

Inhibidores directos de la trombina: su papel en el tratamiento de la trombosis arterial y venosa

Eduardo Rocha, Carlos Panizo y Ramón Lecumberri

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina.
Universidad de Navarra. Pamplona.

Importancia de la trombina en la patogenia de la trombosis

La trombina ejerce un papel central en la fisiología de la hemostasia (fig. 1) y en el mecanismo patogénico de la trombosis. La generación de trombina provoca tanto activación plaquetaria como formación de fibrina, siendo éstas sus dos acciones clave. La trombina también interviene en la activación plaquetaria, induciendo la agregación y la secreción de mediadores vasoactivos. En cuanto a la formación de fibrina, la trombina escinde dos pequeños péptidos del fibrinógeno dando lugar a la formación de monómeros de fibrina solubles; éstos, tras la acción del factor XIIIa, que ha sido también activado por la trombina, se transforman en polímeros de fibrina insolubles que constituyen el coágulo sanguíneo. Pero, además, la trombina tiene otra serie de acciones de gran importancia. Por una parte, acelera su propia producción mediante la activación proteolítica de los factores V y VIII y tras la expresión de fosfolípidos en la superficie de las plaquetas activadas por la propia trombina y otros mediadores. Por otra, la trombina tiene una importancia crucial en su propia regulación, ya que, en presencia de trombomodulina, activa a la proteína C que, junto con la proteína S, inactiva a los factores Va y VIIIa impidiendo de esta manera la posterior generación de trombina. Además, la trombina activa el inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina (TAFI), el cual impide la generación de plasmina y, consiguientemente, la lisis de la fibrina. Por último, la trombina interacciona con las células endoteliales provocando la liberación de activador tisular del plasminógeno (t-PA), prostaciclina (PGI₂) y óxido nítrico (ON), por lo que induce activación del plasminógeno a plasmina e inhibición de la función plaquetaria. La trombina tiene otras acciones, no relacionadas con la activación plaquetaria y la formación de fibrina, que contribuyen a la trombosis y la aterosclerosis. Así, la trombina estimula las células endoteliales para liberar factores de crecimiento, citocinas y agentes vasoactivos y es mitogénica para las células musculares de la pared vascular y quimiotáctica para los leucocitos. Por todo esto, la trombina no sólo inicia la trombosis en los lugares de lesión vascular, sino que también puede tener importancia en la hipertrofia del músculo liso y en la aterogénesis.

Un aspecto muy importante en el proceso de formación del trombo es la capacidad de la trombina para unirse a la fibrina del coágulo^{1,2} y al factor Xa unido a las plaquetas activa-

das atrapadas dentro del trombo³. El factor Xa unido a las plaquetas activa a la protrombina, y de esta forma aumenta la cantidad de trombina disponible para unirse a la fibrina. La trombina unida a la fibrina permanece enzimáticamente activa y protegida de la inactivación por los inhibidores que actúan en fase fluida, concretamente la antitrombina III (ATIII) y el cofactor II de la heparina. De esta manera, la trombina presente en el interior del trombo provoca activación local de las plaquetas y conversión del fibrinógeno a fibrina, con el consiguiente crecimiento del tamaño del propio trombo. Este hecho es de particular importancia si se tiene en cuenta que entre el 70 y el 90% de la trombina formada durante la coagulación finaliza en el interior del coágulo. El trombo actúa así como reservorio, porque la trombina atrapada puede ser expuesta en la superficie del trombo, difundir espontáneamente o ser liberada en el momento de la lisis del coágulo. Éste, posiblemente, sea el motivo de la frecuente retrombosis tras el uso de trombolíticos en el tratamiento del infarto agudo de miocardio (IAM). La trombina tiene una estructura en la que destacan una serie de lugares, o dominios funcionales, que le permiten realizar sus múltiples acciones. La primera es el dominio catalítico, que es el centro activo de la enzima y es indispensable para la acción de la trombina en la formación del trombo. Después hay un lugar de reconocimiento de los sustratos, o dominio externo 1, que está cerca del dominio catalítico y es responsable de la unión de la trombina al fibrinógeno, los factores V, VIII y XIII, el receptor plaquetario de la trombina y la trombomodulina. Hay un dominio externo 2 que está implicado en la unión de la trombina a la ATIII y a la heparina. Por último, existe un lugar de unión apolar que está también implicado en la unión de los sustratos en el dominio catalítico.

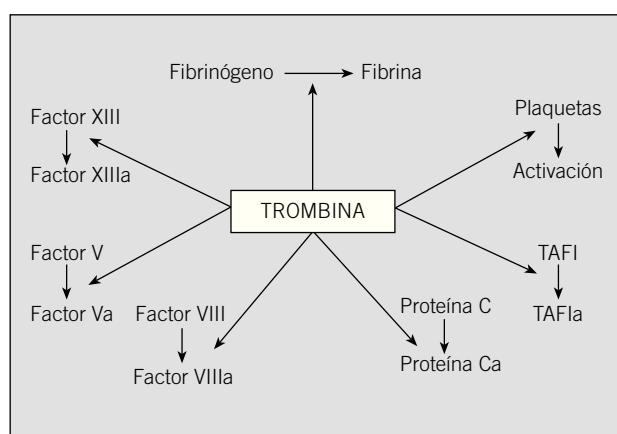


Fig. 1. Papel de la trombina en el mecanismo de la hemostasia.

Correspondencia: Dr. E. Rocha.
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Clínica Universitaria.
Avda. Pío XII, 36. 31008 Pamplona.

Correo electrónico: erocha@unav.es

Recibido el 5-9-2000; aceptado para su publicación el 15-11-2000

Med Clin (Barc) 2001; 116: 63-74

Limitaciones de la heparina en el tratamiento de la trombosis

En la actualidad el tratamiento antitrombótico en los procesos agudos se basa fundamentalmente en la utilización de la heparina, tanto no fraccionada (HNF) como de bajo peso molecular (HBPM). Este fármaco, pese a su gran utilidad, tiene una serie de inconvenientes. No es un inhibidor directo, sino que actúa potenciando la acción inhibidora de la ATIII, la cual tiene un mecanismo de acción múltiple, lo que implica dificultad para predecir la respuesta a una dosis y aumento del riesgo hemorrágico. Además, precisa monitorización de laboratorio e induce trombopenia en un porcentaje significativo de enfermos, sobre todo la HNF, y debe ser administrada por vía parenteral.

Pero lo más importante es que el complejo heparina-antitrombina es incapaz de inactivar a la trombina unida a la fibrina. La incapacidad de la ATIII o del cofactor II de la heparina para inactivar la trombina unida al coágulo puede ser debida a un problema de acceso de estos inhibidores a la trombina dentro del intersticio del coágulo, pero posiblemente sea debida a que la trombina, cuando se une a la fibrina, sufre un cambio conformacional que impide su interacción con los inhibidores. Se ha sugerido que el lugar de unión de la trombina a la fibrina es diferente del lugar de reconocimiento de los sustratos a través del cual la trombina se une al fibrinógeno⁴. Esta hipótesis apoyaría un modelo en el cual la trombina puede interactuar con el fibrinógeno cuando está unida a la superficie de la fibrina. La heparina no podría inactivar la trombina unida a la fibrina porque su lugar de interacción está ocupado cuando la enzima está unida al coágulo.

Otra limitación importante de la heparina es su propensión a unirse de manera no específica a proteínas plasmáticas o a proteínas liberadas de las plaquetas activadas o de las células endoteliales, lo que limita la cantidad de heparina disponible para interactuar con la antitrombina. Las principales proteínas plasmáticas que se unen a la heparina son la fibronectina, la vitronectina y la glucoproteína rica en histidina, mientras que entre las proteínas derivadas de las células están principalmente el factor 4 plaquetario y los multímeros de alto peso molecular del FvW que se liberan de las plaquetas o las células endoteliales cuando éstas son activadas por la trombina. Las diferencias de un paciente a otro en los valores de estas proteínas que se unen a la heparina explican la variabilidad en la respuesta anticoagulante a la heparina y en el fenómeno de resistencia a la heparina⁵. El factor 4 plaquetario puede ser de gran importancia

en el caso de la trombosis arterial, porque grandes cantidades de esta proteína se liberan en la vecindad del trombo arterial rico en plaquetas⁶.

Las HBPM se unen a las proteínas plasmáticas y a las superficies celulares con menor avidez que la HNF y, por tanto, no tienen las limitaciones farmacocinéticas de la heparina; estas diferencias en la unión a las proteínas probablemente contribuyan a la mayor biodisponibilidad a dosis bajas de estas heparinas y al hecho de que su respuesta anticoagulante es más predecible que la de la HNF. Sin embargo, siguen teniendo las limitaciones biofísicas de la HNF no pudiendo acceder el complejo HBPM-antitrombina a la trombina unida a la fibrina o al factor Xa unido a la superficie plaquetaria en el complejo protrombinasa.

Inhibidores directos de la trombina

El papel crucial de la trombina en la patogenia de la trombosis hace que la inhibición de la misma, mediante inhibidores sintéticos o recombinantes, constituya en la actualidad una de las vías más importantes de investigación en el tratamiento de los procesos trombóticos, habiendo despertado este grupo de fármacos, por su potencial eficacia clínica, un gran interés en los últimos años, como lo demuestra el gran número de excelentes revisiones publicadas sobre el tema^{4,6-18}. Mientras que la heparina inhibe la trombina activando la ATIII y el dermatán sulfato la inhibe activando al cofactor II de la heparina, los inhibidores directos de la trombina inactivan la enzima de una manera directa e independiente de la ATIII y del cofactor II de la heparina. En contraste con la heparina, los inhibidores directos de la trombina no tienen ni las limitaciones farmacocinéticas ni las limitaciones biofísicas de la HNF o las HBPM, porque ellos no se unen a las proteínas plasmáticas ni a las células y pueden acceder e inactivar la trombina unida al coágulo. Como consecuencia de todo ello, estos inhibidores tendrían mayor biodisponibilidad y su respuesta anticoagulante sería más predecible.

Los inhibidores directos de la trombina pueden ser divididos en dos grandes grupos (tabla 1), los derivados de sustancias naturales y los inhibidores sintéticos de bajo peso molecular. Entre los primeros estarían la hirudina y sus derivados y entre los segundos diversos péptidos tanto no covalentes como covalentes reversibles, así como ADN aptámeros. Aunque todos estos inhibidores se unen directamente a la trombina sus lugares de interacción son diferentes (fig. 2).

