquetas. La identificaron estructuralmente y la caracterizaron y, debido a su potente capacidad de agregar las plaquetas y a su estructura química, la denominaron tromboxano A2. Demostraron que se producía en las plaquetas y se liberaba de ellas contribuyendo a la agregación de unas con las otras. Este potente intermedio se transformaba en tromboxano B2, que era estable pero inactivo desde el punto de vista farmacológico. El mismo equipo, un año antes, había ya identificado una sustancia estable que denominaron PHD y que se producía en las plaquetas humanas como consecuencia del metabolismo del ácido araquidónico (Hamberg, 1974). Ahora se comprobaba que PHD era, concretamente, el tromboxano B2.

Ya se sabía, por otra parte, que el ácido araquidónico era una sustancia de naturaleza lipídica, precursora de estas y otras prostaglandinas, y que se obtenía por metabolización de los fosfolípidos de la membrana celular por acción de la fosfolipasa A2.

Lo más importante es que se pudo concluir que el tromboxano A2 descubierto por el equipo de Samuelsson era básicamente la sustancia RCS que Piper y Vane habían observado, pero no identificado y caracterizado estructuralmente, el año 1969.

Un año después del descubrimiento del tromboxano A2, en 1976, Hamberg y Samuelsson, en colaboración con Needleman, Moncada, Bunting y Vane, de Wellcome Research Laboratories, en Inglaterra, publican en *Nature* un trabajo donde identifican, en microsomas de plaquetas de caballo y de plaquetas humanas, la enzima que transformaba los endoperóxidos PGG2 y PGH2 en tromboxano A2, a la cual se dio el nombre de tromboxano-sintetasa.

El mecanismo por el cual el tromboxano A2 produce su acción proagregante plaquetaria y su acción vasoconstrictora es esencial-

mente el mismo. En la plaqueta, el tromboxano A2 tiene la capacidad de formar un complejo con el calcio, movilizándolo desde sus reservorios plaquetarios hasta la membrana. El calcio actúa sobre la estructura trilaminar de la membrana y contribuye a la reacción de contracción de la plaqueta (cambio de forma, emisión de pseudópodos) y a la subsiguiente reacción de liberación de las sustancias proagregantes intraplaquetarias. El mismo mecanismo se observa en el endotelio vascular por acción del tromboxano liberado de las plaquetas, que producirá el efecto vasoconstrictor por contracción de la mem-

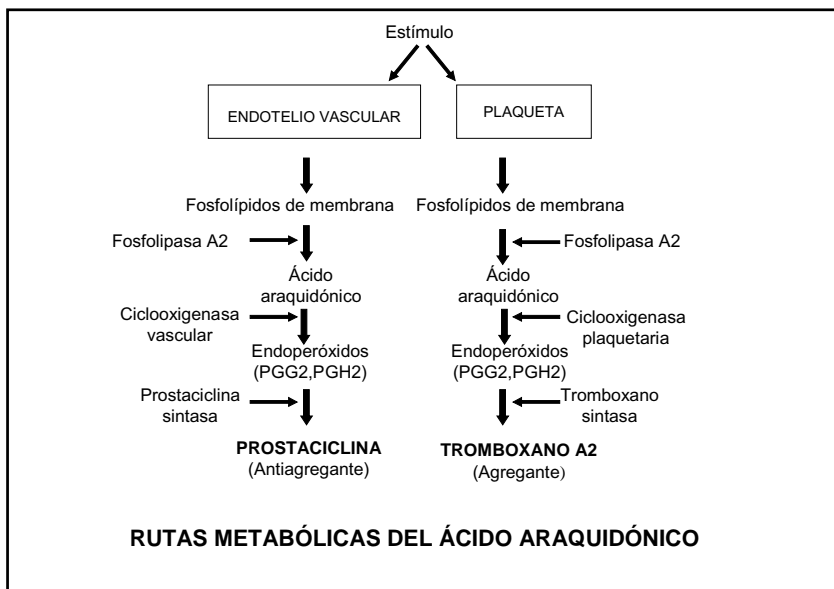


Figura 2.

La prostaciclina (PGI2)

Casi simultáneamente al descubrimiento del tromboxano A2, el año 1976, Moncada, Gryglewski, Bunting y Vane, publican en *Nature* un trabajo donde demuestran por primera vez que una enzima presente en microsomas de aortas de cerdo y de conejo es capaz de transformar los endoperóxidos PGG2 y PGH2 en una sustancia inestable con una potente acción inhibitoria de la agregación plaquetaria, y también con una potente acción relajante de la musculatura lisa de los vasos.

Ellos denominan a esta sustancia PGX, y el mismo equipo, poco tiempo después, la identifica estructuralmente y le dan el nombre de prostaciclina. La abreviatura PGX finalmente se transforma en PGI₂, tal como hoy también se conoce a esta prostaglandina.

La enzima responsable de transformar los endoperóxidos en prostaciclina se conocerá como prostaciclina-sintetasa.

El descubrimiento los años 1975 y 1976 del tromboxano A₂ y de la prostaciclina, y la identificación de las respectivas enzimas responsables de su síntesis: la tromboxano-sintetasa y la prostaciclina-sintetasa, resultó fundamental para el conocimiento a fondo de la interacción plaqueta-plaqueta y plaqueta-endotelio, y dio lugar a un desarrollo extraordinario en el conocimiento del funcionalismo plaquetario, que en la década de los ochenta y noventa ha tenido un crecimiento exponencial.

Para mí es realmente maravilloso cómo la naturaleza, en un equilibrio perfecto, es capaz, en la plaqueta, de transformar por acción de la tromboxano-sintetasa, los endoperóxidos PGG₂ y PGH₂ en tromboxano A₂, con una potente actividad agregante plaquetaria y vasoconstrictora y, en cambio, en el endotelio, los mismos endoperóxidos se transforman por acción de la prostaciclina-sintetasa en prostaciclina (PGI₂), con una potente actividad antiagregante plaquetaria y vasodilatadora. Es decir, opuesto completamente a la acción del tromboxano A₂. Además, en la plaqueta no hay prostaciclina-sintetasa, y en el endotelio no hay tromboxano-sintetasa.

Evidentemente, por lo que se refiere a su relación con la enfermedad tromboembólica, no podemos reducir el funcionalismo plaquetario y su interacción con el endotelio a estos dos procesos metabólicos. Es mucho más compleja. No nos podemos extender, pero si decir que, desde su descubrimiento hasta hoy, estas vías metabólicas continúan vigentes y han permitido explicar en gran manera la participación de la plaqueta en los procesos trombóticos, particularmente los de naturaleza arterial, y profundizar en el mecanismo de actuación de antiagregantes plaquetarios como la aspirina y el triflusal.

De una manera simple, pero comprensible, se considera que en condiciones normales, es decir fisiológicas, hay un equilibrio perfecto entre la síntesis de tromboxano A₂ por la plaqueta y la de prostaciclina por el endotelio, que equilibran mutuamente sus acciones, impidiendo que la plaqueta se adhiera al endotelio sano. La acción proagregante y vasoconstrictora de uno, se balancea con la acción antiagregante y

vasodilatadora del otro. Cuando, por circunstancias diversas, este equilibrio se rompe debido a una activación plaquetaria (síntesis aumentada de tromboxano A2) o se lesiona el endotelio (síntesis de prostaciclina comprometida) y las estructuras subendoteliales (particularmente las microfibrillas de colágeno) se ponen en contacto con la plaqueta y la activan, se dan las condiciones óptimas para el inicio del proceso trombótico arterial.

Tanto en la plaqueta como en el endotelio, estos procesos metabólicos se inician con el ácido araquidónico (un precursor de las prostaglandinas que se produce por la acción de la fosfolipasa A2 sobre los fosfolípidos de membrana).

