

Francisco Humberto
de Abreu Maffei*

O PAPEL DAS PROSTAGLANDINAS NA HEMOSTASIA E TROMBOSE

A hemostasia e o controle de seu exagero patológico, a trombose, ocorrem graças ao funcionamento harmônico de uma série de mecanismos que incluem vasomotricidade, adesão e agregação plaquetária, formação da fibrina, fibrinólise e inibidores dessa, da coagulação e da atividade plaquetária. No presente trabalho fixaremos nossa atenção na função plaquetária, ponto importante de ação das prostaglandinas em relação a esses fenômenos.

Prostaglandinas são compostos de ação autofarmacológica que se caracterizam por serem ácidos graxos oxigenados polinsaturados que possuem idêntico esqueleto carbônico. Foram inicialmente isoladas no líquido seminal do homem, por Goldblatt, e do carneiro, por Van Euler, em 1935, que lhes deu essa denominação. Sabe-se atualmente que essas substâncias se encontram espalhadas por todo o reino animal, tendo sido demonstrada sua presença na maioria dos tecidos e células, e que apresentam grande potência e diversidade em suas ações farmacológicas, ligadas principalmente à regulação celular e à inflamação¹⁻⁶.

ESTRUTURA E SÍNTESE

A estrutura química básica das prostaglandinas - o ácido prostanoico - foi elucidada a partir dos trabalhos de Bergström e col. em 1963⁷ e se compõe de 5 anéis carbônicos, compreendendo 20 carbonos no total.

Na figura 1 está representado esse ácido, seus derivados e algumas das prostaglandinas ditas primárias, PGE, PGE₂, PGF etc... O ácido araquidônico e seus derivados são os que apresentam maior importância em termos de hemostasia e trombose.

A nomenclatura dessas prostaglandinas é assim estabelecida: os números de acordo com o número de duplas ligações ou insaturações no esqueleto básico, as letras de acordo com os grupos funcionais ligados aos carbonos 9 e 11 no 5.º anel carbônico, e as letras gregas

pela disposição espacial dos grupos hidroxila no carbono 9^{1,3,4}.

As prostaglandinas e derivados não são armazenados nas células, mas rapidamente sintetizados quando os ácidos graxos precursores são liberados por meio de reações enzimáticas. O ácido araquidônico, que é um ácido graxo dito essencial, não se encontra livre nas células animais, mas é abundante na forma de éster na membrana fosfolipídica. Para que funcione como substrato para formação de prostaglandinas deve ser liberado, o que ocorre pela ação da fosfolipase A⁸. Não é bem conhecido ainda o mecanismo de ativação da fosfolipase A; sabe-se, entretanto, que estímulos diversos: mecânico, isquêmico, trombina, bradicinina e ionóforo cálcico A23187, desencadeiam esse processo⁴ (fig. 2).

Desde 1967, a partir de trabalhos iniciais de Kloeze⁹ sabia-se da existência de ação das prostaglandinas sobre a agregação plaquetária (aderência das plaquetas uma às outras): que PGE₁ e a PGD₂ inibiam a agregação plaquetária e que a PGE₂, dependendo da dose, aumentava ou inibia essa agregação¹⁰.

Em 1973, verificou-se, independentemente pelos grupos de Vargaftig¹¹ e de Silver¹², que o ácido araquidônico era um agente agregante plaquetário específico e que essa agregação era acompanhada da liberação de uma substância, que possuía também a capacidade de contrair a aorta isolada de coelho. Nesse mesmo ano, Hamberg e Samuelsson¹³ demonstraram que o efeito agregante era devido à formação de compostos intermediários na degradação do ácido araquidônico às prostaciclina estáveis, os endoperoxídeos das prostaglandinas (fig. 3).

Assim, o ácido araquidônico liberado da membrana celular sofre a ação de uma enzima, a prostaglandina endoperoxídeo-sintetase, que teria uma ação ciclooxygenase, transformando o ácido araquidônico em PGG₂ e uma ação peroxidase, transformando a PGG₂ em PGH₂^{4,5,14}. Es-

* Professor-Assistente do Depto. de Cirurgia e Ortopedia. Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.
Responsável pela Disciplina de Cirurgia Vascular.

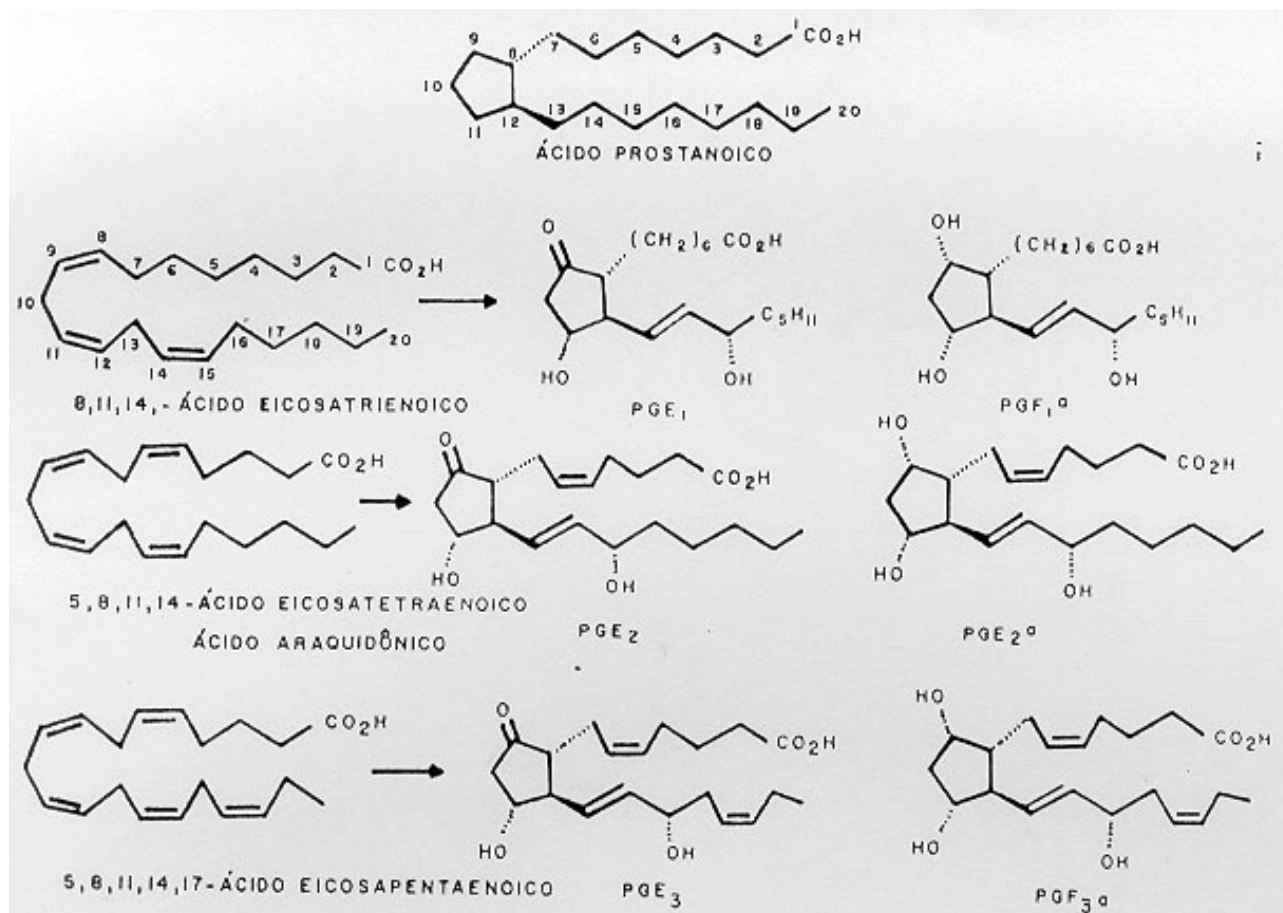


Fig. 1 - Estrutura do ácido prostanoico, de algumas das prostaglandinas e de seus precursores.



Fig. 2 - Estímulos que desencadeiam a liberação do ácido araquidônico por ação da fosfolipase A₂.

ses dois endoperóxidos são altamente instáveis e sua decomposição leva à formação das prostaglandinas estáveis PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, e di-aldeído malônico, que é usado para medir indiretamente a produção de prostaglandinas^{4,5 10, 14 15}.