Hirudina

La hirudina es un producto conocido desde hace más de un siglo, ya que fue Haycraft el que en 1884 describió por primera vez el hecho de que la sanguijuela *Hirudo medicinalis* contenía una sustancia con propiedades anticoagulantes. Hoy se sabe que la hirudina es una proteína pequeña, compuesta por 65 aminoácidos y con un peso molecular de 7 kD. La molécula tiene una estructura consistente en una región globular en el extremo N terminal, constreñida y estabilizada por tres puentes disulfuro, y una cola cargada negativamente en el extremo C terminal, en el que hay predominio de aminoácidos ácidos. El extremo C terminal es muy importante para la unión de la hirudina al lugar de reconocimiento de la trombina. En el extremo C terminal existe una tirosina sulfatada en posición 63. Ahora se sabe que la hirudina no es una molécula única, sino que es el nombre genérico de una familia de hirudinas, habiéndose descrito diversas isoformas, todas ellas con un alto grado de homología.

TABLA 1
Inhibidores directos de la trombina

| |
|---|
| Derivados de sustancias naturales |
| Hirudinas recombinantes |
| Desirudina (Revasc, CGP 39393) |
| Lepirudina (Refludan, HBW 023) |
| Derivados de la hirudina |
| Hirugén |
| Hirulog (bivalirudina) |
| Inhibidores sintéticos de bajo peso molecular |
| Péptidos no covalentes |
| Argatrobán |
| Napsagatrán |
| Inogatrán |
| Melagatrán |
| H 376/95 |
| Péptidos covalentes reversibles |
| PPACK |
| Derivados boro-arginina |
| Efegatrán |
| ADN aptámeros |

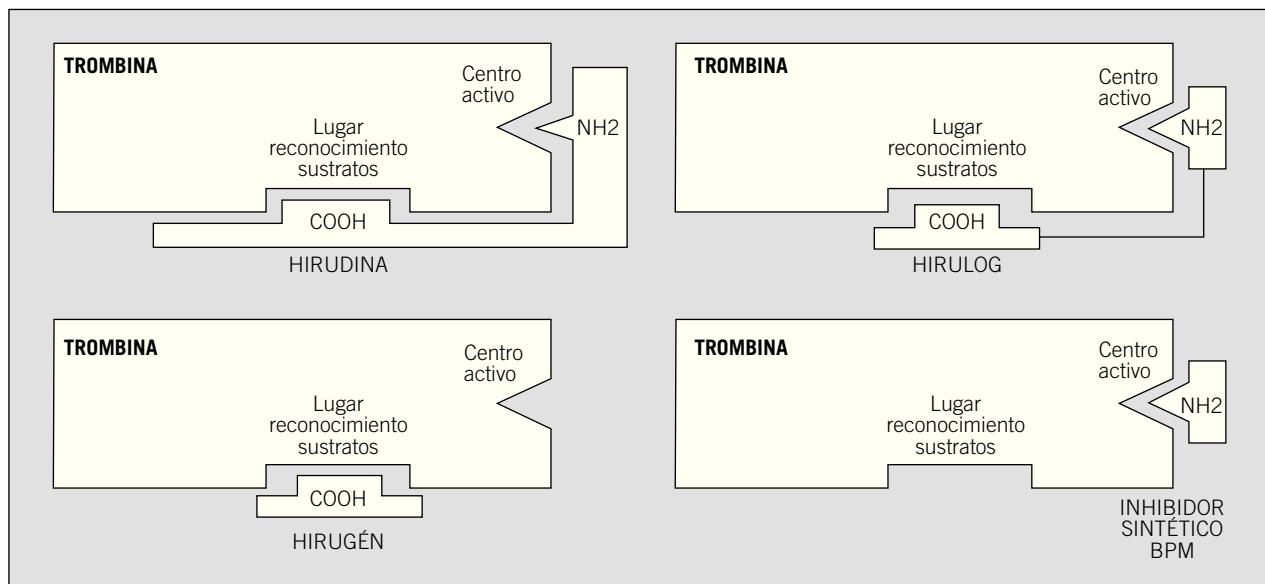


Fig. 2. Interacción de la trombina con sus inhibidores directos.

En los últimos años se han producido muchas formas recombinantes de hirudina y todas ellas se caracterizan porque les falta la sulfatación de la tirosina en posición 63, por lo que se denominan desulfatohirudinas recombinantes^{19,20}. Las hirudinas recombinantes presentan menor afinidad por la trombina que la hirudina natural.

La hirudina inactiva específicamente a la trombina formando con ésta un complejo irreversible y estequiométrico 1:1, con constante de disociación en el rango picomolar. La hirudina interactúa con la trombina en una superficie extendida, de forma que mientras la región N terminal se une al centro activo de la trombina, inhibiendo así la actividad catalítica de la trombina, la región C terminal se une a la región de reconocimiento de sustratos en la enzima²¹, inhibiendo la unión de la trombina al fibrinógeno, factores V, VIII y XIII, trombomodulina y receptor plaquetario para la trombina, pero no inhibe la unión de la trombina al complejo ATIII-heparina²². Esta interacción de la hirudina con la trombina parece que se produce de una manera bifásica. Posiblemente primero interactúe la región C terminal de la hirudina, gracias a la interacción de cargas de la superficie electropositiva de la trombina y la electronegatividad de la región C terminal de la hirudina; esta interacción produce un cambio en la conformación de la trombina que permite a la región N terminal de la hirudina unirse al centro activo de la enzima.

Una vez formado el complejo trombina-hirudina las funciones proteolíticas de la enzima quedan bloqueadas. Así, la hirudina previene no sólo la coagulación del fibrinógeno, sino también otras reacciones hemostáticas catalizadas por la trombina, tales como la activación de los factores V, VIII y XIII. De esta manera, la ausencia de activación de los factores V y VIII impide la retroalimentación positiva de activación de la protrombina, que conduce a una generación acelerada de trombina. La hirudina inhibe también la unión de la trombina a la trombomodulina endotelial, lo que provoca una reducción de la activación de la proteína C. La enzima, una vez unida a la hirudina, pierde su capacidad de inducir la agregación y reacción de liberación plaquetaria así como la síntesis de tromboxano A₂, aunque las reacciones plaquetarias inducidas por otros activadores no son influidas.

Un aspecto muy importante del mecanismo de acción de la hirudina lo constituye el hecho de que es capaz de acceder al gel de fibrina inhibiendo la trombina presente en el interior del coágulo, evitando, además, la adición de nueva trombina a dicho coágulo. Esta capacidad única de la hirudina, y otros inhibidores directos, de acceder e inhibir la actividad coagulante de la trombina unida al coágulo le confiere importantes ventajas sobre la heparina que, como hemos dicho anteriormente, es incapaz de acceder a la trombina unida al trombo.

La hirudina, cuando se administra por vía intravenosa tiene una vida media aproximada de 40 min. Cuando se administra por vía subcutánea, dado que tiene una absorción lenta, tiene una acción mucho más larga con una vida media de al menos 4 h. La administración repetida por esta vía permite mantener cifras relativamente constantes en sangre.

La concentración de hirudina en plasma puede ser medida por el tiempo de trombina o el APTT. También se puede determinar por sustratos cromogénicos o por técnicas de ELISA. En los trabajos clínicos se ha utilizado habitualmente el APTT como forma de medir la actividad anticoagulante de la hirudina. Sin embargo, hay datos que demuestran que este test puede no ser un método satisfactorio para monitorear la actividad anticoagulante de la hirudina.

Los estudios experimentales en modelos animales sugieren que la hirudina tiene poco efecto hemorrágico a las dosis que son eficaces como antitrombótico. En voluntarios sanos la hirudina no ha causado hemorragias ni prolongación significativa del tiempo de hemorragia. Todo ello ha sido usado como argumento para pensar que hay una gran ventana terapéutica para la hirudina. Sin embargo, no es lo mismo la hemorragia en modelos animales, ni siquiera en voluntarios sanos, que el riesgo de hemorragia cerebral o quirúrgica en un paciente, como se ha demostrado en diversos ensayos clínicos realizados en los últimos años. Además, uno de los problemas mayores para el uso de la hirudina es que hasta ahora no se ha identificado ningún antagonista de la acción anticoagulante de la misma.

A la vista de estos datos, y desde un punto de vista teórico, la hirudina no tiene la mayoría de los inconvenientes de la heparina que hemos citado anteriormente (**tabla 2**). Concre-

TABLA 2

Diferencias entre la heparina y la hirudina

| Heparina | Hirudina |
|---|---|
| Mecanismo de acción múltiple Actúa potenciando la acción inhibidora de la AT III No inactiva la trombina unida al coágulo Interacciona con proteínas plasmáticas Interacciona con proteínas liberadas de plaquetas y endotelio Induce trombopenia Precisa monitorización de laboratorio | Acción única sobre la trombina Mecanismo de acción directo, independiente de la AT III Inactiva la trombina unida al coágulo No interacciona con proteínas plasmáticas No interacciona con proteínas liberadas de plaquetas y endotelio No induce trombopenia ¿Precisa monitorización de laboratorio? |

tamente, actúa sólo sobre la trombina, no necesita cofactor, inactiva la trombina unida al coágulo, no se une a proteínas plasmáticas ni a proteínas liberadas de las plaquetas o de las células endoteliales, no interacciona con el endotelio y no induce trombopenia. Quizá sólo precise algún tipo de monitorización de laboratorio y sigue siendo necesaria su administración por vía parenteral.

Confirmando estas expectativas, la hirudina ha demostrado ser útil en diversos modelos experimentales de trombosis arterial y venosa²³⁻²⁸, así como en modelos experimentales de coagulación intravascular diseminada (CID)²⁹⁻³², en distintos tipos de animales. En algunos de estos estudios la hirudina fue más eficaz y segura que la heparina.