El mecanismo por el cual la prostaciclina produce su acción en la plaqueta, inhibiendo su agregación, y en el vaso, produciendo vasodilatación, es esencialmente el mismo. Se ha demostrado que la prostaciclina es un potente activador de la enzima adenil-ciclasa. La adenil-ciclasa transforma el ATP en AMPc y, por tanto, una activación de esta enzima se traducirá en la plaqueta en un aumento importante de las concentraciones intraplaquetarias de AMPc. Un aumento intraplaquetario de AMPc producirá, por su parte, un efecto inhibitorio de la movilización del calcio, que permanecerá así almacenado en sus reservorios plaquetarios y no podrá actuar en la membrana, por lo que no se podrá producir la activación de la plaqueta (cambio de forma discoidal a esférica, emisión de pseudópodos y consiguiente reacción de liberación de sustancias intraplaquetarias proagregantes). El mismo mecanismo en la célula endotelial del vaso producirá un efecto vasodilatador, al no poder actuar el calcio en el mantenimiento del tono vascular.

Por sus importantes contribuciones a la investigación en el campo de las prostaglandinas y, en concreto, por el trascendental descubrimiento de la prostaciclina el año 1976, al profesor John R. Vane, director entonces del Centro de Investigación de la Wellcome en Inglaterra, se le concedió el premio Nobel de Medicina en 1982. Quisiera mencionar aquí que este premio, en mi opinión, debería incluir un segundo nombre: el del profesor Salvador Moncada, que nació en Honduras, pero se formó científicamente en Inglaterra y fue un estrecho colaborador del profesor Vane, contribuyendo de manera decisiva al descubrimiento de la prostaciclina.

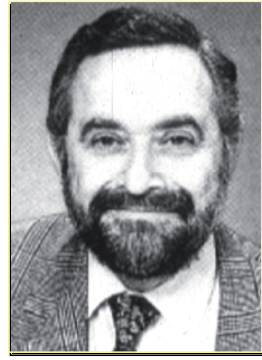
Más adelante veremos cómo Salvador Moncada quedó también excluido injustamente del premio Nobel de Medicina del año 1988 por el descubrimiento del óxido nítrico.



Gustav V. R. Born



John R. Vane



Salvador Moncada

Figura 3.

Diversas personas, dentro de la misma comunidad científica, consideraron que cuestiones políticas, más que científicas (quizás el origen hispanoamericano del Dr. Moncada), tuvieron su peso en contra ante la hegemonía e influencia de los países anglosajones (Aguirre de Cárcer, 1998). Yo, que conozco al Dr. Moncada y he hablado con él de este tema, participo también de esta opinión.

EL SISTEMA DE LA PROSTAGLANDINA-SINTETASA Y LA CICLOOXIGENASA

Justo unos años antes del descubrimiento del tromboxano A₂ y de la prostaciclina, es decir en la década de los sesenta e inicios de los setenta, no se conocían en detalle las enzimas involucradas en la cascada metabólica del ácido araquidónico, y se hablaba del sistema de la prostaglandina-sintetasa en general, como un sistema enzimático único en el proceso de biosíntesis de las prostaglandinas, sin precisar más detalles.

En el año 1973 el grupo de Samuelsson publica un estudio en el que se detectan los endoperóxidos PGG₂ y PGH₂. Este descubrimiento permite sugerir que la vía de la biosíntesis de las prostaglandinas a partir del ácido araquidónico tiene que ser objeto de la participación de más de una enzima. En efecto, el mismo grupo publica, un año después, en 1974, la evidencia de que la transformación del ácido araquidónico en

endoperóxidos se cataliza por la acción de una enzima a la que se le da el nombre de ciclooxigenasa (COX).

Hoy se conocen tres isoenzimas de esta enzima, dependiendo de su ubicación: COX1, COX2 y COX3, que catalizan el mismo proceso metabólico pero con propiedades y características fisicoquímicas diferentes.

Estos descubrimientos permitirán avanzar en el conocimiento de la cascada bioquímica del metabolismo del ácido araquidónico con la identificación, en 1975 y 1976, de las enzimas tromboxano-sintetasa y prostaciclina-sintetasa, por los grupos de Samuelsson y Vane, simultáneamente al descubrimiento del tromboxano A2 y de la prostaciclina, respectivamente.

Todos estos descubrimientos serán fundamentales para explicar la génesis de los procesos trombóticos y el mecanismo de actuación de fármacos antiplaquetarios como la aspirina y el triflusal.

EL ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Otro hito importante para la comprensión y el conocimiento de la interacción de la plaqueta con el endotelio y su relación con la enfermedad tromboembólica, así como para el diseño de fármacos capaces de inhibir estos procesos, ha sido el descubrimiento del óxido nítrico (NO).

Trabajando de manera independiente pero complementaria, en 1986 tres investigadores americanos, Furchgott, Murad e Ignarro, llegaron a la conclusión de que la sustancia desconocida, que en 1978 Furchgott había bautizado como EDRF (*Endothelial Derived Relaxing Factor*) sin conocer su estructura, era un gas, y que este gas era el NO, que antes se consideraba simplemente como un contaminante atmosférico.

Como ha ocurrido con otros importantes descubrimientos en el mundo de la investigación biomédica, se puede decir que el descubrimiento del EDRF fue un caso de *serendipity* (sagacidad y azar), pues un técnico del laboratorio del profesor Furchgott, por una equivocación en el protocolo que le había marcado su maestro, comprobó que la acetilcolina producía *in vitro* la relajación de una preparación de aorta torácica de rata, pero que esto solo se observaba cuando el endotelio de la preparación estaba intacto y no se había lesionado. Se comprobó que los receptores muscarínicos intactos del endotelio, al activarse por

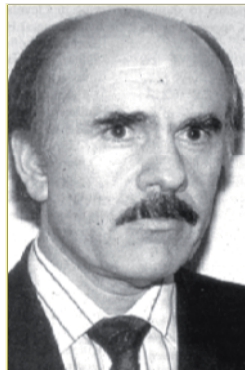
la acetilcolina liberaban un factor relajante que bautizaron como EDRF (García, 1998). Los resultados de este descubrimiento se publicaron en *Nature* en julio de 1980, no sin dificultades editoriales, al considerar los revisores que los experimentos de Furchgott eran heterodoxos y anecdóticos. Como comentaré más adelante, también en el descubrimiento de triflusal, en nuestras investigaciones de hace más de 30 años, se puede hablar de un caso interesante de *serendipity*.

El año 1992 la revista *Science* nombró el NO como la “molécula del año”, a pesar de ser una de las 10 moléculas más pequeñas conocidas, y en 1998 Furchgott, Murad e Ignarro recibieron el premio Nobel de Medicina por este importante descubrimiento. Este mismo año, la revista *Circulation* (1998) se hacía eco del hecho controvertido y extraño de que el Dr. Salvador Moncada, entonces profesor en el University College de Londres, fuera excluido del premio. Se considera que el primer trabajo que afirmaba que el EDRF era el NO y que este se obtenía a partir del aminoácido L-arginina por acción de la enzima NO-sintasa, lo publicó Moncada en julio de 1987. Sin embargo, no fue hasta diciembre del mismo año cuando Ignarro, uno de los tres premios Nobel antes mencionados, publicó lo mismo.