TROMBOXANE A₂

Em 1975, Hamberg e col¹⁶ demonstraram a produção nas plaquetas de um outro produto, também altamente instável, que resultaria da degradação da PGH₂ por ação de outra enzima (tromboxane sintetase), sendo esse produto denominado Tromboxane A₂ (TXA₂), um agregante plaquetário e vasoconstritor mais potente do que os próprios endoperóxidos^{15,17}.

O Tromboxane A₂ degrada-se espontaneamente em uma substância estável, o Tromboxane B₂, que é inativo na agregação plaquetária, e tem sido usado para dosagem indireta de Tromboxane A₂ e para a produção de anticorpos antitromboxane 4 (fig. 3).²

O mecanismo pelo qual a PGG₂, a PGH₂, e o TXA₂ induzem à agregação é desconhecido; parece não ser relacionado com o metabolismo dos nucleótidos cíclicos. A agregação plaquetária pelo ácido araquidônico, pelos endoperóxidos e pelo tromboxane A₂ está associada com a secreção de ADP, adenosina trifosfato e serotonina, pelos grânulos de armazenamento das plaquetas¹².

A produção de TXA₂ parece ser de pouca importância na agregação plaquetária pela trombina, mas teria papel preponderante na agregação e liberação induzidas pelo colágeno¹².

O papel do TXA₂ na hemostasia, talvez pudesse ser explicado pelo mecanismo: lesão endotelial, exposição de colágeno subendotelial, aderência de plaquetas, síntese de TXA₂, liberação de ADP, nova agregação, havendo agora ação sinérgica de TXA₂ com o ADP e com a Trombina. O TXA₂ agiria também por meio de seu potente efeito vasoconstritor.

Evidência direta da participação dos endoperóxidos e do TXA₂ no controle fisiológico da hemostasia vem do estudo de pacientes com falta aparente de prostaglandina sintetase ou de tromboxane sintetase e que são portadores de discreta síndrome hemorrágica^{ng-20}, e prolongamento do tempo de sangramento após a ingestão de aspirina^{21,22} que bloqueia a síntese das prostaglandinas^{23,24}.

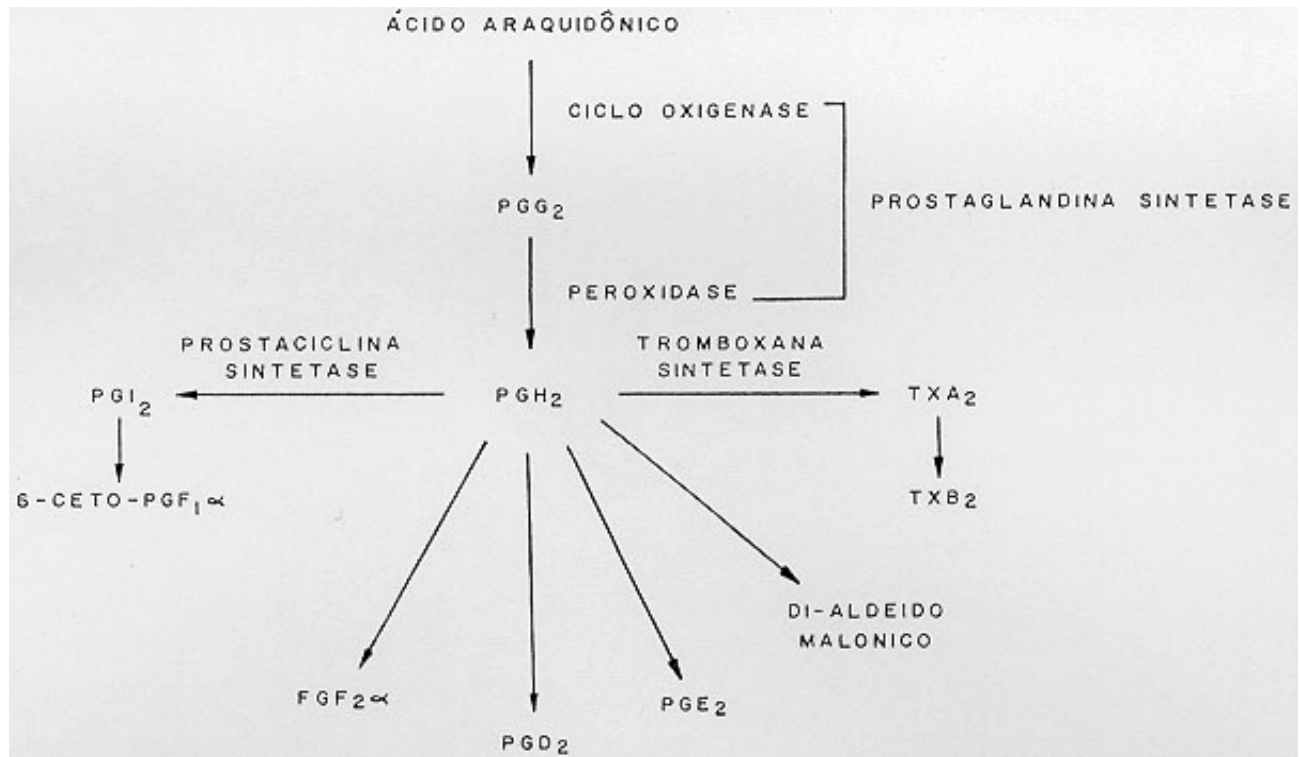


Fig. 3 - Metabolismo do ácido araquidônico. Formação de prostaglandinas, da tromboxana A_2 e da prostaciclina.

Embora esse mecanismo seja de grande importância para a hemostasia normal, o excesso de agregação plaquetária pode ser perigoso, quer pelo bloqueio de pequenos vasos, quer pela ação vasoconstritora do TXA_2 . É possível que exista uma hiperreatividade plaquetária que facilite o desenvolvimento de moléstias vasculares, embora ainda não se saiba da importância real da mesma. Demonstrou-se, por exemplo, em plaquetas de doentes com diabetes e angina pectoris, produção aumentada de prostaglandinas e TXA_2 ^{25,26}. Aumento da TXA_2 foi também demonstrado durante circulação extracorpórea em doentes operados para ponte de safena²⁷.

Quando a produção de prostaglandinas plaquetárias é inibida, diminui a agregação plaquetária por todas as substâncias agregantes, menos pela trombina, sendo essa a base para a utilização de algumas drogas que agem sobre a função plaquetária, como será discutido posteriormente.

De outro lado, como já referimos, sabe-se que certas prostaglandinas primárias, como a PGE_2 em concentração alta, a PGE_1 e a PGD_2 , produzem efeito oposto ao discutido até agora, isto é, inibem a agregação plaquetária. Sabe-se também, desde 1973, pelos trabalhos de Saba e col.²⁸, que a parede vascular tem a propriedade de inibir a agregação plaquetária.

PROSTACICLINA

Em 1976, Moncada, Glyglewski, Bunting e Vane²⁹, quando pesquisavam a fração microsossal de diferentes tecidos no estudo da tromboxane sintetase, descobriram que essa fração, nos vasos sanguíneos, contém uma enzima, a que chamaram de PGX, que transforma os

endoperóxidos das prostaglandinas em um princípio instável que relaxa alguns vasos sanguíneos e previne a agregação plaquetária.

Essa substância se mostrou pelo menos 25 vezes mais ativa nessa inibição do que a PGE_2 , sendo assim a substância endógena com a mais potente ação antiagregante plaquetária.

Pouco depois, o mesmo grupo elucidou a estrutura molecular da PGX, rebatizou-a como prostacielima, também chamada posteriormente de PGI_2 ³⁰, e demonstrou sua existência em tecidos venosos e arteriais humanos³¹.

O metabolismo da prostaciclina se daria da seguinte maneira (fig. 3): na parede vascular, os endoperóxidos das prostaglandinas sofreriam a ação da prostaciclina sintetase, dando origem à prostaciclina. Essa é instável; em solução aquosa, em pH 7,4, tem meia vida de 10,4 minutos, sendo hidrolizada a 6-ceto- $pGF_1\alpha$ ³², derivado que possui ação inibitória da agregação cerca de 1000 vezes menor do que a prostaciclina. Esse derivado, sendo estável, permite uma medida indireta da prostaciclina por radioimunoensaio.