Derivados de la hirudina

El conocimiento de la interacción de la hirudina con la trombina ha permitido desarrollar péptidos sintéticos con la estructura de distintos fragmentos de la hirudina. El primero de ellos, denominado hirugén, es un dodecapéptido sintético que comprende los residuos 53 al 64 de la región C terminal. El hirugén se une al lugar de reconocimiento de los sustratos (dominio externo 1) en la trombina y bloquea la interacción de la enzima con el fibrinógeno, con el receptor para la trombina de las plaquetas y con otros sustratos fisiológicos de alto peso molecular. Al no interactuar con el centro activo de la trombina no es capaz de bloquear el efecto catalítico de la trombina sobre sustratos de bajo peso molecular³³. Añadiendo D-Phe-Pro-Arg-Pro-(Gly)₄ en el extremo N terminal, el hirugén pasa de ser un inhibidor débil de la trombina a ser un potente inhibidor bivalente denominado hirulog o bivalirudina³⁴. El hirulog interactúa con la trombina tanto en el centro activo como en el lugar de reconocimiento de los sustratos de la trombina. Sin embargo, la inhibición del centro activo de la trombina por el hirulog es transitoria, porque una vez formado el complejo la trombina puede romper lentamente el enlace Pro-Arg de la región N terminal, con lo que el hirulog se convierte en un inhibidor de baja afinidad similar al hirugén. Recientemente, se han desarrollado derivados del hirulog en los que no se rompe este enlace Pro-Arg para evitar el problema citado anteriormente.

El hirulog tiene una serie de ventajas sobre la hirudina, tanto desde el punto de vista de seguridad como de eficacia¹⁷. En cuanto a la seguridad el perfil beneficio-riesgo de la bivalirudina es mejor que el de la hirudina, por tener una vida media más corta, 24 min tras su administración intravenosa, y provocar una inhibición transitoria del centro activo; estos hechos hacen que la ventana terapéutica sea mayor. En cuanto a eficacia, la mayor ventana terapéutica permite la administración de dosis más elevadas, lo que puede significar una ventaja importante. Además, la bivalirudina al no evitar la hidrólisis mediada por la trombina, permite que ésta retenga su potencial de activación de la proteína C, mientras que la hirudina bloquea esta posibilidad. En apoyo de esta hipótesis, los inhibidores de la trombina reversibles

han demostrado una mejor relación beneficio-riesgo que la hirudina en los modelos experimentales animales. Además, la bivalirudina no aumenta el riesgo de hemorragias en relación con la heparina cuando se usa como adyuvante del tratamiento con estreptocinasa en pacientes con IAM³⁵ y en enfermos sometidos a angioplastia coronaria³⁶.

Inhibidores sintéticos de bajo peso molecular

Desde un punto de vista teórico, los requerimientos que debería reunir un inhibidor directo de la trombina de tipo sintético serían los siguientes: alta afinidad por la trombina y alta selectividad en relación con otras enzimas relacionadas, estabilidad química y metabólica, ausencia de toxicidad, escasa o nula unión a proteínas del plasma, alta biodisponibilidad por vía oral, y vida media adecuada cuando se administra por esta vía, y fácil monitorización³⁷.

En la búsqueda de un inhibidor que reúna todos estos requisitos se han investigado tres tipos de productos: péptidos no covalentes, péptidos covalentes reversibles y ADN aptámeros.

El grupo más numeroso lo constituye el de los péptidos no covalentes. Todos ellos son inhibidores reversibles de la trombina que actúan en el centro activo de la enzima. El prototipo de este grupo es el argatroban, que es un derivado sintético de la arginina que actúa como un inhibidor competitivo de la trombina³⁸. Aunque es un potente inhibidor *in vitro* los resultados en modelos experimentales animales y en humanos son diversos. Produce un efecto antitrombótico estable y predecible con un buen perfil de seguridad, y se utiliza en Japón, con el nombre de Novostan, en el tratamiento de la trombosis arterial y del infarto cerebral agudo de origen isquémico, estando pendiente su aprobación para utilización en determinadas enfermedades en los Estados Unidos.

Otro péptido no covalente es el napsagatrán³⁹, con el que se han completado ensayos en fase II⁴⁰, que parece tener un efecto terapéutico más predecible que la heparina y un perfil de seguridad más tolerable. Ha sido desarrollado específicamente para administración por vía intravenosa, lo que limita su administración al período de hospitalización.

Hay otros tres péptidos no covalentes, relacionados entre sí, denominados inogatrán⁴¹, melagatrán⁴² y H 376/95^{43,44}. Todos ellos son inhibidores potentes y selectivos de la trombina. El inogatrán, a la vista de los resultados del estudio TRIM⁴⁵, ha dejado de desarrollarse. El melagatrán es un derivado del inogatrán que ha demostrado ser útil en modelos experimentales de trombosis en animales⁴⁶ y en modelos de endotoxemia en cerdos^{47,48}. El H 376/95 es un profármaco del melagatrán que se administra por vía oral y, tras su absorción, se transforma en este último. Exhibe una absorción uniforme gastrointestinal y tiene un perfil farmacocinético reproducible. Tiene, como todos los inhibidores reversibles, un mejor perfil beneficio-riesgo que la hirudina en modelos animales. Por todo ello, constituye un nuevo anticoagulante oral, de futuro prometedor, que potencialmente podría ser

usado tanto como tratamiento inicial como a largo plazo en pacientes con trombosis venosa o arterial, sin necesidad de monitorización de laboratorio.

Junto a éstos existen otros péptidos no covalentes en fase menos avanzada de investigación, algunos de ellos con posibilidad de ser administrados por vía oral^{49,50}.

Entre los péptidos covalentes reversibles están el D-Phe-Pro-ArgCH₂Cl (PPACK) y sus derivados. El PPACK es el prototipo de esta clase de inhibidores que forman complejos covalentes con la trombina. El PPACK interactúa con el centro activo de la trombina e inhibe la enzima alquilando el centro activo histidina⁵¹. Se han realizado algunos estudios *in vivo* en modelos animales experimentales con PPACK, con resultados esperanzadores, pero los efectos tóxicos de este fármaco todavía no se han investigado adecuadamente y pueden limitar su uso en humanos¹². El D-Phe-Pro-Argborato es un derivado boroarginina del PPACK, y parece ser un inhibidor de la trombina ligeramente más específico que la molécula original⁵². Aunque este agente tiene actividad antitrombótica en modelos animales y tiene potencial bio-disponibilidad por vía oral⁵³, su reacción cruzada con otras serinproteasas ha detenido su desarrollo. Otro péptido sintético de este grupo es el efgatrán, un tripeptido arginal que actúa como inhibidor reversible de la trombina.

Entre los ADN aptámeros existe un 15-nucelótido ADN aptámero que se une al lugar externo 1 de la trombina con alta afinidad⁵⁴. Este aptámero, como el hirugén, bloquea la interacción de la trombina con sus sustratos pero no inhibe la hidrólisis mediada por trombina de los sustratos sintéticos de bajo peso molecular. Este compuesto es un potente anti-coagulante *in vitro* y es efectivo en modelos animales, pero su vida media de minutos limita su utilidad clínica. Recientemente, se han identificado ADN aptámeros que se unen al lugar externo 2 de la trombina⁵⁵; estos compuestos aún no se han testado en modelos animales, pero se sabe que tienen una vida media corta *in vivo*.

Todos estos péptidos sintéticos, por su pequeño tamaño, además de inhibir la trombina libre en plasma son capaces de inhibir la trombina unida al coágulo, responsable de la actividad procoagulante del trombo⁵⁶, y la trombina unida a fibrina soluble⁵⁷. Se ha visto que con la mayoría de estos inhibidores son necesarias dosis mucho más altas para prevenir la trombosis arterial que la venosa⁵⁸⁻⁶⁰, habiéndose demostrado que poseen ventajas cuando se les compara con la heparina. El principal efecto adverso de estos inhibidores es el riesgo de hemorragias, existiendo aún bastante debate acerca de si hay diferencias significativas o no con respecto a la heparina en cuanto a dicho riesgo. En los estudios clínicos no se han observado, en general, otros efectos secundarios.

Hasta el presente, la necesidad de infusión intravenosa representa una limitación importante para la aplicación clínica de la mayoría de estas drogas. Estos compuestos, para poder ser administrados por vía oral, deben tener alta potencia y selectividad, buena biodisponibilidad por vía oral, larga duración de su acción y bajas variaciones inter e intra individuales. En la actualidad, parece que los esfuerzos realizados en los últimos años para el desarrollo de inhibidores de la trombina que puedan administrarse por vía oral han llevado a la existencia de una serie de productos que parecen prometedores. Cuando estén disponibles pueden ser de gran utilidad para el tratamiento ambulatorio de tromboprolifaxis a largo plazo en pacientes de alto riesgo tras cirugía, para el tratamiento de pacientes con trombosis venosa profunda (TVP), tratamiento prolongado de angina inestable y otras indicaciones en sustitución de los anticoagulantes orales⁶¹.

Un problema común a todos los inhibidores directos de la trombina estriba en su monitorización en el laboratorio. Los datos clínicos y experimentales han demostrado que, al menos para algunos compuestos, el APTT no es un test satisfactorio. Parece que serían el test de ecarina y la medida del potencial endógeno de formación de trombina las técnicas que podrían tener mayor utilidad^{62,63}.

Uso de inhibidores directos de la trombina

Los resultados obtenidos en distintos modelos experimentales de trombosis, así como los de diferentes ensayos en fase I en humanos, animaron a la realización, a partir de comienzos de la década de los noventa, de diversos ensayos clínicos en fase II y III, muchos de los cuales han sido ya publicados y otros están en fase de realización. Se han realizado ensayos en diferentes situaciones clínicas, tales como IAM, angioplastia coronaria, angina inestable, profilaxis y tratamiento de trombosis venosa profunda, trombopenia inducida por heparina (HIT) y síndrome trombótico asociado a HIT (HITTS), CID y otras indicaciones. El inhibidor directo de la trombina más utilizado en estos ensayos ha sido la hirudina, pero también se dispone de abundante experiencia con hirulog y, aunque menos, hay algunos estudios realizados con diferentes inhibidores sintéticos de bajo peso molecular.