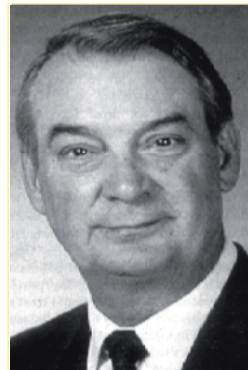
Creo que es justo hacer referencia al Dr. Salvador Moncada por su importante contribución al descubrimiento y función de dos importantes sustancias en el área cardiovascular: la prostaciclina y el óxido nítrico, y el reconocimiento que tuvo, al menos en nuestro país, al concederle el premio Príncipe de Asturias de Investigación Científica y Técnica en el año 1990.



Robert F. Furchgott



Louis J. Ignarro



Ferid Murad

Figura 4.

Esta molécula, con una potente actividad vasodilatadora, antiadhesiva y antiagregante plaquetaria, ha demostrado que juega un papel fundamental en la homeostasis sanguínea, manteniendo el tono vascular que es esencial para la regulación de la presión arterial (Colasanti, 2000).

También en el sistema nervioso central el NO se ha mostrado como un neurotransmisor que puede tener un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria, así como en la regulación de diferentes funciones de los sistemas respiratorio, gastrointestinal y genitourinario.

Por lo que se refiere a la relación con la plaqueta y la enfermedad tromboembólica, se ha demostrado que el NO que se libera del endotelio y de células sanguíneas como los neutrófilos, es capaz de interactuar con la plaqueta produciendo un incremento de los niveles de GMPc por activación de la enzima guanilato-ciclasa. Este incremento intraplaquetario de GMPc se traduce en una inhibición de la movilización del calcio intraplaquetario y, como consecuencia, en una inhibición de la agregación plaquetaria. También el NO liberado del endotelio, actuando de la misma manera que en la plaqueta, activa la guanilato-ciclasa de las células musculares lisas del vaso e incrementa los niveles de GMPc, que por inhibición de la movilización del calcio producirá, por defecto, una acción vasodilatadora.

El descubrimiento de la acción vasodilatadora del NO proporcionó una explicación del mecanismo de acción de fármacos que ya se utilizaban para el tratamiento de la angina y de la hipertensión en situaciones de emergencia, y que conocemos como “nitrovasodilatadores”, algunos de los cuales, como la nitroglicerina y el nitroprusiato sódico, se habían utilizado durante décadas (Rees, 1993).

El descubrimiento del NO y sus propiedades antiagregantes y vasodilatadoras ha estimulado la investigación de nuevos fármacos que se identifican con el nombre genérico de “dadores de NO”, de los que aún no tenemos ninguno en el mercado, aunque algunos están en fases clínicas avanzadas. Entre los fármacos que se han investigado o se están investigando como portadores de NO y capaces de liberar NO en la diana adecuada, podemos nombrar a la aspirina y a otros antiinflamatorios no esteroideos como el naproxeno. A pesar de la importancia reconocida de este gran descubrimiento, que hoy continúa teniendo plena vigencia, creemos que aún no se ha llegado a obtener todo el provecho clínico y terapéutico que sería deseable.

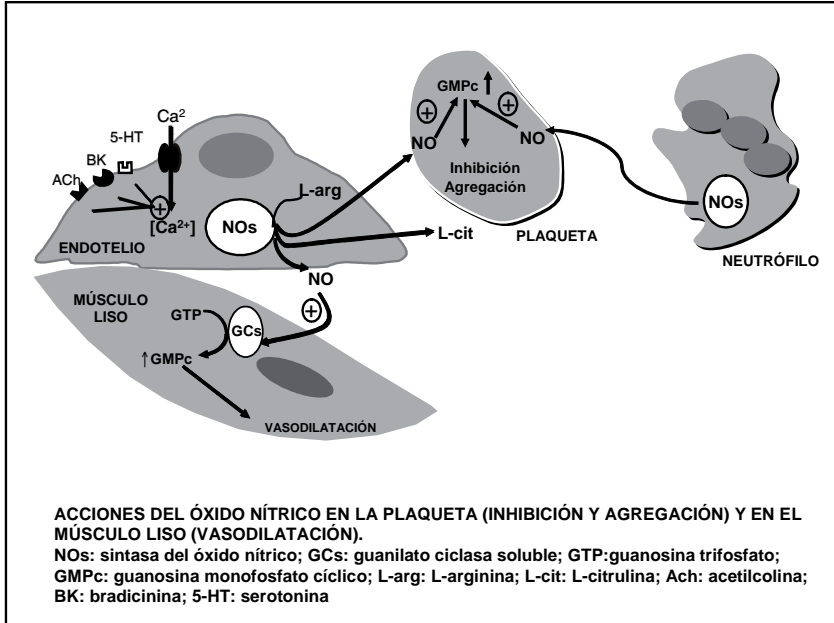


Figura 5.

LOS RECEPTORES GP IIB/IIIA O RECEPTORES DEL FIBRINÓGENO

En este repaso de los hitos importantes plaqueta-enfermedad tromboembólica a lo largo del tiempo, es obligado mencionar la identificación, por Phillips y su equipo, del receptor GP IIB/IIIA de la membrana plaquetaria como el principal mediador en la agregación de las plaquetas, en un excelente artículo de revisión publicado en 1988 en *Blood*. Sin embargo, unos años antes, Collier y colaboradores, en 1983, obtuvieron un anticuerpo monoclonal murino que bloqueaba la unión del fibrinógeno a las plaquetas, y ya sugirieron que el punto de unión era, muy probablemente, la glicoproteína GPIIb/IIIA.

Esta glicoproteína, también conocida como receptor del fibrinógeno, pertenece a la familia de las moléculas de adhesión llamadas integrinas, que solo se encuentran en la plaqueta y se distribuyen al azar en la membrana en un número de entre 50.000 y 100.000 (Philips, 1988,1991).

Hoy conocemos la existencia de numerosos receptores de membrana que en la interacción con los respectivos mediadores (adrenalina, ADP,

trombina, PAF, colágeno, tromboxano...) participan de manera relevante en el proceso de activación de la plaqueta y la posterior agregación de unas con otras, que acabará produciendo un trombo irreversible.

Dentro de esta serie de receptores plaquetarios, los GPIIb/IIIa se consideran de una especial importancia, pues se ha comprobado que su activación y unión al fibrinógeno es la vía final común en el proceso de la agregación plaquetaria. Es decir que, sea cual sea el estímulo plaquetario, todas las vías acaban por producir la activación de los GPIIb/IIIa, que en condiciones normales, fisiológicas, de la plaqueta, permanecen inactivos (forma cimógena). Cuando se activan, el fibrinógeno se une a estos receptores y hace de puente en la agregación de unas plaquetas con las otras, contribuyendo de una manera decisiva al inicio y desarrollo del proceso trombótico.

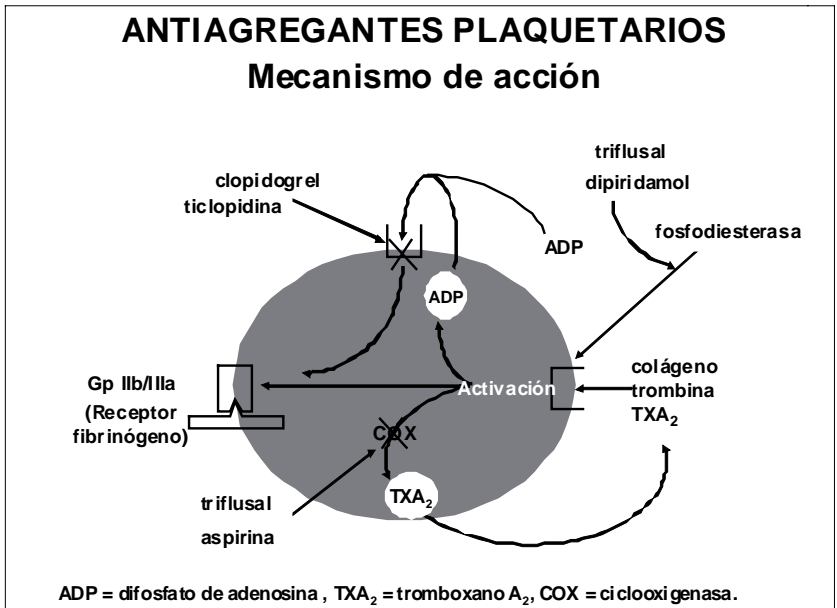


Figura 6.