A PGI_2 é produzida na parede vascular, sendo a maior porcentagem no endotélio³³. É obtida em cultura de vários tipos de células endoteliais, como de artéria e veia umbilical humana, aorta de porco, etc.^{34,35}. Foi também isolada de outros tecidos como cortex renal, estômago, coração de coelho e ratos³⁶⁻³⁸. É também produzida em alta concentração no pulmão, tendo sido sugerido que ela se comportaria como hormônio circulante secretado por esse órgão^{15,39,40}.

A prostaciclina é rapidamente inativada pelo fígado e pelos quartos posteriores de animais, provavelmente pelos próprios vasos sanguíneos, não sendo metabolizada pelo pulmão intacto. A

duração de sua ação após injeção endovenosa é extremamente curta⁴; normalmente degrada-se na circulação com meia-vida de 3 a 5 minutos.

A inibição da agregação plaquetária pelas prostaglandinas é mediada pela elevação do AMP cíclico (AMPC) nas plaquetas⁴², sendo a prostaciclina o mais poderoso ativador da adenilciclase, tanto em plaquetas intactas como em membranas isoladas⁴³. O aumento dos níveis de AMPC parece modificar a função plaquetária através de alterações do metabolismo do cálcio⁴. Assim, foi descrita a existência de uma bomba de cálcio dependente do AMPC na membrana plaquetária. O aumento do AMPC levaria a uma diminuição do nível celular de cálcio livre⁴⁴, e estaria ligado à fosforilação de uma proteína presente na fração da membrana plaquetária, que pode retirar íons cálcio⁴⁵.

A partir de trabalhos experimentais foi também proposta para a prostaciclina a ação de desagregar plaquetas aderidas ao colágeno⁴⁶.

Moncada e Varie demonstraram ainda, "in vitro", que anéis de artéria previamente tratados com indometacina, na presença de plaquetas, eram capazes de produzir prostaciclina utilizando endoperóxidos cedidos pelas plaquetas¹⁵.

PAPEL DO TROMBOXANE A E DA PROSTACICLINA NA HEMOSTASIA E TROMBOSE.

Com base nos achados anteriormente descritos, Moncada e Varie¹⁵ sugeriram um novo mecanismo homeostático que facilitaria a explicação de vários fenômenos patológicos e abriria enormes perspectivas terapêuticas.

Os endoperóxidos cíclicos PGG₂ e PGH₂ são substratos para a formação de duas substâncias com efeitos biológicos opostos: TXA₂, de efeito agregante, formado nas plaquetas e PGI₂, antiagregante, formada nas paredes vasculares (fig. 4). As plaquetas, em íntimo contato com a parede vascular, talvez aderindo a elas ou forçadas contra elas por um fluxo turbulento, poderiam liberar endoperóxidos, que seriam utilizados pelas células endoteliais para gerar prostaciclina. Essa estimularia a adenilciclase das plaquetas, aumentando o nível de AMP cíclico, que inibiria maior agregação plaquetária, evitando o trombo.

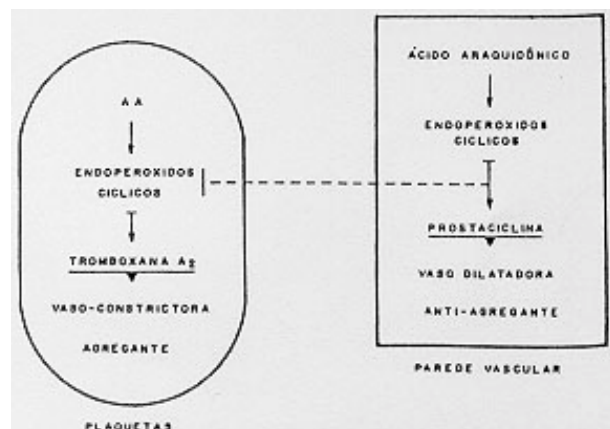


Fig 4 - Síntese e ação dos derivados do ácido araquidônico nas plaquetas e na parede vascular.

A lesão vascular leva à deposição de plaquetas, mas não necessariamente ao trombo, e quanto mais intensa a lesão maior a possibilidade de ocorrer trombose. Segundo Moncada e Varie, esses fatos estariam de acordo com a distribuição da prostaciclina sintetase, cuja concentração diminui do endotélio para a adventícia. Dois outros fatos reforçam essa teoria. Ts'ao e col.⁴⁷ demonstraram, em aorta de coelho deendotelizada, intensa atividade do tipo prostaciclina, atividade essa que seria até mais importante que a da prostaciclina produzida no endotélio, dado que a remoção do mesmo é que provoca trombose. Outro fato é a indicação de que a própria trombina provoca liberação de prostaciclina de células endoteliais⁴⁸, isto é, uma substância que por si só provoca agregação é também um estímulo para impedir ou diminuir essa mesma agregação.

Desde que as plaquetas tomam parte na reparação endotelial, é possível que nesse mecanismo a prostaciclina também seja importante, no sentido de permitir aderência de pequeno número de plaquetas, mas impedindo a agregação posterior com evolução para trombose.

Esse mecanismo tromboxane-prostaciclina explica bem a formação de trombos quando o sangue circula sobre superfícies artificiais, como próteses vasculares e valvares, cateteres intravasculares, tubos e membranas de circulação extracorpórea. O estímulo mecânico levaria à formação do ácido araquidônico e à sua transformação em endoperóxidos cíclicos, que seriam principalmente transformados em tromboxane, induzindo à agregação, já que não existe uma parede biológica produtora de prostaciclina.

UTILIZAÇÃO EM TERAPÊUTICA

A implicação clínica mais óbvia é a do **tratamento ou profilaxia das trombozes**. Para impedir o desenvolvimento do trombo o importante seria fazer pender a balança do metabolismo dessas substâncias na direção da prostaciclina (fig. 5).

Isso poderia ser obtido através de: 1 Aumento da quantidade de prostaciclina, seja pela administração da própria ou de análogos, ou pela utilização de drogas que estimulem sua produção ou diminuam seu catabolismo 2) Inibição seletiva da tromboxane sintetase 3) Inibição da prostaglandina sintetase 4) Substituição do ácido araquidônico.

Já em 1977, Higgs e Col.⁴⁹ mostraram experimentalmente que a prostaciclina inibe a formação de trombo plaquetário "in vivo". Sua aplicação para impedir o desenvolvimento de um trombo no homem, por exemplo, após uma endarterectomia, apresentaria, entretanto, alguns inconvenientes: sendo sua ação extremamente efêmera ela deve ser ministrada continuamente; de outro lado, por sua ação vasodilatadora, poderia provocar hipotensão, efeito indesejável.

Os efeitos da prostaciclina no homem foram estudados por Gryglewski e col.⁵⁰ em 6 voluntários, entre os quais os próprios autores. Para tal, injetaram de 2 a 50 ng/kg/min de prostaciclina por infusão contínua, durante 30 minu-

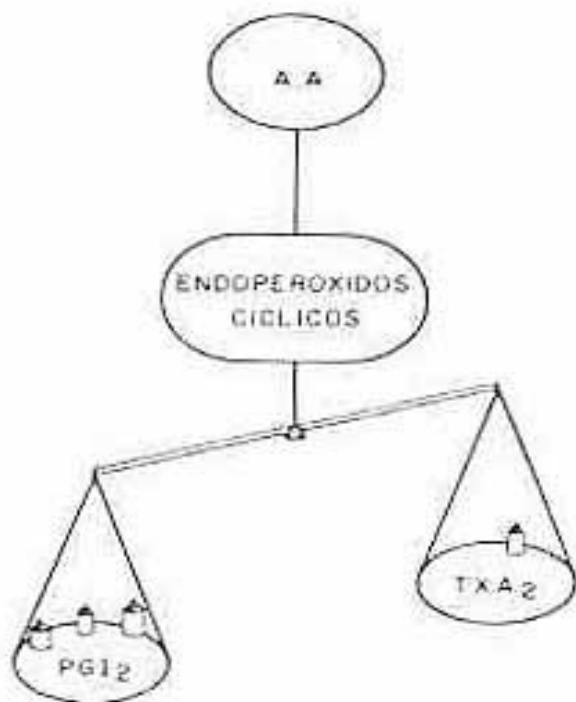


Fig. 5 - Uma eventual maneira de prevenir o desenvolvimento da trombose: pender a balança do metabolismo do ácido araquidônico para o lado da prostaciclina.

tos, na veia cubital, tendo observado: ação dose-dependente diminuidora da agregação pelo ADP; dissipação de agregados plaquetários circulantes; prolongamento do tempo de sangramento (TS); aumento na perda sangüínea, durante medida do TS; ausência de alterações da coagulação.