Coadyuvante del tratamiento trombolítico en IAM

En diversos ensayos clínicos se ha utilizado hirudina recombinante como coadyuvante del tratamiento trombolítico en pacientes con IAM, con la finalidad principal de reducir la incidencia de reoclusiones tras la finalización del tratamiento trombolítico. En una primera etapa se realizaron cuatro ensayos en fase II en los que se incluyeron pacientes sometidos a tratamiento trombolítico con activador tisular del plasminógeno recombinante (rt-PA) o estreptoquinasa (SK) y aspirina. En dos de los ensayos^{54,65} se usó desirudina y los resultados eran comparados con los obtenidos en un grupo control con heparina, y en los otros dos^{66,67} se utilizó lepirudina y no existía grupo control. En el primero de ellos, el ensayo TIMI 5⁶⁴, se aleatorizaron 246 enfermos para recibir heparina o una de cuatro dosis diferentes de hirudina, durante 5 días; las cuatro dosis de hirudina presentaron resultados similares. A las 18-36 h el 97,8% de los pacientes que recibieron hirudina, frente al 82,9% de los tratados con heparina ($p = 0,01$) presentaron permeabilidad de la arteria infartada. La incidencia de infarto o mortalidad durante la hospitalización fue significativamente menor ($p = 0,02$) con hirudina (11 de 162; 6,8%) que con heparina (14 de 84; 16,7%). La incidencia de complicaciones hemorrágicas mayores fue similar en ambos grupos de tratamiento.

En el ensayo TIMI 6⁶⁵ los enfermos fueron aleatorizados para recibir heparina o una de tres dosis diferentes de hirudina, durante 5 días. La incidencia de infarto o muerte durante la hospitalización y a las 6 semanas era menor con las dos dosis más altas de hirudina que con la dosis más baja o con heparina, pero las diferencias no eran significativas. En cuanto a las complicaciones hemorrágicas mayores la incidencia era similar en los 4 grupos de tratamiento. En el conjunto de los 4 ensayos citados la hirudina presentó una tendencia a aumentar la eficacia y la seguridad, pero en la mayoría de los casos los resultados no llegaron a ser significativos.

Estos estudios sirvieron para llegar a definir la dosis a utilizar en los 3 ensayos siguientes: los estudios GUSTO IIa⁶⁸ y TIMI-9A⁶⁹, en los que se utilizó desirudina, y el HIT-III⁷⁰, en

el que se administró lepirudina, en pacientes con IAM y tratamiento trombolítico con rt-PA o SK. En los tres ensayos (**tabla 3**) se comparó la administración de heparina con la de hirudina a dosis altas, los tres fueron planeados para incluir un número muy elevado de pacientes y los tres tuvieron que ser interrumpidos precozmente por aparecer una incidencia elevada de hemorragias mayores, sobre todo hemorragias cerebrales. Dicha incidencia era similar en los pacientes tratados con desirudina o heparina en los estudios GUSTO IIa y TIMI 9A, pero más alta en comparación con la descrita en estudios anteriores. En concreto en el ensayo GUSTO IIa los pacientes tratados con heparina tuvieron un porcentaje de hemorragias cerebrales significativamente mayor que los incluidos en el estudio GUSTO I, pero también es verdad que la dosis de heparina era un 20% menor en este último estudio que en el primero. Sin embargo, en el estudio HIT-III la incidencia de hemorragias cerebrales era mayor con lepirudina que con heparina.

A la vista de los resultados obtenidos en estos estudios se planeó una modificación de dichos ensayos reduciendo considerablemente la dosis de hirudina y, en alguno de ellos, también la de heparina. Concretamente, en los ensayos GUSTO IIb⁷¹ y TIMI 9B⁷² la dosis de desirudina se redujo a un bolo de 0,1 mg/kg seguido de una infusión de 0,1 mg/kg/h, mientras que de heparina se administró un bolo de 5.000 U seguido de una infusión de 1.000 U/h, ajustando el TTPA entre 55-85 s y manteniendo el tratamiento durante 72-96 h. En el ensayo HIT-IV⁷³ se comparó la administración de lepirudina (0,2 mg/kg en bolo seguido de 1 mg/kg/h en infusión) y heparina (25.000 U/día).

En el estudio GUSTO IIb⁷¹ se incluyeron 12.142 pacientes, de los que 6.069 recibieron hirudina y 6.073 heparina. La incidencia de muerte y/o infarto era significativamente menor a las 24 (el 1,3 frente al 2,1%; p = 0,001) y 48 h (el 2,3 frente al 3,1%; p = 0,001) en los pacientes que recibieron desirudina que en los tratados con heparina. A los 30 días la mortalidad era similar en ambos grupos (el 4,5 frente al 4,7%; p = 0,58), la recurrencia de IAM era menor en el grupo tratado con desirudina (el 5,4 frente al 6,3%; p = 0,04) y la incidencia total de ambas variables era menor (el 8,9 frente al 9,8%), pero sin alcanzar significación estadística (p = 0,058) en el grupo de hirudina. Cuando en un trabajo posterior se analizaron por separado los pacientes que recibieron como tratamiento trombolítico SK o rt-PA, la desirudina sí redujo la incidencia de muerte y/o IAM en los pacientes tratados con SK, pero no en los que recibieron rt-PA⁷⁴. La incidencia de complicaciones hemorrágicas mayores era similar en los pacientes tratados con desirudina o heparina, pero había un discreto aumento de hemorragias moderadas (el 8,8 frente al 7,7%; p = 0,03) y de transfusiones (el 9,7 frente al 8,6%; p = 0,04) en el grupo que recibió desirudina.

Sin embargo, en el estudio TIMI-9B⁷² la desirudina presentó resultados similares a los de la heparina tanto en cuanto a eficacia como a seguridad y en el HIT-IV^{73,74} la lepirudina mejoró la apertura temprana del vaso ocluido, redujo la tasa de recurrencia de IAM y disminuyó la mortalidad a los 30 días, pero ninguna de estas diferencias era significativa respecto al grupo de heparina. En ambos estudios la incidencia de complicaciones hemorrágicas era similar con hirudina y heparina. Cuando se suman los enfermos de los ensayos GUSTO IIb y TIMI 9B y se analizan de manera combinada no se encuentran diferencias significativas en la mortalidad ni en la incidencia de IAM en las primeras 24 h y a los 30 días¹³. Por tanto, de estos tres estudios se puede concluir que la hirudina produce una ligera y escasamente significativa reducción del riesgo de muerte o IAM a los 30 días. Hay algunas explicaciones para la falta de buenos resultados con hirudina en estos ensayos¹³⁻¹⁶:

1. Se ha sugerido que la dosis de hirudina reajustada es más baja de lo necesario para obtener eficacia, especialmente a los 30 días. Pero hay que tener en cuenta que en el ensayo GUSTO IIb la administración de hirudina se asociaba con más hemorragias mayores en general, y cerebrales en particular, en los pacientes sin elevación del segmento ST; estos resultados hacen pensar que un aumento de la dosis de hirudina se asociaría con una inaceptable tasa de hemorragias.

2. Puede que el tratamiento deba ser administrado durante un período de tiempo más largo para asegurar la completa reversión de la trombogenicidad de la pared lesionada del vaso. En este sentido, en el ensayo TIMI 9B la duración del tratamiento fue de 96 h frente a 72 en el GUSTO IIb y no había diferencias, pero es posible que todavía 96 h sea un período demasiado corto y sea necesario mantener el mismo más de una semana, o incluso varias semanas, para mejorar significativamente su eficacia.

3. Es posible que la hirudina deba ser administrada más precozmente, ya que en los estudios GUSTO IIb y TIMI 9B la hirudina comenzaba a infundirse entre 35 y 50 min después de la administración del trombolítico. Sin embargo, en el estudio TIMI 5, en el que los resultados fueron mejores, el tratamiento con hirudina se iniciaba antes de la trombólisis. Es posible que sea necesario administrar la hirudina inmediatamente después, o incluso antes de la terapéutica trombolítica, para obtener el máximo efecto en orden a neutralizar efectivamente la trombina liberada por los trombolíticos.

4. Se ha descrito con frecuencia la posibilidad de que la suspensión del tratamiento ocasione un rebote de hipercoagulabilidad.

5. Puede ser que la tromboinfiltración en esta situación cardiovascular sea simplemente de menor importancia de lo que previamente se pensaba.

TABLA 3

Ensayos clínicos con hirudina en IAM

| Ensayo clínico | GUSTO IIa ⁶⁸ | TIMI 9A ⁶⁹ | HIT-III ⁷⁰ |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Tratamiento con hirudina | | | |
| Bolo (mg/kg) | 0,6 | 0,6 | 0,4 |
| Infusión (mg/kg/h) | 0,2 | 0,2 | 0,15 |
| Duración (h) | 72-120 | 96 | 72 |
| Tratamiento con heparina | | | |
| Bolo (U) | 5.000 | 5.000 | 70/kg |
| Infusión (U/h) | 1.000-1.300 | 1.000-1.300 | 15/kg |
| Duración (h) | 72-120 | 96 | 72 |
| N.º de pacientes planeado | 12.000 | 3.000 | 7.000 |
| N.º de pacientes incluido | 2.564 | 757 | 302 |
| Hemorragias cerebrales, n (%) | 17/1.273 (1,3) | 6/375 (1,6) | 5/148 (3,4) |
| Grupo hirudina | | | 0/154 (0) |
| Grupo heparina | 9/1.291 (0,7) | 7/382 (1,9) | |

También se han publicado los resultados de tres ensayos con hirulog en pacientes con IAM recibiendo tratamiento trombolítico^{35,75,76}. Los dos primeros^{75,76} son dos pequeños ensayos piloto, incluyendo 45 y 68 enfermos, que aportaron resultados esperanzadores. El tercero es el estudio HERO³⁵ en el que se incluyeron 412 enfermos con IAM tratados con SK y aspirina. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir bivalirudina a dosis bajas (bolo de 0,125 mg/kg seguido de infusión de 0,25 mg/kg/h/12 h) o altas (bolo de 0,25 mg/kg e infusión de 0,5 mg/kg/h/12 h seguido de 0,25 mg/kg/h hasta completar 60 h) o heparina (bolo de 5.000 U seguido de infusión de 1.000-1.200 U/h/60 h). La dosis más alta de bivalirudina se asoció a mayor tasa de reperfusión, a los 90 y 120 min, de la arteria ocluida, con una incidencia menor de reoclusión. Asimismo, la incidencia de episodios clínicos a los 35 días, en los pacientes tratados en las primeras 3 h de aparición de los síntomas, era significativamente menor en los pacientes que recibieron bivalirudina a dosis altas que en los tratados con heparina (el 12,5 frente al 17,9%). Por último, la administración de hirulog se asoció a una disminución de las complicaciones hemorrágicas mayores respecto al tratamiento con heparina. Estos resultados, aunque deben ser refrendados en estudios más amplios, parecen sugerir que el hirulog puede mejorar los resultados obtenidos con hirudina¹⁷.