La importancia de estos receptores en la activación plaquetaria y en la formación del trombo arterial ha estimulado una investigación muy activa, particularmente durante la década de los noventa, para encontrar fármacos capaces de antagonizarlos. Son los antagonistas del receptor del fibrinógeno.

Se intuía que, dada la contribución estratégica de estos receptores en el proceso de activación plaquetaria, un fármaco capaz de inhibirlos eficazmente podría tener una importancia terapéutica de primer orden.

Esto ha sido así solo parcialmente. En efecto, la investigación farmacológica en este terreno durante las últimas décadas dio lugar a una familia de fármacos muy potentes, obtenidos por ingeniería genética, como el abciximab (anticuerpo monoclonal), o de naturaleza peptídica como el tirofiban o el eptifibatide. Se empezó a popularizar para ellos el nombre de “superaspirinas” (Swainger, 1997). Todos tenían en común su gran potencia antiplaquetaria y, en consecuencia, un importante riesgo hemorrágico, pero, sobre todo, que solo eran activos por vía endovenosa. Esto ha provocado que su utilización se haya limitado a los hospitales, en situaciones de alto riesgo trombotico, especialmente en el preoperatorio de cirugía cardíaca mayor, obligando a establecer un control estricto del grave riesgo hemorrágico que han demostrado.

Por esto la investigación farmacológica se orientó a la obtención de moléculas de síntesis química, con un peso molecular más pequeño, que fueran activas por vía oral. El esfuerzo, sin embargo, no ha dado los frutos que se esperaban, y fármacos que hace unos años crearon fuertes expectativas, como por ejemplo el orbofiban (Cannon, 2000) y el xemilofiban (O’Neill, 2000), o el sibrafiban, fracasaron en los estudios clínicos pivotaes con miles de enfermos (OPUS/TIMI-16, EXCITE y SYMPHONY, respectivamente). No se consiguió la potente actividad que se buscaba, ni reducir el riesgo hemorrágico de los fármacos por vía endovenosa. En algunos casos, incluso, parecía que se obtenían resultados opuestos a los esperados.

Probablemente, la compleja naturaleza proteica de este receptor no permite que moléculas pequeñas peptídicas puedan producir una inhibición lo suficientemente eficaz. No se obtiene una inhibición irreversible, y se pueden inducir cambios conformacionales en el receptor más perjudiciales que beneficiosos.

Cuando en el año 2000 se publicaron los resultados negativos de los principales estudios con estos fármacos, la investigación se paró, y hoy, lo que se pensaba sería un prometedor campo de investigación para obtener la “superaspirina”, ha quedado reducido a los fármacos por vía endovenosa con las limitaciones que ya hemos comentado. Al final, hemos de reconocer lo difícil que es superar a este fármaco centenario, la aspirina.

De todas maneras, sí que consideramos primordial, dentro de la secuencia de hechos clave, el descubrimiento, en 1988, de la importancia

de estos receptores específicos de la membrana plaquetaria, como el último y fundamental eslabón en el proceso de activación de la plaqueta, sea cual sea el inductor inicial.

LA INFLAMACIÓN EN LA ENFERMEDAD TROMBO-EMBÓLICA

Hasta ahora hemos centrado la atención en la plaqueta, en el conocimiento creciente de los procesos bioquímicos involucrados en su activación y en su interacción con el endotelio.

Continuando con esta mirada a través del tiempo, introducimos ahora el concepto de la inflamación y la importancia que tiene a nivel vascular en el desarrollo de la enfermedad arteriosclerótica; enfermedad que está estrechamente ligada con la enfermedad tromboembólica, por el elevado riesgo trombótico que conlleva.

En la inflamación vascular, la plaqueta también juega un papel importante, pero se empezarán a introducir otros conocimientos que nos abrirán nuevos horizontes. La plaqueta activada y en su interacción con el endotelio ya no será el único actor o, al menos, el único actor importante.

Debemos a Russell Ross, en sus trabajos de investigación y de síntesis del conocimiento en este campo, la introducción de un concepto que se ha ido consolidando en los últimos años: que la arteriosclerosis es una enfermedad inflamatoria.

Este investigador, ya en el año 1963 en la revista *Science* y, más tarde, en un artículo de revisión publicado en 1976 en *New England Journal of Medicine*, empieza a poner de manifiesto la importancia que tiene, en la patogénesis de la arteriosclerosis, la lesión del endotelio vascular y los procesos subsiguientes de proliferación de las células musculares lisas de la íntima, y el engrosamiento y formación de nuevo tejido conectivo. En este artículo se otorgaba un papel relevante a la lesión del endotelio y a la interacción de las plaquetas con las estructuras subendoteliales, como el colágeno, produciendo activación plaquetaria y liberación de diferentes factores de crecimiento celular que contribuyen al proceso de hiperplasia vascular. A pesar de que no se habla todavía de inflamación como un mecanismo importante latente en estos procesos de lesión vascular, los trabajos de Ross abren las puertas y allanan el camino para una mejor comprensión de los mecanismos proinflamatorios, que se pondrán de manifiesto un año más tarde.

En este sentido, para mí marca un antes y un después el artículo de revisión de Ross del año 1999 en *New England Journal of Medicine*, en donde muestra que el proceso aterogénico no se puede considerar simplemente una acumulación de lípidos en la pared arterial. Es mucho más que eso, y toda una serie de respuestas celulares y moleculares van a permitir observar cómo, más allá de la lesión del endotelio, es la disfunción endotelial inducida por una serie de estímulos lo que, de forma crónica, irá configurando un estado inflamatorio arterial que tendrá un gran impacto en la enfermedad

También se pone de manifiesto la importancia de los radicales libres (que se producen, por ejemplo, al fumar un cigarrillo), la hipertensión, la diabetes mellitus, las alteraciones genéticas, las concentraciones elevadas de homocisteína en plasma, las infecciones víricas o bacterianas, como las producidas por el virus del herpes o por la *Chlamydia pneumoniae*, la participación de los monocitos y de los linfocitos T y su interacción con el endotelio, incluso en personas jóvenes. Estos serían algunos de los factores proinflamatorios importantes en el desarrollo de la arteriosclerosis y, por tanto, de la enfermedad tromboembólica.

A partir de estos trabajos, la investigación del concepto de inflamación en la arteriosclerosis ha dado lugar a una explosión de estudios y de trabajos en los últimos años, que demuestran la complejidad y la interrelación de distintos procesos bioquímicos en la génesis y desarrollo de las lesiones arterioscleróticas y su influencia en los accidentes trombóticos.

Llegados a este punto, y para completar este capítulo, no podemos dejar de mencionar el destacado papel que juega un factor de transcripción nuclear presente en muchas estructuras del organismo y que, en el endotelio de la pared vascular, regula la expresión de diversas proteínas proinflamatorias, como las proteínas de adhesión VCAM-1 e ICAM-1, las interleucinas como la IL-6, la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2) y el factor de necrosis tumoral, el TNF-alfa.