Os efeitos circulatórios foram: arterialização do sangue venoso durante a infusão; aumento da frequência cardíaca; redução da pressão diastólica, mantendo-se a pressão sistólica inalterada ou aumentada durante a perfusão de prostaciclina.

Entretanto, não temos ainda conhecimento de seu uso com a finalidade de impedir a trombose no homem.

Tanto a PGE1 como a PG2 têm sido usadas com o objetivo de diminuir o consumo de plaquetas durante circulação extracorpórea experimental⁵¹⁻⁵³. Gimson e Col.⁵⁴, utilizaram-nas clinicamente, durante hemoperfusão em carvão vegetal, em doentes com insuficiência hepática fulminante, visando a prevenir a ativação plaquetária, responsabilizada pela hipotensão acompanhada de plaquetopenia e presença de agregados plaquetários no sangue. Nos doentes hemoperfundidos e nos quais havia sido injetada prostaciclina, não houve redução do número de plaquetas, ocorrendo paralelamente redução do aumento do nível de β - Tromboglobulina no sangue. Não se verificaram hipotensão ou efeitos colaterais.

Radegram e Papaconstantinou⁵⁵ utilizaram prostaciclina em doentes submetidos à circulação extracorpórea para cirurgia de moléstias cardíacas

adquiridas, também com a finalidade de diminuir o consumo plaquetário. Com a dose de 50 ng/kg/min, durante os primeiros 30 minutos de perfusão verificaram contagem plaquetária consistentemente maior nos pacientes tratados do que em controles, sendo que essa contagem mais elevada se manteve mesmo após a suspensão da droga. Verificaram também importante queda na resistência vascular sistêmica, que levou várias vezes à pressão de perfusão muito baixa, sem ocasionar, porém, qualquer lesão neurológica ou em outro órgão, após a perfusão. Embora esses resultados tenham sido preliminares, com o estudo de pequeno número de doentes acham estes autores que os mesmos encorajam novos estudos nesse sentido.

O outro uso clínico da prostaciclina, aproveitando agora mais sua ação vasodilatadora do que a antiagregante, foi no tratamento de doentes com insuficiência arterial grave. Szczeblik e col.⁵⁶, utilizando a via intra-arterial ou intravenosa, na dose de 2-10 ng/kg/min, referem ter verificado desaparecimento da dor em repouso e cicatrização de úlceras, em 12 de 30 doentes. Esses doentes foram seguidos por 2 a 15 meses, tendo os autores assinalados a discordância entre a curta duração do efeito vasodilatador e antiagregante plaquetário da prostaciclina e a persistência da melhora clínica.

As limitações no emprego da prostaciclina têm levado a uma intensa procura de análogos, quer da prostaciclina quer da PGEV, que fossem estáveis, para poderem ser facilmente utilizados clinicamente, e que tivessem pouca ou nenhuma ação sobre o tonus vascular, diminuindo os riscos do emprego.

Todos os sintetizados até o momento ainda apresentam ação inibitória da agregação muito menor do que a prostaciclina e a PGE e vários possuem ação vasoconstritora. No momento, os análogos que se têm mostrado mais convenientes e talvez venham a ser utilizados no mercado são a 6,9 thi-PGI -⁵⁷; 6,9 - imino PGI⁵⁸, e o inter-m-fenileno-PGE⁵⁹.

A utilização de drogas que aumentam a produção ou diminuem o catabolismo da prostaciclina é um outro tipo de tratamento cujo estudo tem despertado grande interesse. Vermylem e col.⁶⁰ demonstraram que Bay G6575, que tem a propriedade de inibir o desenvolvimento de trombose experimental em animais, mas que não apresenta "in vitro" qualquer ação sobre as plaquetas e sobre o sistema de coagulação, agiria aumentando o nível de prostaciclina no sangue.

O Furosemide teria o mesmo efeito, possivelmente, inibindo a produção de 5-hidroxi-prostaciclina desidrogenase, que seria responsável pela rápida destruição da prostaciclina (Chamone, comunicação pessoal.)

Nesse mesmo grupo poderiam ser colocadas as drogas que agem talvez sinergicamente ou dependentemente da prostaciclina, que são as inibidoras da fosfodiesterase, permitindo um aumento do AMPc. Exemplo típico é o dipiridamol, que exerce ação antitrombótica impor-

tante⁶¹ e cujo mecanismo de ação é bastante discutido, havendo evidências de que também aumentaria a produção de prostaciclina na parede vascular⁶².

A outra maneira de alterar o equilíbrio da balança seria interferindo sobre a produção ou ação da tromboxane A₂. Assim, alguns análogos sintéticos do endoperoxídeo PGH₂ inibem por competição a agregação induzida pelo ácido araquidônico e pelo próprio PGH₂⁵³. O imidazol e derivados inibem diretamente a ação da tromboxane sintetase, embora sejam fracos inibidores da agregação⁶⁴.

Esse tipo de tratamento teria um interesse muito grande porque, inibindo a formação de TXA₂, haveria sobra de endoperoxídeos cíclicos, transformados em prostaciclina pela parede vascular ou PGD₂ pelo plasma, aumentando a inibição da agregação plaquetária. Entretanto, as substâncias de que se dispõem no momento ainda não são as ideais. Os análogos da PGH₂ são vasoconstritores "in vitro" e o imidazol e derivados parecem não penetrar com facilidade na membrana plaquetária⁶⁵. Essa linha parece ser promissora, mas ainda demanda a pesquisa de novas drogas e a comprovação de sua eficiência.

Outro caminho que está sendo explorado é o da síntese de antagonistas de TXA₂ em sua ação agregante. Duas substâncias têm sido testadas in vitro, a 9,11-imunoepoxi-PGH₂⁶⁶ e a TXA₂ pínamo⁶⁷, as quais podem vir a ter uso clínico no futuro².

Outra idéia muito atraente é a do bloqueio do TXA₂ por anticorpos antitromboxane, produzidos a partir de seu derivado estável. Esses anticorpos seriam utilizados em doentes com alto risco de trombose⁴. Há evidências de que esse mecanismo poderia funcionar; entretanto, suas implicações em termos de hemorragia ainda não foram estimadas.

O mais controvertido tipo de tratamento ligado total ou parcialmente ao sistema tromboxane - prostaciclina é constituído pelos inibidores da prostaglandina endoperoxídeo sintetase, como os antiinflamatórios não esteróides

Se voltarmos à idéia da balança entre prostaciclina e tromboxane, vamos verificar que o efeito do uso dessas substâncias poderia ser catastrófico (fig. 6). Inibida a prostaciclina sintetase, teríamos tanto um bloqueio da produção de TXA₂ em nível plaquetário, que é um efeito desejável, como um bloqueio da produção de prostaciclina ao nível da parede vascular, que seria um efeito indesejável, tornando portanto, incongruente o uso de tais drogas.

O bloqueio da síntese do TXA₂ das plaquetas é um objetivo plenamente justificável como nos casos de próteses colocadas ao longo do sistema circulatório. Dale e col.⁶⁸ demonstraram diminuição estatisticamente de tromboembolismo arterial, em doentes com próteses valvares, quando utilizado um tratamento com Warfarin e aspirina, em comparação com doentes tratados apenas com Warfarin.

Quanto ao uso dos antiinflamatórios não esteróides nas moléstias cardiovasculares em geral, sua utilidade tem sido

muito mais polêmica, sendo a dupla ação sobre a balança responsabilizada pelos resultados contraditórios encontrados na literatura, como, por exemplo, na prevenção do reinfarto do miocárdio^{69,70}.



Fig. 6 - Eventual efeito dos inibidores da prostaciclina endoperoxídeo sintetase.

A aspirina acentua irreversivelmente o efeito ciclooxygenase da endoperoxídeo - sintase⁷¹, enquanto outras drogas como a indometacina inibem a ação dessa enzima de maneira reversível⁷². A ingestão de uma dose terapêutica única de aspirina provoca alterações plaquetárias que duram de 7 a 10 dias¹⁵.