Por último, existe algún ensayo clínico, en pacientes con IAM recibiendo tratamiento trombolítico, en el que se ha utilizado alguno de los inhibidores sintéticos de bajo peso molecular, concretamente argatrobán^{49,77,78} y efegatrán^{79,80}, pero los resultados no han sido significativamente mejores que con heparina, e incluso en alguno de los estudios la suspensión del fármaco se acompañó de un efecto rebote con elevación de los valores de trombina en plasma.

Prevención de reestenosis tras angioplastia

La segunda indicación posible de los inhibidores directos de la trombina es la prevención de reestenosis tras angioplastia coronaria. Pese al uso rutinario de aspirina y heparina hay una tasa del 4-6% de oclusión aguda tras angioplastia, mayor en pacientes con angina inestable refractaria, que muchas veces es producida por trombosis. Esto obliga a disponer de agentes antitrombóticos más eficaces en esta situación.

Se han publicado algunos estudios en los que se ha valorado la eficacia de hirudina o sus derivados en esta indicación. Con desirudina se han realizado dos estudios, uno de ellos un pequeño ensayo en 113 enfermos en el que se comparó la administración de desirudina con la de heparina, con resultados similares⁸¹. El segundo es el estudio HELVETICA⁸², en el que se incluyeron 1.141 pacientes que fueron aleatorizados para recibir heparina (bolo de 10.000 U seguido de una infusión intravenosa de 15 U/kg/h/24 h) o hirudina (bolo de 40 mg e infusión intravenosa de 0,2 mg/kg/h/24 h, seguida o no de 40 mg cada 12 h durante 3 días por vía subcutánea). Se observó que la administración de desirudina reducía de manera significativa la incidencia total de diversos tipos de episodios clínicos (muerte, IAM, bypass coronario, stent coronario o nueva angioplastia) a los 4 días, pero a las 30 semanas los resultados eran similares con hirudina y heparina (tabla 4). Sin embargo, al analizar aisladamente el grupo de 236 enfermos en los que se había realizado angioplastia por presentar angina inestable, la desirudina redujo el riesgo relativo de presentar alguno de los episodios clínicos citados respecto a la heparina (RR = 0,41; p = 0,006). La incidencia de hemorragias era similar en ambos grupos.

TABLA 4

Ensayos clínicos con hirudina o derivados tras angioplastia

| Ensayo clínico | Episodios clínicos ^a , n (%) | |
|---|---|--------------------------------------|
| | Corto plazo | Largo plazo |
| HELVETICA ⁸² | | |
| Heparina (n = 382) Hirudina (n = 759) | 42 (10,9) 51 (6,7) p = 0,023 | 125 (32,7) 260 (34,2) p = 0,61 |
| HASI ⁸⁴ | | |
| Heparina (n = 2.039) Hirulog (n = 2.059) | 249 (12,2) 235 (11,4) p = 0,44 | 543 (26,6) 530 (25,7) p = 0,54 |

^aMuerte, IAM, bypass coronario o nueva angioplastia. ^b4 días o alta hospitalaria. ^c30 semanas o 6 meses.

Asimismo, existen dos trabajos publicados en los que se ha valorado la eficacia y seguridad de bivalirudina en estos enfermos. El primero es un estudio de escalada de dosis en 291 pacientes en el que, pese a la ausencia de un grupo control con heparina, los resultados fueron prometedores con las dos dosis más altas usadas⁸³. El otro era el estudio HASI⁸⁴, con 4.098 enfermos a los que se realizó angioplastia por presentar angina inestable o IAM. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir heparina (bolo de 175 U/kg e infusión de 15 U/kg/h/18-24 h) o hirulog (bolo de 1 mg/kg e infusión de 2,5 mg/kg/h/4 h y después 0,2 mg/kg/h/14-20 h). La administración de hirulog no mejoró la eficacia durante la hospitalización ni a los 6 meses (tabla 4), pero sí produjo una reducción del riesgo relativo de padecer algún episodio clínico (muerte, IAM, bypass coronario o nueva angioplastia) durante la hospitalización en el grupo de 704 pacientes en los que se realizó angioplastia postinfarto (RR = 0,64; p = 0,04), aunque este beneficio no persistió a los 6 meses (RR = 0,81, p = 0,17). Se observó una disminución significativa de la incidencia de complicaciones hemorrágicas mayores en los pacientes tratados con hirulog respecto a los que recibieron heparina (el 3,8 frente al 9,8%; p < 0,001).

A la vista de estos estudios parece que la hirudina o su derivado hirulog pueden ser más eficaces y seguros que la heparina en la prevención de reestenosis tras angioplastia coronaria. Abundando en esta idea, un metaanálisis reciente⁸⁵ apoya la idea de que el hirulog es una alternativa segura y eficaz a la heparina en pacientes con síndromes coronarios agudos.

En tres estudios⁸⁶⁻⁸⁸ se ha utilizado argatrobán en pacientes sometidos a angioplastia coronaria, pero el pequeño número de casos incluido en cada uno de ellos, así como la ausencia de grupo control con heparina, impide sacar conclusiones de ningún tipo respecto a su posible utilidad.

Angina inestable

Una tercera indicación en la que se ha valorado la eficacia de hirudina es en pacientes con angina inestable, en los que los estudios coronariográficos y angioscopicos han demostrado la importancia de la trombosis de la arteria coronaria en la patogenia del proceso. La aspirina reduce la incidencia de IAM y muerte en pacientes con angina inestable, mientras que la heparina también ha demostrado eficacia, pero su beneficio desaparece en cuanto se detiene el tratamiento.

Existen tres ensayos clínicos en los que se ha valorado la eficacia de la administración de hirudina en estos pacientes, en comparación con la administración de heparina. El primero era un pequeño estudio piloto de escalada de dosis en 166 enfermos, en el que se usaron 4 dosis distintas de desirudina en comparación con un grupo que recibió hepa-

rina⁸⁹. Después de 72-120 h con cualquiera de las dosis utilizadas se demostró una mejoría angiográfica mayor y menor tendencia a tener IAM con desirudina que con heparina, sin que aumentasen las complicaciones hemorrágicas, pero a los 30 días no había diferencias significativas.

En el estudio OASIS⁹⁰ se incluyeron 909 enfermos, con angina inestable o sospecha de infarto de miocardio sin elevación del segmento ST, que fueron randomizados para recibir durante 72 h heparina (boleo de 5.000 U seguido de infusión de 1.200 U/h) o una de dos dosis diferentes de lepirudina (boleo de 0,2 mg/kg e infusión de 0,1 mg/kg/h o boleo de 0,4 mg/kg e infusión de 0,15 mg/kg/h), ajustando el TTPA entre 60-100 s. A los 7 días la incidencia de muerte y/o nuevo episodio de infarto o angina se redujo en los grupos de enfermos tratados con lepirudina a dosis altas o bajas respecto al grupo de heparina (3, 4,4 y 6,5%, respectivamente), alcanzando la reducción significación estadística ($p = 0,04$) en el grupo de dosis alta de lepirudina, sin que hubiese diferencias entre los tres grupos en cuanto a la incidencia de hemorragias. A los 35 y 180 días se mantenía una reducción, aunque no significativa, del riesgo de padecer nuevos episodios isquémicos en los dos grupos que recibieron hirudina.

En el estudio OASIS-2⁹¹, se incluyeron 10.141 pacientes con angina inestable o sospecha de infarto de miocardio sin elevación del segmento ST. Los enfermos fueron aleatorizados para recibir durante 72 h heparina (boleo de 5.000 U seguido de infusión de 15 U/kg/h) o lepirudina (boleo de 0,4 mg/kg e infusión de 0,15 mg/kg/h), ajustando el TTPA. La incidencia de muerte cardiovascular y/o nuevo infarto o angina era menor con lepirudina que con heparina a los 3 (el 2 frente al 2,6%; $p = 0,35$) y a los 7 días (el 3,6 frente al 4,2%; $p = 0,07$), manteniéndose estas diferencias a los 35 días. La incidencia de complicaciones hemorrágicas mayores era mayor con hirudina que con heparina (el 1,2 frente al 0,7%; $p = 0,01$). Cuando los resultados de ambos estudios OASIS se analizaron de manera combinada la lepirudina redujo significativamente ($p = 0,005$) el riesgo relativo de muerte y/o nuevo infarto o angina.

En dos estudios se ha utilizado hirulog a diferentes dosis, pero en ambos sin grupo control^{92,93}. Los resultados con las dosis más elevadas demostraron una reducción significativa de la mortalidad y de los episodios de IAM no fatal. Por ello, parece que la bivalirudina puede ser un fármaco prometedor en pacientes con angina inestable, aunque es necesario realizar un estudio más amplio comparando su eficacia y seguridad con la de la heparina antes de llegar a conclusiones definitivas.

Se han publicado los resultados de algunos ensayos en los que se ha utilizado argatrobán⁹⁴, efgatránn⁹⁵⁻⁹⁷ e inogatrán^{57,98}. Salvo en el caso del inogatrán, el número de pacientes incluido en cada ensayo era muy reducido y, en todos los casos la eficacia fue similar, o incluso menor, que la obtenida con heparina.

TABLA 5

Ensayos clínicos con desirudina en la prevención de TVP en cirugía de cadera

| Ensayo clínico | N.º de pacientes | Tratamiento | Incidencia TVP (%) | |
|-------------------------------------|------------------|------------------------|--------------------|------------------|
| | | | Total | Proximal |
| Eriksson et al, 1996 ¹⁰⁶ | 1.119 | Desirudina, 10 mg/12 h | 23,9 | 8,5 |
| | | Desirudina, 15 mg/12 h | 18,9 ^a | 3,1 ^a |
| | | Desirudina, 20 mg/12 h | 18,2 ^a | 2,4 ^a |
| | | HNF, 5.000 UI/8 h | 34,2 | 19,6 |
| Eriksson et al, 1997 ¹⁰⁷ | 445 | Desirudina, 15 mg/12 h | 7 ^b | 3 ^c |
| | | HNF, 5.000 UI/8 h | 23 | 16 |
| Eriksson et al, 1997 ¹⁰⁸ | 2.051 | Desirudina, 15 mg/12 h | 18,4 ^d | 4,5 ^e |
| | | Enoxaparina, 40 mg/día | 25,5 | 7,5 |

^ap < 0,01. ^bp < 0,001. ^cp < 0,0001 respecto a HNF. ^dp < 0,001 respecto a enoxaparina. ^ep < 0,01.