Este factor de transcripción se conoce como NF-kappaB, y las investigaciones llevadas a cabo los últimos 15 años han permitido poner de manifiesto su importante participación en los mecanismos proinflamatorios de la pared arterial. En efecto, por activación de los monocitos o ante otros estímulos (infección bacteriana, radicales libres, etc.) el endotelio vascular sufre un “insulto” proinflamatorio y se produce una activación de las proteína-quinasas de la membrana endotelial. La activación de estas enzimas provoca a su vez una activación del NF-kappaB

del citoplasma celular que se encuentra en forma inactiva (cimógena). Cuando se activa el NF-kappaB, pierde las subunidades que lo inactivaban y así es capaz de translocarse al núcleo de la célula y unirse a los genes inductores de la síntesis de proteínas proinflamatorias antes mencionadas. La síntesis de estas proteínas hará que se expresen en la membrana celular donde, por sus propiedades adhesivas de diferentes elementos celulares sanguíneos y por sus propiedades inflamatorias, contribuirán a la génesis y desarrollo de la enfermedad tromboembólica.

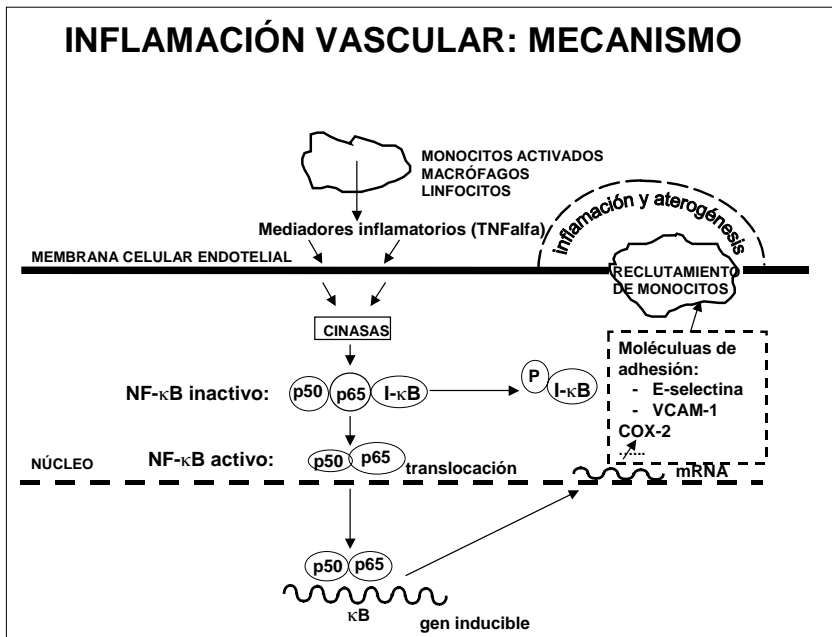


Figura 7

El descubrimiento y las acciones de este factor de transcripción han abierto nuevos caminos a la investigación de fármacos capaces de inhibir su activación y así poder intervenir en el control de los procesos inflamatorios que regula. Entre estos procesos podríamos considerar la enfermedad tromboembólica arterial y también enfermedades neurodegenerativas del sistema nervioso central (la demencia tipo Alzheimer y la esclerosis múltiple), donde los mecanismos proinflamatorios regulados por el NF-kappaB parece que también juegan un papel importante.

LA INVESTIGACIÓN ACTUAL Y EN LAS PRÓXIMAS DÉCADAS: ESTRATEGIAS DE FUTURO

¿Cuál es el presente, y el futuro a medio plazo, por lo que se refiere a la investigación en el campo de la antiagregación plaquetaria y el tratamiento de la enfermedad tromboembólica de origen arterial?

Antiagregantes plaquetarios

Actualmente, el arsenal terapéutico en el campo de los antiagregantes plaquetarios no es, contrariamente a lo que parecería, muy amplio. Se puede reducir a 4 ó 5 fármacos relevantes: la aspirina, el clopidogrel, la ticlopidina, el dipiridamol y el triflusal. Y como ya he dicho, la aspirina, un fármaco centenario, continua siendo el “patrón oro” de referencia, y las investigaciones en las últimas décadas y las que se están llevando a cabo parecen confirmarlo.

La investigación de futuro en este campo tampoco parece muy activa. El próximo fármaco que probablemente se introducirá será el prasugrel, que pertenece a la misma familia química que el clopidogrel y no creemos que pueda suponer un avance sustancial.

También se encuentran en período de investigación, aunque en fase menos avanzada, fármacos que actúan sobre los receptores purínicos P2Y₁₂ de la plaqueta (AZD-6140).

Por otro lado, los fármacos antitrombóticos que actúan, no sobre la plaqueta, sino a través de la vía de la coagulación, y por tanto útiles en la enfermedad tromboembólica venosa, que aquí no hemos tratado, no han dado los resultados esperados. El ximelagatran es un ejemplo. Es un inhibidor de la trombina que se ha retirado del mercado por problemas de toxicidad hepática.

El hecho de que no se hayan descubierto nuevas vías metabólicas de actuación a nivel plaquetario, y las exigencias regulatorias de miles y miles de pacientes para demostrar un beneficio terapéutico claro respecto a los fármacos actuales, particularmente la aspirina, hace difícil la investigación en este campo, por lo que no se prevén grandes avances a medio plazo.

Poli-era. Poli-productos

En cambio, donde sí se prevé una investigación más activa es en la utilización combinada de diversos fármacos que actúen de manera

complementaria. Así como en la década de los ochenta y principios de los noventa la plaqueta era el centro, la diana sobre la cual concentrar las investigaciones sobre fármacos beneficiosos para prevenir la trombosis arterial, últimamente grandes estudios clínicos han puesto de manifiesto la importancia de la reducción de los niveles de colesterol, o la prevención de su síntesis, y el control de la hipertensión como dos vías de actuación claras para reducir los accidentes trombóticos de origen arterial.

Por esto, algunos expertos han considerado que estamos entrando en lo que podríamos llamar la “poli-era”, donde la utilización combinada de diversos fármacos en unas dosis y pautas terapéuticas determinadas podría significar un avance sustancial (Franco,2007). Desde un punto de vista teórico, se considera que con una poli-píldora que combinara una estatina, tres antihipertensivos diferentes, aspirina y ácido fólico, se podría reducir en más de un 80% la enfermedad cardiovascular (DeWilde, 2008).

En este sentido, el Dr. Valentín Fuster, en una conferencia ofrecida en diciembre de 2006 en el Centro de Investigaciones Cardiovasculares de Barcelona, ya comentó que una buena estrategia para el tratamiento de la enfermedad arterial coronaria crónica sería la utilización combinada en una poli-píldora de aspirina, una estatina y un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE). La plaqueta ya no es el único actor. Todo es mucho más complejo. Veremos si los estudios en curso que valoren esta y otras combinaciones darán los resultados esperados sin un incremento excesivo de los efectos secundarios.

Medicina personalizada

El descubrimiento del genoma humano y el rápido desarrollo de lo que se conoce como tecnología “OMICA”, es decir la genómica, la proteómica, la toxicogenómica, la metabolómica, la histómica etc., serán unas herramientas que nos podrán ayudar en lo que se conoce como farmacología a la carta o medicina personalizada.

La investigación en este campo está todavía lejos de alcanzar unos resultados concretos, pero en un futuro, en el horizonte del 2050, creo que la medicina personalizada en el área cardiovascular dará frutos concretos. Se obtendrá una mayor tasa de respuesta y mayor seguridad, mayor relación beneficio-riesgo, menos coste y menos tiempo de desarrollo de un nuevo fármaco. En contra tendremos que un tratamiento

personalizado exigirá, probablemente, la utilización previa de pruebas diagnósticas para determinar el mejor fármaco que utilizar, y esto encarecerá el coste del tratamiento y las dificultades de financiación por parte de la Sanidad Pública (Lonn,2006).