A ação inibitória da aspirina na produção e/ou liberação de prostaciclina está bem demonstrada, tanto em cultura de célula sendoendoteliais como em fragmentos de vasos de várias espécies animais^{23,73}.

Efeito trombogênico de altas doses de aspirina foi demonstrado experimentalmente, no coelho, por Keltom e col.⁷⁴, na tromboflebite, e por Buchanan e col.⁷⁵, na trombose arterial.

Entretanto, parece existir uma diferença de comportamento da aspirina em relação às plaquetas e à parede vascular: já em 1977 Vargaftig e Lefort⁷⁶ sugeriram que a inibição da ciclooxygenase da parede vascular é de curta duração, fato depois comprovado em outros trabalhos⁷⁷. Assim, tanto no coelho como no homem, verificou-se que a aspirina em doses baixas aumenta o tempo de sangramento e em doses altas, em geral acima das usadas clinicamente, esse efeito não aparece. O'Grady e Moncada⁷⁸ justificam esse efeito paradoxal da aspirina pelo fato de que em doses baixas haveria apenas

bloqueio do TXA , enquanto em doses altas haveria também bloqueio da prostaciclina.

Vários trabalhos experimentais e clínicos têm sido realizados tentando estabelecer doses e regimes que permitam a utilização terapêutica desse comportamento diferente. No rato, Villa e col.⁷⁹ demonstram ser as plaquetas cerca de 7 vezes mais sensíveis à aspirina do que a parede arterial, sendo a duração da ação também mais prolongada mas plaquetas.

No homem, Szczeklik e col.⁸⁰ mostraram que uma dose de 600 mg bloqueia a atividade plaquetária completamente por 2 a 3 dias. Patrono e col.⁸¹ mostraram, por radioimunoensaio, bloqueio de 90% na produção de TXB₂ , que persistia durante pelo menos 72 horas, após uma única dose de 100 a 400 mg de aspirina.

Masotti e Col.⁸², estudando em 24 voluntários humanos a agregação plaquetária e a concentração de prostaciclina no sangue, após isquemia provocada, demonstraram que doses de aspirina de 3,5 mg/kg inibiam em 50% a agregação plaquetária induzida por ADP, adrenalina e colágeno, enquanto doses de 4,9mg/kg eram necessárias para inibir a prostaciclina. Ademais, a inibição da agregação se mantinha por 72 horas e a da prostaciclina revertia após 24 horas.

Esses trabalhos levaram os vários autores a proporem a utilização de doses de 300 a 600 mg de aspirina cada 3 dias, para prevenção de moléstias tromboembólicas^{70,82}. Tem sido também proposta a utilização de tais doses associadas com drogas inibidoras da fosfodiesterase plaquetária como o dipiridamol, para conseguir uma ação antitrombótica sinérgica¹⁶.

O outro caminho óbvio seria a utilização de drogas que impedissem a agregação plaquetária por mecanismos que não a inibição de prostaglandinas e que manteriam, ainda, a ação da prostaciclina vascular. A droga que está em estudo mais intenso no momento é a ticlopidina⁸³⁻⁸⁵

RELACIONAMENTO COM O SISTEMA DE COAGULAÇÃO E COM A HEPARINA

O relacionamento entre o sistema prostaglandina e os demais mecanismos de coagulação é ainda pouco conhecido: como já foi mencionado, a trombina, enzima que transforma o fibrinogênio em fibrina e induz agregação plaquetária, também é um potente liberador de prostaciclina da parede vascular, sugerindo haver um balanço entre todos esses mecanismos.

Nós investigamos, juntamente com o Dr. John Westwick, no King's College Hospital de Londres, a ação da heparina no efeito prostaciclina-símile da parede da aorta de ratos. Para tal, pequenos fragmentos de aorta de ratos foram incubados em plasma rico em plaquetas com e sem heparina, sendo verificado em parte dos experimentos uma inibição da ação tipo prostaciclina. Com duas dosagens diferentes de prostaciclina sintética, entretanto, não conseguimos reproduzir o mesmo efeito.

Posteriormente, Eldor e Weksler⁸⁶ demonstraram "in vitro" um efeito inibidor dose dependente da heparina na ação da prostaciclina. Esse efeito também não foi verificado por Vargaftig (comunicação pessoal). Supomos que essa

diferença de resultados observada com a utilização de prostaciclina sintética dependa da relação de doses da heparina e prostaciclina, empregadas pelos diferentes experimentadores, ou do pH das soluções utilizadas.

Pela neutralização da trombina, a heparina poderia, ao menos teoricamente, inibir a produção da PGI₂ da parede vascular. De outro lado, um efeito inibidor da adenociclasase plaquetária pela heparina foi proposto, podendo esse efeito ser o opositor à ação da prostaciclina. Esses mecanismos têm sido invocados para explicar a plaquetopenia e a eventual deposição intravascular de plaquetas durante o uso terapêutico da heparina.

PAPEL NA ATEROSCLEROSE

Existem atualmente evidências, realçadas após os trabalhos de Duguid em 1946⁸⁷, de que a formação de trombos murais teria um papel importante no desenvolvimento das placas de aterosclerose. Foi demonstrada a presença de endotélio sobre esses trombos e a presença de restos de fibrina e de plaquetas em placas de aterosclerose aórtica⁸⁸.

Acompanhando aterosclerose experimental, demonstrou-se que as células que constituem o espessamento intimal fibro-elástico apresentam caracteres morfológicos sugestivos de células musculares lisas⁸⁹. Foi também demonstrado, pelo grupo de Ross⁹⁰⁻⁹², que as plaquetas poderiam ter papel importante na promoção dessa proliferação celular, pela liberação de um fator, provavelmente um polipeptídeo que induz ao crescimento de células musculares lisas. O mesmo grupo também mostrou que, em macacos com hemocisteminemia crônica, que provoca importante perda do endotélio, a administração de dipiridamol diminuía a proliferação fibromuscular que normalmente ocorre após a agressão endotelial⁹³.

Se na lesão endotelial, a aderência e a agregação de plaquetas têm, aparentemente pelo menos, participação no desenvolvimento das placas de aterosclerose, nada mais lógico do que imaginar que o balanço prostaciclina-tromboxano A₂, tem algo a ver com seu desenvolvimento.

A relação entre prostaglandinas e aterosclerose experimental, induzida por alterações dietéticas, ainda é controversa, às vezes sendo encontrado aumento, às vezes diminuição das prostaciclinas nos animais ateroscleróticos⁹⁴⁻⁹⁵.

As lesões avançadas de aterosclerose apresentam altas concentrações de peróxidos lipídicos que, como demonstraram Gryglewski e col.⁹⁶, inibem a formação enzimática de prostaciclina; esse fato poderia justificar a formação de trombos sobre as placas, mas não explicaria a existência das próprias placas. Poderia, entretanto, indicar um caminho terapêutico para a prevenção da trombose arterial e do agravamento da aterosclerose, pela redução dos níveis de peróxidos lipídicos. Moncada e Vane¹⁵ propuseram emprego de drogas antioxidantes, como a vitamina E.

Uma pergunta que se impõe é até que ponto o balanço de ácidos graxos poderia influir, através do mecanismo das prostaglandinas, no

desenvolvimento da trombose e da aterosclerose.

Em 1978, Dyerberg e Bang⁹⁷ chamaram atenção para o fato de que esquimós da Groenlândia apresentavam risco muito menor de moléstia coronária do que dinamarqueses e também, maior tendência à hemorragia, com prolongamento do tempo de sangramento⁹⁸. Levantaram então a hipótese de que esse fato estaria relacionado a um comportamento diferente das plaquetas, devido aos baixos níveis de ácido araquidônico e altos níveis de ácido eicosapentanoico nos fosfolípidos dos esquimós. Ao contrário do ácido araquidônico, que aumenta a agregação plaquetária reduzida pelo ADP, o ácido eicosapentanoico a inibe.

Esses mesmos autores, juntamente com Moncada e Vane⁹⁹, em 1978, demonstraram que o ácido eicosapentanoico não induz à agregação plaquetária porque dá origem nas plaquetas ao tromboxano A₂, que não produz esse efeito. De outro lado, esse ácido pode ser³ utilizado pela parede vascular para produzir substância antiagregante, provavelmente uma Δ -17 prostaciclina, a PGI₂.