Tratamiento de la tromboembolia venosa

Se ha utilizado lepirudina en el tratamiento de pacientes con trombosis venosa profunda establecida. Después de dos estudios previos con lepirudina^{99,100} y otro con hirulog¹⁰¹ en los que en cada uno se trataron 10 enfermos con resultados alentadores, se han comunicado los resultados de un estudio multicéntrico más amplio en el que se incluyeron 160 pacientes que fueron aleatorizados en 4 grupos de 40 para recibir HNF a dosis ajustada por TTPA o lepirudina a una de tres dosis diferentes (0,75, 1,25 y 2 mg/kg cada 12 h por vía subcutánea)¹⁰². Los resultados indicaron una reducción de la incidencia de progresión del trombo en la flebografía y de aparición de nuevos defectos en la gammagrafía con las dos dosis más altas de hirudina. En cuanto a las complicaciones hemorrágicas fueron menores con las dos dosis más bajas de hirudina. Concluyen que la dosis de 1,25 mg/kg de lepirudina es al menos tan eficaz y segura, posiblemente más, que la HNF.

De manera similar, se han realizado dos ensayos clínicos con péptidos sintéticos de bajo peso molecular, concretamente uno con napsagatrán¹⁰³ y otro con melagatrán¹⁰⁴, en los que se valoró la eficacia y seguridad de diferentes dosis de estos inhibidores en comparación al tratamiento convencional con heparina. En ambos el péptido sintético demostró ser, al menos, tan eficaz y seguro como la heparina.

A la vista de estos resultados parece necesario realizar nuevos ensayos clínicos en fase III en los que hirudina, hirulog o péptidos sintéticos sean comparados a HNF y HBPM en grupos amplios de enfermos, para poder llegar a conclusiones definitivas acerca de la utilidad de los inhibidores directos de la trombina en esta enfermedad.

Profilaxis de la tromboembolia venosa

En cuanto a la profilaxis del tromboembolismo venoso se han realizado cuatro estudios con desirudina dirigidos a evaluar su eficacia en la prevención del tromboembolismo venoso en pacientes sometidos a prótesis de cadera o rodilla. El primer estudio comparó en un pequeño grupo de enfermos cuatro dosis diferentes de desirudina¹⁰⁵, mientras que los otros tres (tabla 5) incluyeron un número elevado de pacientes.

En el segundo se aleatorizaron 1.119 pacientes para recibir una de tres dosis diferentes de desirudina o HNF durante 8-11 días. Los pacientes tratados con las dos dosis más altas de hirudina presentaron una incidencia significativamente menor de TVP total y proximal que los tratados con HNF. No había diferencias en la incidencia de EP o complicaciones hemorrágicas entre los 4 grupos¹⁰⁶.

En el tercer ensayo se comparó, en un grupo de 445 pacientes, la administración de desirudina a dosis de 15 mg cada 12 h con la de HNF a dosis de 5.000 U cada 8 h, ambas administradas por vía subcutánea durante 9-11 días. La incidencia de TVP total y proximal fue significativamente

menor en el grupo de pacientes tratado con desirudina, mientras que la de complicaciones hemorrágicas era similar en ambos grupos¹⁰⁷.

En el último de los estudios 2.051 pacientes fueron aleatorizados para recibir desirudina a dosis de 15 mg cada 12 h o enoxaparina 40 mg cada 24 h, por vía subcutánea durante 8-12 días. También en este ensayo la incidencia de TVP total y proximal se reducía significativamente con desirudina. Además, el grupo de desirudina tenía menor incidencia de TVP bilateral que el de enoxaparina (el 0,5 frente al 5,6%; p = 0,003). La incidencia de embolismo pulmonar y de complicaciones hemorrágicas fue similar con los dos tipos de profilaxis¹⁰⁸.

Se ha realizado un ensayo en el que se ha valorado la eficacia de hirulog en la profilaxis del tromboembolismo venoso en 222 enfermos sometidos a cirugía de cadera o rodilla. Los pacientes se aleatorizaron para recibir cinco dosis diferentes de hirulog y se demostró que la dosis más alta reducía significativamente, respecto a los resultados combinados de las otras 4 dosis, la incidencia de TVP total (el 17 frente al 43%; p = 0,01) y proximal (el 2 frente al 20%; p = 0,023), con una incidencia menor del 5% de complicaciones hemorrágicas en todos los grupos¹⁰⁹. Estos resultados son esperanzadores, pero la falta de grupo control con HNF o HBPM dificulta su valoración.

Recientemente se han presentado los resultados de diversos estudios realizados con dos inhibidores sintéticos de bajo peso molecular, el melagatrán administrado por vía subcutánea y el H 376/95 por vía oral, en la profilaxis del tromboembolismo venoso en cirugía de cadera o rodilla. En los dos primeros ensayos se administró melagatrán solo, a diferentes dosis, a grupos reducidos de enfermos, encontrando una incidencia baja de TVP con escasas complicaciones hemorrágicas¹¹⁰. En el tercero, el estudio METHRO I^{110,111}, se comparó, en un grupo de 137 pacientes sometidos a cirugía de cadera o rodilla, la administración de HBPM (5.000 U/día de dalteparina) con la de diferentes dosis (1, 2 o 4 mg cada 12 h) de melagatrán administrado por vía subcutánea durante 2 días seguido de la administración por vía oral durante 6-9 días de H 376/95 (6, 12 o 24 mg cada 12 h), encontrando una incidencia similar de TVP y complicaciones hemorrágicas. En el estudio METHRO II¹¹², se incluyeron 1.876 enfermos y se comparó la administración de dalteparina durante 8-11 días con la de diferentes pautas de melagatrán, por vía subcutánea, durante 1-3 días seguido de H 376/95, por vía oral, hasta completar 8-11 días. Encontraron que la incidencia de tromboembolismo venoso era significativamente más baja con la dosis más alta de melagatrán (2 mg/12 h) y H 376/95 (24 mg/12 h) que con HBPM (el 15,1 frente al 28,2%; p < 0,00001), sin que existiesen diferencias en la incidencia de complicaciones hemorrágicas. En la actualidad se está realizando el ensayo METHRO III en el que se compara un esquema único de profilaxis con melagatrán y H 376/95 con la utilización de enoxaparina en número muy elevado de enfermos.

Otras indicaciones

Hay dos estudios publicados en los que se ha usado hirudina en pacientes con CID subaguda o crónica en un caso¹¹³ y con CID aguda secundaria a hemopatías malignas en el otro¹¹⁴. En los dos casos los resultados clínicos han sido buenos y se demostró una clara mejoría de los parámetros hemostáticos, pero ambos estudios se realizaron en un número muy pequeño de pacientes. Parece necesario realizar un estudio más amplio, y con un grupo control, antes de poder hablar de que la hirudina es eficaz en la CID.

Se ha usado lepirudina en diversos estudios¹¹⁵⁻¹¹⁸ en pacientes con trombopenia inducida por heparina (HIT) y trombosis asociada a HIT (HITS), habiéndose demostrado una rápida recuperación del recuento de plaquetas con niveles adecuados de anticoagulación. Además, estudios con controles históricos revelan una clara reducción en la incidencia combinada de nuevas complicaciones tromboembólicas y de muerte en estos pacientes cuando son tratados con lepirudina. También se han publicado buenos resultados en estos pacientes con el uso de argatrobán^{49,94,119-121}. Por último, los inhibidores sintéticos de bajo peso molecular que presentan una buena biodisponibilidad tras su administración por vía oral, podrían ser de utilidad en tratamiento anticoagulante a largo plazo en sustitución de los cumarínicos. En este sentido hay ensayos clínicos en marcha con uno de estos inhibidores, el H 376/95.

Conclusiones

La trombina ejerce un papel central en el mecanismo fisiológico de la hemostasia y en la patogenia de la trombosis, por lo que su inhibición constituye una de las medidas principales en el tratamiento de la trombosis. La heparina, por su acción inhibidora de la trombina, es uno de los fármacos más utilizados en la terapéutica antitrombótica, pero al no ser un inhibidor directo de la trombina tiene algunos inconvenientes. Es por ello que el uso de inhibidores directos de la trombina, al carecer de algunas de las desventajas de la heparina, constituye una de las vías de investigación más interesantes en el campo del tratamiento antitrombótico. Existen dos tipos de inhibidores directos, los derivados de sustancias naturales (hirudina y sus derivados) y los inhibidores sintéticos de bajo peso molecular (péptidos no covalentes y covalentes reversibles). Todos estos inhibidores se unen directamente, pero los lugares de interacción con la molécula de trombina son diferentes en cada caso. Los resultados obtenidos en distintos modelos experimentales de trombosis, así como los de diferentes ensayos en fase I en humanos, han llevado a la realización en los últimos años de diversos ensayos clínicos en fase II y III en diferentes situaciones clínicas. Los resultados obtenidos en estos ensayos apoyan las siguientes conclusiones:

1. El empleo de hirudina y sus derivados como coadyuvante del tratamiento trombolítico en pacientes con IAM produce una pequeña y no significativa reducción del riesgo de muerte o IAM a los 30 días.
2. La hirudina y su derivado hirulog pueden ser más eficaces y seguros que la heparina en la prevención de reestenosis tras angioplastia coronaria.
3. La hirudina puede reducir el riesgo relativo de muerte y/o nuevo infarto o angina en pacientes con angina inestable.
4. Los estudios iniciales apoyan la idea de que diferentes inhibidores directos de la trombina pueden ser, al menos, tan eficaces y seguros como la heparina en el tratamiento del tromboembolismo venoso, por lo que sería conveniente realizar estudios más amplios para valorar la utilidad de estos inhibidores en esta enfermedad.
5. Tanto la hirudina y su derivado hirulog, como algunos péptidos sintéticos, pueden ser más eficaces que la heparina en la profilaxis del tromboembolismo venoso en cirugía ortopédica, sin aumentar el riesgo hemorrágico.
6. La lepirudina y el argatrobán han demostrado utilidad en el tratamiento de pacientes con HIT y HITS