Terapia celular. Medicina regenerativa

Otro campo de investigación muy activo, en estos momentos y durante las próximas décadas, es el que conocemos como terapia celular, aplicada concretamente en nuestro caso a la medicina regenerativa del miocardio.

Los estudios llevados a cabo por diferentes investigadores, entre los que podemos destacar a Piero Anversa (2003) y Bernat Nadal (2003) (mallorquín afincado en EEUU desde hace más de 40 años) en el New York Medical Center, han permitido demostrar que la implantación de células madre cardíacas o de médula ósea en animales de experimentación es capaz de producir una regeneración del tejido miocárdico necrótico. Las expectativas que estos descubrimientos han generado en todo el mundo han conducido a una verdadera fiebre para intentar reproducir estos resultados en las personas, de momento sin resultados claros.

Con la aplicación directa de estas células se ha conseguido regenerar como máximo 1 g de tejido, cuando a efectos de utilidad práctica sería necesario regenerar aproximadamente 150 g (Urbanek,2003).

Por otro lado, investigaciones más recientes se orientan no tanto a implantar células madre sino a provocar la regeneración, por estímulo farmacológico *in situ* alrededor de la zona necrótica, de factores de crecimiento celular como el factor de crecimiento de la insulina (IGF-1) y el factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF) o de otras citocinas como las interleucinas 3 y 6 (IL-3,IL-6).

En cualquier caso, lo más importante de esta investigación en el campo cardíaco es que el concepto que se tenía de que los miocitos (las células del miocardio) conseguían ya desde los inicios de la vida post-natal una diferenciación terminal que no les permitía generar células nuevas, ha quedado definitivamente obsoleta.

Creemos, sin embargo, que la investigación en este campo no será fácil, y ya en el año 2004 un editorial de *Nature* ponía de manifiesto la falta de consenso sobre la importancia de las células madre en la regeneración miocárdica. Los avances en el tratamiento del infarto agudo de miocardio y la reducción de la mortalidad ha provocado un

aumento significativo de enfermos con cardiopatía isquémica crónica (4,8 millones en EEUU y más de 400.000 nuevos casos cada año), por lo que cualquier éxito en la investigación de la regeneración miocárdica supondrá una revolución terapéutica de primer nivel.

Técnicas de imagen

El gran desarrollo en los últimos años de las técnicas de imagen es otro aspecto que ayudará al tratamiento de la enfermedad tromboembólica. En el futuro se prevé que máquinas que puedan combinar las técnicas de resonancia magnética (MRI), tomografía computerizada (CT) y tomografía de emisión de protones (PET) permitirán una mejor caracterización anatómica de la placa de ateroma y del proceso inflamatorio que lo acompaña, y esto deberá permitir un tratamiento y una profilaxis de esta enfermedad mucho más eficaces.

EL TRIFLUSAL

Llegados a este punto, una vez hemos podido revisar algunos hitos relevantes del funcionalismo plaquetario y la interacción con el endotelio y la enfermedad tromboembólica desde el año 1950 hasta la actualidad, así como de algunas estrategias terapéuticas de futuro, creo pertinente resumir lo que ha sido el descubrimiento y desarrollo del triflusal, y que ha ocupado una buena parte de mi vida profesional, casi desde mi incorporación a Uriach hasta hoy.

Lo creo pertinente debido a que el descubrimiento y la investigación de este fármaco, que aún hoy continua, han estado estrechamente ligados a la mayoría de los acontecimientos e hitos científicos que he comentado, y esto ha sido para mí motivo de una gran satisfacción y realización profesional.

Desde el año 1973, al inicio de mi actividad investigadora en Uriach, hasta hoy, he participado junto a un equipo de excelentes profesionales en el descubrimiento y comercialización de seis nuevas entidades químicas: la glisentida (1974, un antidiabético oral de la familia de las sulfonilureas), la brovanexina (1975, mucolítico), el triflusal (1981, antiagregante plaquetario), el fosfosal (1984, analgésico de la familia de los salicilatos), el flutrimazol (1995, antifúngico tópico) y la rupatadina (2003, antihistamínico).

Pero no hay duda de que, de todos estos principios activos, el más importante en cuanto a mi dedicación profesional y, felizmente, también en cuanto a la contribución en el ámbito científico y terapéutico, ha sido y continúa siendo el triflusal.

Su descubrimiento

Cuando antes me he referido al término inglés *serendipity* (sagacidad y azar), estaba pensando también en el triflusal y en cómo su descubrimiento bien se podría considerar como tal.

Cuando, el año 1974, empecé a trabajar en el laboratorio con el triflusal, no se pretendía encontrar un antiagregante plaquetario. Si tenemos en cuenta la evolución de los acontecimientos que he presentado antes, en ese año no se había descubierto todavía el tromboxano, ni la prostaciclina, y justo se empezaba a vislumbrar que la aspirina podía tener algún interés terapéutico como antiplaquetario. Sería difícil creer que nosotros ya teníamos una visión clara de futuro sobre la importancia de este tipo de fármacos. Lo que pretendíamos era obtener un antiinflamatorio más potente que la aspirina, partiendo de la hipótesis de que, al añadir a la molécula átomos de F (flor), de manera parecida a lo que se había observado con los corticosteroides, se incrementaría su potencia antiinflamatoria. Hemos de decir que el triflusal es el ácido 2-hidroxi-4-trifluorometilbenzoico, o dicho de otra manera, es la molécula de aspirina a la que se ha incorporado un grupo trifluorometilo en el anillo bencénico en posición “para” respecto al grupo carboxilo. Pero, como suele ocurrir muy a menudo en investigación, nuestras previsiones teóricas no se cumplieron en la realidad. Obtuvimos un compuesto con una potencia antiinflamatoria inferior a la de la aspirina.

Llegados a este punto, estábamos ya decididos a abandonar el producto cuando tuvimos la suerte de leer en *Lancet* un trabajo de O’Brien del año 1968, que he mencionado al principio, en el que se ponía de manifiesto la acción antiagregante plaquetaria de la aspirina en seres humanos, y que podía tener, por tanto, un papel importante en un futuro como antitrombótico. Este trabajo nos despertó el interés y la curiosidad por ver si triflusal, antes de abandonarlo definitivamente, podría hacerse un hueco en este campo terapéutico.

A pesar de que entonces era todavía un campo con un futuro incierto, nuestra intuición y la suerte que siempre existe en toda investigación, nos condujeron a comprobar si el triflusal podría tener algún

interés. Realizamos los primeros experimentos con un agregómetro casi artesanal que hoy forma parte del Museo de Uriach de aparatos antiguos. Era el que se conocía como agregómetro de Born, basado en el

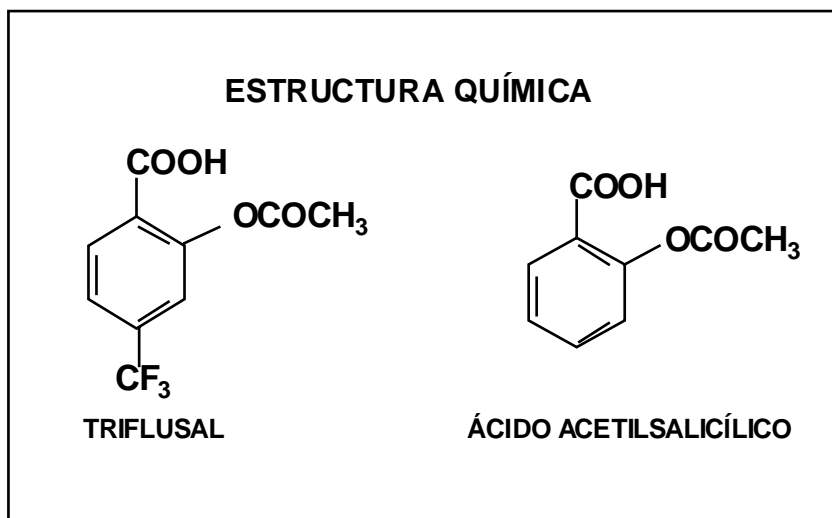


Figura 8.