Essa diferença na³ constituição dos fosfolípidos dos esquimós não seria devida a um problema genético mas à sua dieta alimentar; o esquimó alimenta-se basicamente de carne e óleo de peixes, ricos em ácido eicosapentanoico. Esses autores propõem, então, que talvez uma alteração da dieta em direção a alimentos que contenham grande quantidade de ácido eicosapentanoico pudesse ser, pelo menos, tão efetiva na prevenção de moléstias cardiovasculares, como o uso de drogas que alteram a função plaquetária. Vane e Moncada¹⁰⁰, a partir dessas observações chamam atenção para a importância de pesquisas futuras sobre o efeito de algumas gorduras polinsaturadas “específicas”. As gorduras polinsaturadas como um todo poderiam ter menor importância para a prevenção das moléstias cardiovasculares do que as “específicas”, particularmente o ácido eicosapentanoico ou seus precursores, que levariam a um aumento relativo das prostaciclins.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mecanismo do balanço das prostaglandinas como fator de equilíbrio na hemostasia é extremamente atraente. Inúmeros artigos são publicados anualmente em torno do assunto, embora ele seja ainda muito novo; a “febre da prostaciclina” iniciou-se há aproximadamente 4 anos e algumas perguntas aguardam respostas: qual é o valor real desse mecanismo? Não estaria sua importância sendo superestimada?

Alguns trabalhos esporádicos têm sugerido não atribuir à prostaciclina papel tão proeminente. Assim, Pareti e col.²⁰ descreveram o caso de uma doente com deficiência congênita de ciclooxigenase com a conseqüente falta de formação de TXA₂ nas plaquetas e de prostaciclina pela parede venosa; essa doente apresentava discreta síndrome hemorrágica mas nenhuma tendência à trombose, mesmo após repetidas operações cirúrgicas.

Quanto à própria ação da aspirina, similar à desse caso descrito, existem dúvidas. Na realidade, com seu uso, não se tem observado aumento da incidência de trombose ou da

mortalidade mas, pelo contrário, diminuição da trombose ou de seus sintomas¹⁰¹. Mesmo em animais, um efeito de aumento da trombose foi verificado experimentalmente apenas com doses muito altas de aspirina^{74,75}. De outro lado, mais recentemente, estudando maior número de indivíduos, Dybdahl e col.¹⁰² não puderam comprovar os achados prévios de O'Grady e Moncada⁷⁸ já citados, de que em doses altas a aspirina não altera o tempo de sangramento no homem.

Esses dados levantam alguma suspeita quanto à ação da prostaciclina como elemento muito importante na prevenção da agregação plaquetária intravascular localizada.

De outra parte, Steer e col.¹⁰³, utilizando anticorpos anti-5,6 dihidro-PGI₂ e estudando o comportamento de plaquetas humanas em relação à sua agregação e níveis de AMP cíclico, obtiveram resultados que sugerem não ser a prostaciclina um hormônio circulante fisiologicamente importante como inibidor da agregação plaquetária.

Em conclusão, é possível que o papel das prostaglandinas e seus derivados na hemostasia e na trombose seja mais modesto do que o imaginado no início por seus descobridores, e que a ação dessas substâncias talvez venha a constituir-se apenas em mais um mecanismo, entre os vários já conhecidos e os ainda a conhecer. Benefícios certamente deverão advir de todo o esforço envolvido em seu estudo, sua real extensão, entretanto, só o futuro mostrará.

REFERÊNCIAS

1. Andersen N. - Program notes on structures and nomenclature. Ann. N.Y. ac. Sci. 180: 14, 1971.
2. Ramwell, P.; Shaw, J. - The biological significance of the prostaglandins. Ann. N.Y. ac. Sci., 180: 10, 1971.
3. Rocha e Silva, M. - Fundamentos da farmacologia e suas aplicações terapêuticas. J. ed. São Paulo, EDART, Brasília, INL, 1973. p. 223.
4. Smith, J. B. - The prostanooids in hemostasis and thrombosis. Am. J. Pathol. 99: 743 1980.
5. Vargaftig, B. B. - Les prostaglandines: Problèmes d'actualité. Bull. Inst. Pasteur 77: 201, 1979.
6. Von Euler, U. S. - Introductory remarks. Symposium on prostaglandins. Ann. N.Y. Acad. Sci. 18: 6, 1971.
7. Bergström, S.; Ryge, R.; Samuelsson, B.; Sjövall J. - Prostaglandins and related factors. The structure of prostaglandin E₁, F₁, and F₁. J. Biol. Chem. 238: 3555, 1963.
8. Kunze J.; Vogt, W. - Significance of phospholipase A for prostaglandin formation. Ann. N.Y. Acad. Sec 180: 123, 1971.
9. Moeze, J. - Influence of prostaglandins on platelet adhesiveness and platelet aggregation. Prostaglandins Proceeding of the II Nobel Symposium, 1966. Edited by S. Bergström and B. Samuelsson, London Interscience p. 241, 1967. Cit. por Smith, 1980.
10. Vargaftig B. B.; Chignard, M.; Lefort, J. - Papel da síntese de prostaglandinas na agregação plaquetária. Ciência e Cultura, 31: 147, 1979.
11. Vargaftig, B. B.; Zirin P. - Platelet aggregation induced by arachidonic acid is accompanied by release of potential inflammatory mediators distinct from PGE₂ and PGF₂ a. Nature (New Biol.) 244: 114 1973.
12. Silver, M. J.; Smith, J. B.; Ingeman, C.; Koesis, J. J. - Arachidonic acid-induced human platelet aggregation and prostaglandin formation. Prostaglandins, 4: 863, 1973.
13. Hamberg, M.; Samuelsson, B. - Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 899. 1973.
14. Miyamoto, T.; Ogino, N.; Yamamoto, S.; Hayaishi, O. - Purification of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes. J. Biol. Chem. 251:

- 2629, 1976.
15. Moncada, S.; Vane J. R. - Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. *Br. Med. Bull.* 34: 129, 1978.
16. Hamberg, M.; Svensson, J.; Samuelsson, B. - Thromboxanes A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 2994, 1975.
17. Needleman, P.; Minkes, M. S.; Raz, A. - Thromboxanes: Selective biosynthesis and distinct biological properties. *Science*, 193: 163, 1976.
18. Lagarde, M.; Byron, P. A.; Vargaftig, B. B.; Dechavanne, M. - Impairment of platelet thromboxane A₂ generation and of the platelet release reaction in two patients with congenital deficiency of platelet cyclooxygenase. *Br. J. Haematol.* 38: 251, 1978.
19. Malmsten, C.; Hamberg, M.; Svensson, J.; Samuelsson, B. - Physiological role of an endoperoxide in human platelets: hemostatic defect due to platelet cyclooxygenase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 1446, 1975.
20. Pareti, F. I.; Mannucci, P. M.; D'Angelo, A.; Smith J. B.; Sautebin L.; Galli G. - Congenital deficiency of thromboxane and prostacyclin. *Lancet*, 1: 898, 1980.
21. Mielke, C. H.; Kaneshiro M. M.; Maher I. A.; Weiner, J. M.; Rapaport, S. I. - The standardized normal Ivy bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood*, 34: 204, 1969.
22. Stuart, M. J.; Murphy, S.; Oski, F. A.; Evans, A. E.; Donaldson, M. H.; Gardner, F. H. - Platelet function in recipients of platelets from donors ingesting aspirin. *Engl. J. Med.* 287: 1105, 1972.
23. Smith, J. B.; Willis, A. L. - Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature (New Biol.)* 231: 235 1971.
24. Ferreira S. H.; Moneada S.; Vane J. R. - Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature (New Biol.)* 231: 237 1971.
25. Hanushka, P. V.; Colwell, J. A.; Loadholt, C. B.; Garner, B. - Increased thromboxane synthesis by platelets from patients with diabetes mellitus. Studies with a thromboxane synthetase inhibitor and a receptor antagonist. *Clin. Res.* 27: 296A, 1979.
26. Mehta J.; Mehta, P.; Conti, C. K. - Platelet function studies in coronary heart disease. IX Increased platelet prostaglandin generation and abnormal platelet sensitivity to prostacyclin and endoperoxide analog in angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 46: 943, 1980.
27. Davies, G. L.; Sobel, M.; Salzman, E. W. - Elevated plasma fibrinogen and thromboxane B levels during cardiopulmonary bypass. *Circulation* 61: 808, 1980.
28. Saba, S. R.; Mason R. G. - Studies of an activity from endothelial cells that inhibits platelet aggregation of serotonin release, and clot retraction. *Tromb. Res.* 5: 747, 1974.
29. Moncada, S.; Gryglewski, R.; Bunting S.; Vane, J. R. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides into an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, 263: 663, 1976.
30. Johnson, R. A.; Morton, D. R.; Kinner, J. H.; Gorman, R. R.; McGuire, J. C.; Sun, F. F.; Whittaker N.; Bunting, S.; Salmon, J.; Moncada, S.; Vane J. R. - The chemical structure of prostaglandin X (prostacyclin). *Prostaglandins*, 12: 915, 1976.
31. Moncada, S.; Higgs, E. A.; Vane, J. R. - Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin X), a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet*, 1: 18, 1977.
32. Johnson, R. A.; Lincoln, F. H.; Thompson, J. L.; Nidy, E. G.; Mizesak, S. A.; Axen U. - Synthesis and stereochemistry of prostacyclin and synthesis of 6-ketoprostaglandin F. *J. Am. Chem. Soc.* 99: 4182 1977.
33. Moncada, S.; Herman A. G.; Higgs, E. A.; Vane, J. R. - Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall: An explanation for the antithrombotic properties of vascular endothelium. *Thromb. Res.* 11: 323, 1977.
34. MacIntyre, D. E.; Pearson, J. D.; Gordon, J. L. - Localization and stimulation of prostacyclin production in vascular cells. *Nature* 271: 549, 1978.
35. Marcus, A. J.; Weksler, B. B.; Jaffe, E. A. - Enzymatic conversion of prostaglandin endoperoxide H₂ and arachidonic acid to prostacyclin by cultured human endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 253: 7138, 1978.
36. Isakson, P. C.; Raz, A.; Denny, S. E.; Pure E.; Needleman, P. - A novel prostaglandin is the major product of arachidonic acid metabolism in rabbit heart. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 101 1977.
37. Pace-Asciak, C. - Isolation, structure and biosynthesis of 6-keto-prostaglandin F_{1α} in the rat stomach. *J. Am. Chem. Soc.* 98: 2348, 1976.
38. Whorton, A. R.; Smigel, M.; Oates, J. A.; Fröllich, J. C. - Regional differences in prostacyclin formation by the kidney: Prostacyclin is a major prostaglandin of renal cortex. *Biochim. Biophys. Acta* 529: 176 1978.
39. Gryglewski, R. J.; Korbut, R.; Ocetkiewicz, A. - Generation of prostacyclin by lungs in vivo and its release into the arterial circulation. *Nature*, 273: 765, 1978.
40. Moncada, S.; Korbut R.; Bunting S.; Vane J. R. - Prostacyclin is a circulating hormone. *Nature*, 273: 767, 1978.
41. Armstrong, J. M.; Lattimer, N.; Moncada, S.; Vane J. R. - Comparison of the vasodepressor effects of prostacyclin and 6-oxo-prostagnandin F_{1α} with those of prostaglandin E₂ in rats and rabbits. *Br. J. Pharmacol.* 62: 125, 1978.
42. Best, L. C.; Martin, T. J.; Russell R. G. G.; Preston, F. E. - Prostacyclin increases cyclic AMP levels and adenylate cyclase activity in platelets. *Nature*, 267: 850, 1977.
43. Tateos J. E.; Moncada S.; Vane, J. R. - Effects of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentration in human platelets. *Prostaglandins* 13: 389 1977.
44. Käser-Gnanzmann, R.; Jakdovd, M.; George J. N.; Linscher, E. F. - Stimulation of calcium uptake in platelet membrane vesicles by adenosine 3',5'-cyclic monophosphate and protein kinase. *Biochim. Biophys. Acta.* 466: 429, 1977.
45. Booyse, F. M.; Marr, J.; Yang D. C.; Guilian D.; Rafelson M. E., Jr. - Adenosine cyclic 3' 5' monophosphate dependent protein kinase from human platelets. *Biochim. Biophys. Acta.* 422: 60, 1976.
46. Korbut, R.; Moncada S. - Prostacyclin (PGI₂) and thromboxane. An interaction in vivo. Regulation by aspirin and relationship with anti-thrombotic therapy. *Thromb. Res.* 13(3): 489, 1978.
47. Ts'ao, C. H.; Holly, C. M.; Sirieno M. A.; Galluzzo, T. S. - Generation of a PGI₂ - like activity by deendothelialized rat aorta. *Thrombos. Haemostas.* 42: 873, 1979.
48. Weksler, B. B.; Ley, C. W.; Jaffe E. A. - Stimulation of endothelial cell prostacyclin production by thrombin, trypsin and the ionophore A23187. *J. Clin. Invest.* 62: 923 1978.
49. Higgs, A.; Moncada S.; Vane J. R. - Prostacyclin (PGI₂) inhibits the formation of platelet thrombi induced by ADP in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 61: 137P 1977.
50. Gryglewski, R. J.; Szczeklik A.; Nizankowski R. - Anti-platelet action of intravenous infusion of prostacyclin in man. *Thromb. Res.* 13: 153, 1978.
51. Addonizio V. P. Jr.; Strauss J. F.; Macarak, E. J.; Colman R. W.; Edmunds, L. H. Jr. - Preservation of platelet number and function with prostaglandin E₂ during total cardiopulmonary bypass in rhesus monkeys. *Surgery* 83: 619, 1978.
52. Stibbe J.; Ong, G. L.; Hoor, F. T.; Nauta, J.; Van Der Plas, P. M.; Vergroesen, A. J.; De Jong, D.; Krenning-Douma, E. - Influence of prostaglandin E₂ on platelet decrease in the heart-lung machine. *Haemostasis* 2: 294, 1973.
53. Woods, H. F.; Weston, M. J.; Bunting, S.; Moncada, S.; Vane J. R. - PGI₂ can replace heparin in haemodialysis in dogs. *Lancet* I: 1075, 1978.
54. Ginson, A. E. S.; Hughes R. D.; Mellon, P. J.; Woods, H. F.; Langley, P. G.; Canalese, J.; Williams R.; Weston, M. J. - Prostacyclin to prevent platelet activation during charcoal haemoperfusion in fulminant hepatic failure. *Lancet*, I: 173, 1980.
55. Radegran, K.; Papaconstantinou, C. - Prostacyclin infusion during cardiopulmonary bypass in man. *Thromb. Res.* 19: 267, 1980.
56. Szczeklik A.; Gryglewski, R. J.; Nizankowski R.; Skawinski, S.; Glusko P.; Korbut, R. - Prostacyclin therapy in peripheral arterial disease. *Thromb. Res* 19: 191, 1980.
57. Nicolaou, K. C.; Barnette, W. E.; Gasic, G. P.; Magolda, R. L. - 6,9-Thiaprostacyclin. A stable and biologically potent analogue of prostacyclin (PGI₂). *J. Am. Chem. Soc.* 99: 7736, 1977.
58. Bundy, G. L.; Baldwin, J. M. - The synthesis of nitrogen containing prostacyclin analogs. *Tetrahedron Lett* 16: 1371 1978. Cit. por Smith 3. B. 1980.
59. Nelson N. A.; Jackson, R. W.; Au, A. T.; Wynalds D. J.; Nishizawa, E. E. - Synthesis of di 4,5,6-trinor-3-7-inter -m-phenylene-3-oxaprostaglandins including one which inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins*, 10: 795, 1975.
60. Vermeylen, J.; Chamone D. A. F.; Verstraete, M. - Stimulation of prostacyclin release from vessel wall