Parece evidente que la información disponible acerca de la utilidad de la hirudina, sus derivados, o los inhibidores sintéticos de bajo peso molecular, va a aumentar considera-

blemente en los próximos años, pudiendo llegar a transformarse en una de las armas más importantes en el control de las enfermedades trombóticas, que no debemos olvidar constituyen una causa de mortalidad muy elevada en el mundo en el momento actual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hogg PJ, Jackson CM. Fibrin monomer protects thrombin from inactivation by heparin-antithrombin III: implications for heparin efficacy. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1989; 86: 3619-3623.
- Weitz JI, Hudoba M, Massel D, Maraganore J, Hirsh J. Clot-bound thrombin is protected from inhibition by heparin-antithrombin III but is susceptible to inactivation by antithrombin III-independent inhibitors. *J Clin Invest* 1990; 86: 385-391.
- Eisenberg PR, Siegel JE, Abendschein DR, Miletich JP. Importance of factor Xa in determining the procoagulant activity of whole-blood clots. *J Clin Invest* 1993; 91: 1877-1883.
- Weitz J, Hirsh J. New anticoagulant strategies. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 364-373.
- Hirsh J. Heparin. *N Engl J Med* 1991; 324: 1565-1574.
- Weitz JI, Hirsh J. New antithrombotic agents. *Chest* 1998; 114: S715-S727.
- Markwardt F. Hirudin and derivatives as anticoagulant agents. *Thromb Haemost* 1991; 66: 141-152.
- Markwardt F. The comeback of hirudin as an antithrombotic agent. *Semin Thromb Hemost* 1991; 17: 79-81.
- Johnson PH. Hirudin: clinical potential of a thrombin inhibitor. *Annu Rev Med* 1994; 45: 165-177.
- Markwardt F. The development of hirudin as an antithrombotic drug. *Thromb Res* 1994; 74: 1-23.
- Weitz JI, Calif RM, Ginsberg JS, Hirsh J, Theroux P. New antithrombotics. *Chest* 1995; 108 (Supl): S471-S485.
- Turpie AGG, Weitz JI, Hirsh J. Advances in antithrombotic therapy: novel agents. *Tromb Haemost* 1995; 74: 565-571.
- White HD. Clinical trials of direct thrombin inhibitors in acute ischaemic syndromes. *Thromb Haemost* 1997; 78: 364-366.
- Verstraete M. Direct thrombin inhibitors: appraisal of the antithrombotic/hemorrhagic balance. *Thromb Haemost* 1997; 78: 357-363.
- Bates ER. Clinical trial results with hirudin and bivalirudin for acute coronary artery syndromes. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 575-581.
- Samama MM, Kher A. Anticoagulation: the old and the new. *Hämostaseologie* 1998; 18: S27-S32.
- Bates SM, Weitz JI. Direct thrombin inhibitors for treatment of arterial thrombosis: potential differences between bivalirudin and hirudin. *Am J Cardiol* 1998; 82: P12-P18.
- Weitz JI, Bates SM. Beyond heparin and aspirin. New treatments for unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *Arc Intern Med* 2000; 160: 749-758.
- Harvey RP, Degryse E, Stefani L, Schomber F, Cazenave JP, Courtney M et al. Cloning and expression of cDNA coding for the anticoagulant hirudin from blood sucking leech, *Hirudo medicinalis*. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1986; 83: 1084-1088.
- Johnson PH, Sze P, Winant R, Payne PW, Lazar JB. Biochemistry and genetic engineering of hirudin. *Semin Thromb Hemost* 1989; 15: 302-315.
- Rydel TJ, Ravichandran KG, Tulinsky A, Bode W, Huber R, Roitsch C et al. The structure of a complex of recombinant hirudin and human α-thrombin. *Science* 1990; 249: 277-280.
- Schmitz T, Rothe M, Dodd J. Mechanism of the inhibition of alpha-thrombin by hirudin-derived fragments hirudin (1-47) and hirudin (45-65). *Eur J Biochem* 1991; 195: 251-256.
- Heras M, Chesebro JH, Penny WJ, Bailey KR, Badimon L, Fuster V. Effects of thrombin inhibition on the development of acute platelet thrombus deposition during angioplasty in pigs. Heparin versus recombinant hirudin, a specific thrombin inhibitor. *Circulation* 1989; 79: 657-665.
- Agnelli G, Pascucci C, Cosmi B, Nenci GG. The comparative effects of recombinant hirudin (CGP 39393) and standard heparin on thrombus growth in rabbits. *Thromb Haemost* 1990; 63: 204-207.
- Haskel EJ, Prager NA, Sobel BE, Abendschein DR. Relative efficacy of antithrombin compared with antiplatelet agents in accelerating coronary thrombolysis and preventing early reocclusion. *Circulation* 1991; 83: 1048-1056.
- Klement P, Born A, Hirsh J, Maraganore J, Wilson G, Weitz JI. The effect of thrombin inhibitors on tissue plasminogen activator induced thrombolysis in a rat model. *Thromb Haemost* 1992; 68: 64-68.
- Sitko GR, Ramjit DR, Stabilito II, Lehman D, Lynch JJ, Viasuk GP. Conjunctive enhancement of enzymatic thrombolysis and prevention of thrombotic reocclusion with the selective factor Xa inhibitor, tick anticoagulant peptide: comparison to hirudin and heparin in an animal model of acute coronary artery thrombosis. *Circulation* 1992; 85: 805-815.
- Agnelli G, Renga C, Weitz JI, Nenci GG, Hirsh J. Sustained antithrombotic activity of hirudin after its plasma clearance: Comparison with heparin. *Blood* 1992; 80: 960-965.
- Hoffman H, Siebeck M, Spannagl M, Weis M, Geiger R, Jochum M et al. Effect of recombinant hirudin, a specific inhibitor of thrombin on endotoxin-induced intravascular coagulation and acute lung injury in pigs. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 782-788.
- Dickneite G, Gzech J. Combination of antibiotic treatment with the thrombin inhibitor recombinant hirudin for the therapy of experimental *Klebsiella pneumoniae* sepsis. *Thromb Haemost* 1994; 71: 768-772.
- Hermida J, Montes R, Páramo JA, Rocha E. Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits: effect of recombinant hirudin on hemostatic parameters, fibrin deposits, and mortality. *J Lab Clin Med* 1998; 131: 77-83.
- Muñoz MC, Montes R, Hermida J, Orbe J, Páramo JA, Rocha E. Effect of the administration of recombinant hirudin and/or tissue-plasminogen activator (t-PA) on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation model in rabbits. *Br J Haematol* 1999; 105: 117-122.
- Maraganore JM, Chao B, Joseph ML, Jablonski J, Ramachandran KL. Anticoagulant activity of synthetic hirudin peptides. *J Biol Chem* 1989; 264: 8692-8698.
- Maraganore JM, Bourdon P, Jablonski J, Ramachandran KL, Fenton JW. Design and characterization of hirulog: a novel class of bivalent peptide inhibitors of thrombin. *Biochemistry* 1990; 29: 7095-7101.
- White HD, Aylward PE, Freys MJ, Adgey AAJ, Nair R, Hillis WS et al. Randomized, double-blind comparison of hirulog versus heparin in patients receiving streptokinase and aspirin for acute myocardial infarction (HERO). *Circulation* 1997; 96: 2155-2161.
- Biti JA. Comparative safety profiles of hirulog and heparin in patients undergoing coronary angioplasty. The Hirulog Angioplasty Study Investigators. *Am Heart J* 1995; 130: 658-665.
- Hauptmann J, Stürzebecher J. Synthetic inhibitors of thrombin and factor Xa: from bench to bedside. *Thromb Res* 1999; 93: 203-241.
- Kikumoto R, Tamai Y, Tezuka T, Tonomura S, Hara H, Niromiya K et al. Selective inhibition of thrombin by (2R,4R)-4-methyl-1 [$\text{N}^{\text{R}}\text{-}(3\text{-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-quinolinyl)}\text{-sulfonyl}\text{-L-arginyl}\text{-}$] -piperidin-carboxylic acid. *Biochemistry* 1984; 23: 85-90.
- Hilpert K, Ackerman J, Banner DW, Gast A, Gubernator K, Hadvary P et al. Design and synthesis of potent and highly selective thrombin inhibitors. *J Med Chem* 1994; 37: 3889-3901.
- Gast A, Tschopp TB, Schmid G, Hilpert K, Ackermann J. Inhibition of clot-bound and free (fluid-phase thrombin) by a novel synthetic thrombin inhibitor (ro 46-6240), recombinant hirudin and heparin in human plasma. *Blood Coag Fibrinolysis* 1994; 5: 879-887.
- Teger-Nilsson AC, Bylund R, Gustafsson D, Gyzander E, Eriksson U. *In vitro* effects of inogatran, a selective LMW thrombin inhibitor. *Thromb Res* 1997; 85: 133-145.
- Gustafsson D, Antonsson T, Bylund R, Eriksson U, Gyzander E, Nilsson I et al. Effects of melagatran, a new low-molecular-weight thrombin inhibitor, on thrombin and fibrinolytic enzymes. *Thromb Haemost* 1998; 79: 110-118.
- Eriksson UG, Johansson L, Frison L, Bredberg U, Gustafsson D. Single and repeated oral dosing of H376/95, a prodrug of the direct thrombin inhibitor melagatran, to young healthy male subjects. *Blood* 1999; 94 (Supl 1): 26.
- Gustafsson D, Nystrom J-E, Carlsson S, Bredberg U, Elg M, Gyzander E et al. Pharmacodynamic properties of H 376/95, a prodrug of the direct thrombin inhibitor melagatran, intended for oral use. *Blood* 1999; 94 (Supl 1): 26.
- Thrombin Inhibition in Myocardial Ischaemia (TRIM) Study Group. A low molecular weight, selective thrombin inhibitor, inogatran, vs Heparin, in unstable coronary artery disease in 1209 patients: a double-blind, randomized, dose-finding study. *Eur Heart J* 1997; 18: 1416-1425.
- Metha JL, Chen L, Nichols WW, Mattsson C, Gustafsson D, Saldeen TG. Melagatran, an oral active-site inhibitor of thrombin, prevents or delays formation of electrically induced occlusive thrombus in the canine coronary artery. *J Cardiovasc Pharmacology* 1998; 31: 345-351.
- Eriksson M, Saldeen T, Mattsson C, Larsson A. Effects of melagatran, an inhibitor of thrombin, on fibrin deposits, haemodynamics, and platelet count in endotoxaemic pigs. *Acta Anaesthesio Scand* 2000; 44: 24-31.
- Eriksson M, Larsson A, Saldeen T, Mattsson C. Melagatran, a low molecular weight thrombin inhibitor, counteracts endotoxin-induced haemodynamic and renal dysfunctions in the pig. *Thromb Haemost* 1998; 80: 1022-1026.
- Meneer K. Direct thrombin inhibitors: current status and futures prospects. *Exp Opin Invest Drugs* 1999; 8: 1373-1384.
- Brady SF, Stauffer KJ, Lumma WC, Smith GM, Ramjit HG, Lewis SD et al. Discovery and development of the novel potent orally active thrombin inhibitor N-(9-Hydroxy-9-fluorencarboxy) prolyl trans-4-Aminocyclohexyl-methyl Amide (L-372,460): coapplication of structure-based design and rapid multiple analogue synthesis on solid support. *J Med Chem* 1998; 41: 401-406.
- Kettner C, Shaw E. D-Phe-Pro-ArgCH₂Cl: a selective affinity label for thrombin. *Thromb Res* 1979; 14: 969-973.