Los resultados prometedores de estos experimentos iniciales, muchos de ellos realizados con las plaquetas de muestras de nuestra propia sangre (algo totalmente impensable hoy en día), nos hizo replantear el proyecto inicial, no abandonar el triflusal y desarrollarlo como antiagregante plaquetario (Murdoch,2006).

Su síntesis

En la síntesis de triflusal en grandes cantidades, toneladas, y de una calidad superior, hay un factor que quiero comentar: los avances conseguidos mediante la Ingeniería Química en el diseño de maquinaria y condiciones de reacción avanzadas.

La reacción clave de la síntesis es una Kolbe-Schmitt. És, o mejor dicho era, una reacción estática que tenía lugar a presión y temperatura considerables y que su duración era muy prolongada. Tras cuidadosos estudios cinéticos y de seguridad se modificaron totalmente las condi-

ciones y se consiguió disminuir el tiempo de reacción más de cincuenta veces y mejorar la calidad del producto final incrementando la seguridad del proceso, que requiere precauciones especiales. Para conseguirlo fue necesario diseñar un reactor especial, dinámico, y trabajar a alta presión y temperatura, lo cual, para una reacción en fase sólida, fue todo un reto.

Las mejoras conseguidas fueron notables y permitieron incrementar las exigencias analíticas de la Farmacopea Europea.

Esta mejora del proceso representó un gran paso adelante en la sostenibilidad y pureza del producto. También se mejoró la eficiencia atómica y significó un avance mediambiental y tecnológico.

Mecanismo de acción

En la investigación del mecanismo de acción del triflusal que iniciamos en la segunda mitad de los años setenta y que continuamos y completamos en las dos décadas siguientes, nos fueron de gran utilidad los avances científicos que hemos comentado antes. En particular, el conocimiento detallado del funcionalismo plaquetario y del metabolismo del ácido araquidónico, junto con el descubrimiento del tromboxano A₂ y de la prostaciclina y, después, el del óxido nítrico, para terminar con la constatación de la importancia de los procesos inflamatorios en el desarrollo de la enfermedad arteriosclerótica. En cierto modo, el descubrimiento de estos avances científicos nos ha permitido de manera paralela descubrir, profundizar y afinar el mecanismo de acción del triflusal.

Así pues, tras unos cuantos años de investigación, hoy podemos proponer un mecanismo bastante definido para el triflusal. Se ha demostrado que, al igual que la aspirina, es un inhibidor irreversible de la ciclooxigenasa plaquetaria y, por tanto, de la biosíntesis de tromboxano A₂; pero, a diferencia de esta, tiene un efecto despreciable sobre la ciclooxigenasa vascular y, por tanto, la síntesis de prostaciclina queda preservada (García-Rafanell, 1979; Albors, 1987; Duran, 2008). Además, y también a diferencia de la aspirina, es un inhibidor de la fosfodiesterasa plaquetaria, incrementando los niveles de AMPc intra-plaquetario, que producirán una inhibición de la movilización del calcio de sus reservorios plaquetarios (García-Rafanell, 1986). Como es sabido, la movilización plaquetaria del calcio es fundamental para la reacción de activación de la plaqueta y para su agregación y, por tanto, inhibir su movilización mediante el incremento de los niveles de AMPc

intraplaquetario contribuye a la inhibición de la agregación plaquetaria. Este efecto tampoco se ha demostrado con la aspirina.

Por otro lado, en colaboración con el equipo del Dr. López Farré de la Fundación Jiménez Díaz de Madrid, se pudo demostrar la capacidad del triflusal para estimular la síntesis y liberación del óxido nítrico de los neutrófilos humanos (Sánchez de Miguel, 1998). El óxido nítrico liberado puede contribuir a un efecto antiplaquetario al actuar sobre la plaqueta por estímulo de la actividad de la guanilato-ciclasa, incrementando en consecuencia los niveles de GMPc, que actuarán de manera parecida al incremento de los niveles de AMPc: inhibiendo la movilización del calcio intraplaquetario.

Finalmente, trabajando con el equipo del Dr. Sánchez Crespo, del CSIC, en Valladolid, se ha podido demostrar el efecto del triflusal y de su metabolito principal, el HTB, en la inhibición de la activación del factor de transcripción NF-kappaB (Bayón, 1999). Como hemos dicho antes, este factor regula la expresión en el endotelio vascular de diversas proteínas proinflamatorias, como la VCAM-1, ICAM-1, COX-2, IL-6 y TNF-alfa. Con la demostración de estos efectos complementarios del triflusal y del HTB, se abre la puerta a considerar que el efecto antitrombótico de triflusal puede ser, en parte, también debido a un efecto beneficioso en la inflamación vascular que, como hoy se admite, juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad arteriosclerótica.

Este factor de transcripción también se encuentra en el cerebro, en la neurona y en otras células del sistema nervioso central, como las células de la glía. Se ha podido demostrar el efecto del triflusal y del HTB en la inhibición de la activación del NF-kappaB a nivel neuronal, lo cual se ha correlacionado con un efecto favorable del fármaco en los procesos neurodegenerativos en los que la inhibición de este factor de transcripción puede jugar un papel importante. Esto ha abierto también las puertas a una investigación de futuro del triflusal en este tipo de enfermedades, en concreto en la prevención del Alzheimer en pacientes con deterioro cognitivo leve, es decir en una fase clínica pre-Alzheimer. Un ensayo clínico piloto al que me referiré más adelante ha dado unos resultados muy esperanzadores en esta dirección.

Lo que quería poner de manifiesto en este apartado, más allá de comentar el mecanismo de acción de triflusal y las diferencias con la aspirina, es en qué medida los avances científicos a lo largo de estas décadas, que antes he resumido, han resultado fundamentales para nuestras investigaciones. Han permitido, casi en paralelo, a medida que se iban

conociendo, comprobar cómo la acción de triflusal estaba estrechamente ligada a muchos de ellos.

Eficacia terapéutica

Durante la década de los noventa se llevaron a cabo los estudios clínicos más relevantes con triflusal, que han permitido acreditar su eficacia como antiagregante plaquetario en la prevención secundaria del infarto agudo de miocardio y del infarto cerebral. Nos referimos a los estudios TIM (Cruz-Fernández, 2000), TACIP (Matías-Guiu, 2003) y TAPIRUS (Culebras, 2004), realizados en condiciones de Buenas Prácticas Clínicas y en los que han participado miles de pacientes. Lo más importante de estos estudios es que se ha podido demostrar una eficacia similar a la de la aspirina pero con una incidencia de efectos secundarios, particularmente hemorragias gástricas y sistémicas graves, significativamente inferior.

En este sentido es importante destacar que, gracias a estos estudios, por primera vez un medicamento de investigación de nuestro país se ha incluido en las Guías clínicas oficiales europeas para el tratamiento del ictus isquémico y del accidente isquémico transitorio, publicadas por la European Stroke Organization en 2008, dentro de la máxima categoría de evidencia (clase I) y máximo nivel de recomendación (nivel A). En estas guías se indica específicamente que “triflusal reduce la recurrencia de infarto cerebral con una eficacia similar a la aspirina pero con menos efectos adversos”.