- by Bay g 6575, an antithrombotic compound. *Lancet* 1: 518, 1979.
61. Lastoria, S. - Modelo experimental de trombose arterial no cão: ação da botropase, dipiridamol, heparina e dextran como tratamento coadjuvante na prevenção da retrombose experimental no cão. Tese de Doutorado, Fac. Med. Botucatu, 1978.
 62. Blass, K. E.; Block, H. U.; Föster W.; Pönicke, K. - Dipyridamole: a potent stimulator of prostacyclin (PGI₂) biosynthesis. *Brit. J. Pharmacol.* 68: 71, 1980.
 63. Fitzpatrick, F. A.; Gorman, R. R. - A comparison of imidazole and 9,11-azoprosta-5,13-dienoic acid: Two selective thromboxane synthetase inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta.* 539: 162 1978.
 64. Moncada, S.; Bunting, S.; Mullane, K.; Thorogood, P.; Vane, J. R.; Raz, A.; Needleman, P. - Imidazole: A selective inhibitor of thromboxane synthetase. *Prostaglandins* 13: 611, 1977.
 65. Yoshimoto, T.; Yamamoto, S.; Hayaishi, O. - Selective inhibition of prostaglandin endoperoxide synthetase by 1-carboxyalkylimidazoles. *Prostaglandins* 16: 529 1978.
 66. Fitzpatrick, F. A.; Bundy, G. L.; Gorman, R. R.; Honohan, T. - 9,11-epoxyiminoprostanoic acid is a thromboxane A₂ antagonist in human platelets. *Nature* 275: 764, 1978.
 67. Nicolaou, K. C.; Magolda, R. L.; Smith, J. B.; Abarony, D.; Smith, E. F.; Lefer, A. M. Synthesis and biological properties of pinane-thromboxane A₁ (PTA₁). A selective inhibitor of coronary artery constriction platelet aggregation and thromboxane formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 2560 1979.
 68. Dale, J.; Myhre, E.; Storstein O.; Stormorken H.; Efskind L. - Prevention of arterial thromboembolism with acetylsalicylic acid - a controlled clinical study in patients with aortic ball valves. *Am. Heart. J.* 94: 101 1977.
 69. Aspirin Myocardial Infarction Study Research Group: A randomized, controlled trial of aspirin in persons recovered from myocardial infarction. *JAMA* 243: 661, 1980.
 70. Mitchell, J. R. A. - Secondary prevention of myocardial infarction the present state of the Art. *Br. Med. J.* 28: 1128 1980.
 71. Roth G. J.; Stanford N.; Majerus P. W. - Acetylation of prostaglandin synthetase by aspirin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 3073, 1975.
 72. Koesis, J. J.; Hernandez J.; Silver M. J.; Smith J. B.; Ingberman, C. - Duration of inhibition of platelet prostaglandin formation and aggregation by ingested aspirin or indomethacin. *Prostaglandins*, 3: 141, 1973.
 73. Gorden, J. L.; Pearson J. D. - Effects of sulfinpyrazone and aspirin on prostaglandin I₂ (prostacyclin) synthesis by endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 63: 481 1978.
 74. Kelton J. G.; Hirsh, J.; Cartero C. J.; Buchana M. R. - Thrombogenic effect of high-dose aspirin in rabbits: Relationship to inhibition of vessel wall synthesis of prostaglandin I₂-like activity. *J. Clin. Invest* 62: 892, 1978.
 75. Buchanan, M. R.; Dejana, E.; Mustard, J. P.; Hirsh J. - Prolonged inhibition of PGI₂ and associated increased thrombogenic, effect in arteries after aspirin administration. *Thromb. Haemost.* 42: 61, 1979.
 76. Vargaftig, B. B.; Lefort, J. - *Eur. J. Pharmacol.* 43: 125, 1977. cit. por Moncada & Vane 1978.
 77. Czervionke, R. L.; Hoak, J. C.; Pry, G. L. - Effect of aspirin on thrombin-induced adherence of platelet to cultured cells from the blood vessel wall. *J. Clin. Invest.* 62: 847, 1978.
 78. O'Grady, J.; Moncada, S. - Aspirin: a paradoxical effect on bleeding time. *Lancet*, II: 780, 1978.
 79. Villa, S.; Livio, M.; de Gaetano, G. - The inhibitory effect of aspirin on platelet and vascular prostaglandins in rats cannot be completely dissociated. *Br. J. Haematol.* 42: 425, 1979.
 80. Szczeklik, A.; Gryglenski, R. J.; Grodzinska, L.; Musial, J.; Serwinska M.; Mareinkiewicz C. - Platelet aggregability, thromboxane A₂ and malonaldehyde formation following administration of aspirin to man. *Thromb. Res.* 15: 405, 1979.
 81. Patrono, C.; Ciabattini, G.; Pinca, E.; Pugliese, F. Castrucci, G., De Salvo, A.; Satta, M. A.; Peskar, B. A. - Low dose aspirin and inhibition of thromboxane B₂ production in healthy subjects. *Thromb. Res.* 17: 317, 1980.
 82. Masotti, G.; Poggesi, L.; Galanti, G.; Abbate, R.; Neri Serneri, G. G. - Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet*, II: 1213, 1979.
 83. Ashida, S.; Abiko, Y. Effect of ticlopidine and acetyl salicylic acid on generation of prostaglandin I₂-like substance in rat arterial tissue. *Thromb. Res.* 13: 901, 1978.
 84. Lips, J. M. P.; Sixtma, J. J.; Schiphorst, M. E. The effect of ticlopidine administration to humans on the binding of adenosine diphosphate to blood platelets. *Thromb. Res.* 17: 19, 1980.
 85. O'Brien J. R.; Etherington M. D.; Schuttneworth, R. D. - Ticlopidine-an antiplatelet drug: effects in human volunteers. *Thromb. Res.* 13: 245 1978.
 86. Eldor, A.; Weksler, B. B. - Heparin and Dextran sulfate antagonize PGI₂ inhibition of platelet aggregation. *Thromb. Res.* 16: 617, 1979.
 87. Duguid, J. B. - Pathogenesis of arteriosclerosis. *Lancet*, 2: 925 1949.
 88. Woolf N. - Thrombosis and atherosclerosis. *Br. Med. Bull.* 34: M37, 1978.
 89. Movat H. Z.; Mor, R. H. - Morphological and histochemical studies in arteriosclerosis. *Circulation*, 12: 484, 1955.
 90. Ross, R.; Glomset, J. A. - The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* 295: 369, 1976.
 91. Ross, R.; Glomset, J.; Harker, L. - Response to injury and atherogenesis. *Am. J. Pathol.* 86: 675, 1977.
 92. Ross, R.; Glomset, J.; Karyya, B.; Harker, L. A. - A platelet - dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71: 1207, 1974.
 93. Harker, L. A.; Ross, R.; Slichter S. J.; Scott L. R. - Hemocystine . Induced Arteriosclerosis - The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J. Clin. Invest.* 58: 731 1976.
 94. Masotti G.; Galanti, G.; Poggesi, L.; Curcio, A.; Neri Sereneri, G. G. - Early changes of the endothelial antithrombotic properties in cholesterol fed rabbits III . decreased PGI₂ production by aortic wall. *Thromb. Haemost.* 42: 423, 1979.
 95. Sinzinger, H.; Clopath, P.; Silberbauer, K. - Increased prostacyclin generation in minipig vascular tissue after atherogenic diet. *Thromb. Haemost.* 42: 424 1979.
 96. Gryglewski R. J.; Bunting, S.; Moncada S.; Flower, R. J.; Vane, J. R. - Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombus by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins*, 12: 685, 1976.
 97. Dyerberg, J.; Bang, H. O. - Dietary fat and thrombosis. *Lancet*, 1: 152, 1978.
 98. Dyerberg J.; Bang H. O. - Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in eskimos. *Lancet*, II: 433, 1979.
 99. Dyerberg, J.; Bang, H. O.; Stoffersen, E.; Moncada, S.; Vane J. R. - Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet*, 2: 117e 1978.
 100. Vane, J. R.; Moncada, S. - The antithrombotic effects of prostacyclin. *Acta. Med. Scand. (Suppl.)* 642: 11 1980.
 101. Canadian Cooperative Study Group: A randomized trial of aspirin and sulfinpyrazine in threatened stroke. *N. Engl. J. Med.* 299: 53, 1978.
 102. Dybdahl, J. H.; Elks, C.; Daal L.; Godal, H. C.; Frislid, K.; Wick, M.; Larsen, S. - Similar prolongation of bleeding - time after low and high doses of acetylsalicylic acid. *Thromb. Haemost.* 42: 241, 1949.
 103. Steer, M. L.; MacIntyre, D. E.; Levine, L.; Salzman E. W. - Is prostacyclin a physiologically important circulating anti-platelet agent? *Nature*, 283: 194, 1980.