Más recientemente, el año 2004, la publicación del estudio NASPEAF en una de las revistas de más prestigio en el mundo de la cardiología, el *Journal of American College of Cardiology*, demuestra, por primera vez, que la combinación de un antiagregante plaquetario, el triflusal, con dosis moderadas de un anticoagulante oral, era de una eficacia superior al régimen terapéutico establecido de anticoagulación sola a las dosis estándar, en pacientes con fibrilación auricular. Al asociar el triflusal a la anticoagulación se obtenía una reducción del 50% de los accidentes cardiovasculares, incluida la muerte vascular, sin incrementar el riesgo hemorrágico respecto al grupo de anticoagulación sola a dosis estándar. Este estudio, realizado en nuestro país por distintos cardiólogos de todo el Estado, ha abierto una aproximación nueva al tratamiento de la fibrilación auricular, que ha despertado un gran interés en la comunidad médica (Pérez-Gómez, 2004).

Otros campos en los que la eficacia de triflusal ha quedado demostrada han sido, por ejemplo, en la prevención de la oclusión de los injertos vasculares en pacientes sometidos a bypass aorto-coronario (Guiteras, 1989), o en la prevención de accidentes vasculares en pacientes operados con prótesis valvulares cardíacas de tipo biológico (Aramendi, 2005).

Finalmente, el descubrimiento de las acciones de triflusal en la inflamación, no solo en el ámbito vascular, sino también en el neuronal, y sus efectos en diversos modelos animales de neurodegeneración que hemos comentado anteriormente, abrieron un nuevo campo de investigación para la prevención de este tipo de enfermedades, en concreto el Alzheimer de tipo amnésico. En este sentido, el año 2008 se publicó en la revista *Alzheimer Disease and Associated Disorders* un estudio piloto en más de 250 pacientes con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (situación clínica pre-Alzheimer), en el que se observa que el tratamiento de estos enfermos con triflusal se asocia con una reducción superior al 40% en la tasa de conversión a Alzheimer (Gémz-Isla, 2008). Este hecho se considera, en opinión de los expertos, de una gran importancia y merecería la confirmación en un estudio pivotal en una muestra más amplia de pacientes.

Presencia Internacional

Nosotros iniciamos las investigaciones con el triflusal el año 1974, y este fármaco se comercializó por primera vez, en nuestro país, en 1981. Desde entonces se ha comercializado en 35 países y hoy, después de 28 años de su introducción en España y cuando ya hay más de 10 especialidades genéricas de triflusal, durante los dos últimos años se ha comercializado en nuevos países como Filipinas, Tailandia, Indonesia, Malasia y Hungría, y está prevista su próxima comercialización en Oriente Medio y después, muy probablemente, en Rusia y países satélites, y también en la China.

Estaremos de acuerdo en que no es frecuente que, después de tantos años y con un producto sin protección de patente, se continúe introduciendo en nuevos mercados con éxito. Tampoco es frecuente que, a lo largo de todo el desarrollo de mi tarea profesional en Uriach, haya podido estar directamente involucrado en toda la evolución del fármaco, desde sus inicios hasta la actualidad. Para mí ha sido, y continúa siendo, una de las mayores satisfacciones como investigador y una experiencia

difícil de conseguir, el haber podido participar activamente en su descubrimiento y en todas las fases del desarrollo experimental y clínico y, después, en el proceso, que todavía continúa, de su comercialización en todo el mundo.

El año 1981, los recursos y objetivos de Uriach estaban enfocados al lanzamiento de este fármaco únicamente en el mercado español. El éxito terapéutico ya desde el principio, estimuló el interés de la Compañía por conseguir su comercialización en otros países. El incremento exponencial de los requerimientos regulatorios de los años ochenta y noventa para registrar un nuevo medicamento obligó, en la medida de nuestras posibilidades, a dedicar recursos para conseguir la expansión internacional del fármaco y, cuando esto ha sido posible, el hecho de que el producto ya no tenga la protección de la patente ha lastrado las posibilidades de su comercialización en algunos países europeos y en EEUU.

En cualquier caso, hoy está reconocido a nivel internacional, y figura en muchas guías clínicas de actuación terapéutica, que triflusal es un fármaco antiplaquetario que, respecto al “patrón oro”, que hoy por hoy continúa siendo la aspirina, ha demostrado una eficacia terapéutica similar pero con un riesgo hemorrágico gástrico y sistémico manifiestamente menor. Dada la importancia de este efecto adverso en el tratamiento crónico de la enfermedad tromboembólica con antiagregantes plaquetarios, creemos que la aportación de triflusal ha supuesto un avance y una mejora significativa.

Consideraciones finales

Para terminar, quisiera dejar claro que la historia de la plaqueta, por lo que se refiere a su funcionalismo, activación y relación con la enfermedad tromboembólica, es mucho más compleja y amplia de lo que he resumido hoy aquí. He procurado únicamente destacar algunos de los hitos que considero más importantes en este proceso evolutivo que se inicia en la primera mitad del siglo pasado y que tuvo su punto culminante en las décadas de los ochenta y noventa. También he procurado apuntar, muy brevemente, algunos de los caminos actuales y de futuro que marcarán los próximos años de investigación en este campo.

Por otro lado, he querido poner de manifiesto cómo nuestras investigaciones centradas en el descubrimiento y desarrollo del triflusal han transcurrido en paralelo a estos grandes descubrimientos, y cómo

algunos de ellos (tromboxano A₂, prostaciclina, óxido nítrico, mediadores de inflamación vascular...), que hemos vivido en el tiempo, nos han permitido conocer su mecanismo de acción y explicar su eficacia terapéutica.

Cuando en las décadas de los setenta y ochenta estábamos en pleno desarrollo experimental y clínico del fármaco, en unos momentos todavía de incertidumbre respecto a la contribución real de los antiplaquetarios en esta enfermedad, yo recuerdo que siempre me hacía la siguiente reflexión: “si los estudios realizados en todo el mundo por muchos equipos de investigadores demuestran el éxito terapéutico de la aspirina como antitrombótico, no podremos fracasar con triflusal, a no ser que fallen los principios de la Química y de la Farmacología”. Así ha sido, la aspirina se ha consolidado como “patrón oro” mundial en el tratamiento antiplaquetario de la enfermedad tromboembólica y la Química y la Farmacología, en las que basamos nuestras primeras investigaciones con triflusal, no nos han fallado. La clínica, después, se ha encargado de confirmar que con triflusal, aunque sea modestamente, hemos podido contribuir de manera eficaz y segura al tratamiento de la enfermedad tromboembólica de origen arterial, aportando un beneficio adicional al tratamiento convencional antiplaquetario.

Quiero agradecer, una vez más, al presidente y a todos los académicos la confianza que han demostrado al nombrarme académico correspondiente, y a todos ustedes, señoras y señores, su asistencia y atención.

Muchas gracias a todos

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre de Cárcer, A.; Fernández-Rúa, J.M. NO un gas mensajero, ABC cultural, 15 Octubre, 1998
- Albors, M.; de Castellarnau, 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, 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. *Expert Rev.Neurother.*, 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. Accepted for publication in *J.Thromb.Haemost.* (2008), published online 23 May 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 thrombosis. *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 as-

- sociated 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, J.R. 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, J.R.; 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, J.R.; Oxon, D.M.; Path, F.C. 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, P.J.; Vane, J.R. 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 phylogenetic 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.; Glomse, 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 síntesis 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.
- Straznicky, I.T.; Zambanini, A.; White, H.D. Ongoing Clínic trials in anti-platelet agents in the management of acute coronary syndromes. *Exp.Opin.Invest.Drugs*, 7:811-821, 1998.
- Swainger, C. Antiplatelet Agents: The rise of superaspirin? *Scrip Report BS 836*; PJB Publications Ltd, 1997.
- Urbanek, K.; Quanini, 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.