52. Kettner C, Mersinger L, Knabb R. The selective inhibition of thrombin by peptides of boroarginine. *J Biol Chem* 1990; 265: 18289-18297.
53. Knabb RM, Kettner CA, Timmermans PB, Reilly TM. *In vivo* characterization of a new synthetic thrombin inhibitors. *Thromb Haemost* 1992; 67: 56-59.
54. Padmanabhan K, Padmanabhan KP, Ferrara JD, Sadler JE, Tulinsky A. The structure of α -thrombin inhibited by a 15-mer single stranded DNA aptamer. *J Biol Chem* 1993; 268: 17651-17654.
55. Tassett DM, Kubik MF, Steiner W. Oligonucleotide inhibitors of human thrombin that bind distinct epitopes. *J Mol Biol* 1997; 272: 688-698.
56. Lunven C, Gauffeny C, Lecoffre C, O'Brien DP, Roome NO, Berry CN. Inhibition by argatroban, a specific thrombin inhibitor, of platelet activation by fibrin clot-associated thrombin. *Thromb Haemost* 1996; 75: 154-160.
57. Weitz JI, Leslie B, Hudoba M. Thrombin binds to soluble fibrin degradation products where it is protected from inactivation by heparin-antithrombin but susceptible to inactivation by antithrombin-independent inhibitors. *Circulation* 1998; 97: 544-552.
58. Gustafsson D, Elg M, Lenfors S, Börjesson I, Tejer-Nilsson A-C. Effects of inogatran, a new molecular weight thrombin inhibitor, in rat models of venous and arterial thrombosis, thrombolysis and bleeding time. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996; 7: 69-79.
59. Schumacher WA, Heran CH, Steinbacher TE. Low-molecular-weight heparin (fragmin) and thrombin active-site inhibitor (argatroban) compared in experimental arterial and venous thrombosis and bleeding time. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28: 19-25.
60. Lyle EM, Lewis SD, Lehman ED, Gardell SJ, Motzel SL, Lynch JJ. Assessment of thrombin inhibitor efficacy in a novel rabbit model of simultaneous arterial and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1998; 79: 656-662.
61. Harker LA, Hanson SR, Kelly AB. Antithrombotic strategies targeting thrombin activities, thrombin receptors and thrombin generation. *Thromb Haemost* 1997; 78: 736-441.
62. Bode C, Kohler B, Steg G, Parow C, Rubsamen K. The ecarin clotting time but not the aPTT reliable indicator for PEG-hirudin blood patients with unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 411.
63. Hemker HC, Wielders S, Beguis S. The thrombin potential. A parameter to assess the effect of antithrombotic drugs on thrombin generation. En: Bounnameaux H, Samama M, Ten Cate JW, editores. *Fraxiparine, Second International Symposium. Recent pharmacological and clinical data*. Stuttgart-Nueva York: Schattauer 1990: 89-101.
64. Cannon CP, McCabe CH, Henry TD, Schweiger MJ, Gibson RS, Mueller HB et al. A pilot trial of recombinant desulfatohirudin compared with heparin in conjunction with tissue-type plasminogen activator and aspirin for acute myocardial infarction (TIMI) 5 trial. *Am J Coll Cardiol* 1994; 23: 993-1003.
65. Lee LV, McCabe CH, Antman EM, Koch M, Wilensky R, Stringer K et al. Initial experience with hirudin and streptokinase in acute myocardial infarction: results of the TIMI 6 trial. *Am J Coll Cardio* 1994; 23: 344.
66. Neuhaus KL, Niederer W. R-hirudin and front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: results of the HIT (Hirudin for Improvement of Thrombolysis) study. *Eur Heart J* 1993; 14 (Supl): 106.
67. Zeymer U, Von Essen R, Tebbe U, Michels HR, Jessel A, Roth M et al. Recombinant hirudin and front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: final results of a pilot study: HIT-II (Hirudin for the Improvement of Thrombolysis). *Eur Heart J*, 1995; 16 (Supl D): 22-27.
68. The Global Use of Strategies To Open Coronary Arteries (GUSTO) IIa Investigators. Randomized trial of intravenous heparin versus recombinant hirudin for acute coronary syndromes. *Circulation* 1994; 90: 1631-1637.
69. Antman EM, for the TIMI 9A Investigators. Hirudin in acute myocardial infarction: safety report from the thrombolysis and thrombin inhibition in myocardial infarction (TIMI) 9A trial. *Circulation* 1994; 90: 1624-1630.
70. Neuhaus KL, von Essen R, Tebbe U, Jessel A, Heinrichs H, Maüer W et al. Safety observations from the pilot phase of the randomized r-hirudin for improvement of thrombolysis (HIT-III) study: a study of the Arbeitsgemeinschaft Leitender Kardiologischer Krankenhausärzte (ALKK). *Circulation* 1994; 90: 1638-1642.
71. The Global Use of Strategies To Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO) III Investigators. A comparison of recombinant hirudin with heparin for the treatment of acute coronary syndromes. *New Engl J Med* 1996; 335: 775-782.
72. Antman EM. TIMI 9B Investigators-Hirudin in acute myocardial infarction: thrombolysis and thrombin inhibition in myocardial infarction (TIMI) 9B trial. *Circulation* 1996; 94: 911-921.
73. Molhoek P, Tebbe U, Laarman, Lok DJ, Grolier GM, Forycki F et al. Hirudin for the improvement of thrombolysis with streptokinase in patients with acute myocardial infarction. Results of the HIT-4 study. *Circulation* 1997; 96 (Supl): 205-221.
74. Metz BK, White HD, Granger CB, Simes RJ, Armstrong PW, Hirsh J et al. Global Use of Strategies To Open Occluded Coronary Arteries in Acute Coronary Syndromes (GUSTO-IIb) Investigators. Randomized comparison of direct thrombin inhibition versus heparin in conjunction with fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction: results from the GUSTO-IIb trial. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1493-1498.
75. Lidon RM, Theroux P, Lesperance J, Adelman B, Bonan R, Duval D et al. A pilot early angiographic patency study using a direct thrombin inhibitor as adjunctive therapy to streptokinase in acute myocardial infarction. *Circulation* 1994; 89: 1567-1572.
76. Theroux P, Pérez-Villa F, Waters D, Lespérance J, Adelman B, Bonan R et al. A randomized double-blind comparison of two doses of hirulog or heparin as adjunctive therapy to streptokinase to promote early patency of the infarct-related artery in acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 91: 2122-2139.
77. Vermeer F, Vahanina A, Fels PW, Besse P, Radzik D, Simoons ML. Intravenous argatroban versus heparin as co-medication toalteplase in the treatment of acute myocardial infarction: preliminary results of the ARGAMI pilot study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29 (Supl A): 185-186.
78. Hursting MJ, Alford KL, Becker J-CP, Brooks RL, Joffrion JL, Knappenberger GD et al. Novastan (brand of argatroban): a small-molecule, direct thrombin inhibitor. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 503-516.
79. Gershony G, Mann DL, Christie JR, Seals AA, O'Brien ERM, Ambrose JA et al, for the ESCALAT Investigators. Clinical hemorrhage and coagulation parameters following therapy with efgatran versus heparin in the ESCALAT trial. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29 (Supl A): 413.
80. Miller JM, Barsness GW, Leimberger JD, Gard J, Ohman EM, Glassman J et al. Direct thrombin inhibition with efgatran does not suppress heightened thrombin generation during thrombolysis for acute myocardial infarction. *Circulation* 1997; 96 (Supl): 534.
81. Van den Bos AA, Deckers JW, Heyndrickx GR, Laarman G-J, Suryapranata H, Zijlstra F et al. Safety and efficacy of recombinant hirudin (CGP 39393) versus heparin in patients with stable angina undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 1993; 88: 2058-2066.
82. Serruys PW, Hermann J-PR, Simon R, Rutsch W, Bode C, Larman GL et al, for the HELVETICA Investigators. A comparison of hirudin with heparin in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1995; 333: 757-763.
83. Topol EJ, Bonan R, Jewitt D, Sigwart U, Kakkavas V, Rothman M et al. Use of a direct antithrombin, hirulog, in place of heparin during coronary angioplasty. *Circulation* 1993; 87: 1622-1629.
84. Bitl JA, Strony J, Brinker JA, Ahmed WH, Meckel CR, Chaitman BR et al. Treatment with Bibalirudin (Hirulog) as compared with heparin during coronary angioplasty for unstable or postinfarction angina. *N Engl J Med* 1995; 333: 764-769.
85. Kong DF, Topol EJ, Bitl JA, White HD, Theroux P, Hasselblad V et al. Clinical out-comes of bivalirudin for ischaemic heart disease. *Circulation* 1999; 100: 2049-2053.
86. Suzuki A, Sakamoto S, Adachi K, Mizutani K, Koide M, Ohga N et al. Effect of argatroban on thrombus formation during acute coronary occlusion after balloon angioplasty. *Thromb Res* 1995; 77: 369-373.
87. Sakamoto S, Hirase T, Suzuki S, Tsukamoto T, Miki T, Yamada T et al. Inhibitory effect of argatroban on thrombin-antithrombin III complex after percutaneous transluminal angioplasty. *Thromb Haemost* 1995; 74: 801-802.
88. Herrman JPR, Suryapranata H, de Heijer P, Gabriel L, Kutryk MJB, Serruys PW. Argatroban during percutaneous transluminal angioplasty: results of a dose verification study. *J Thromb Thrombolysis* 1996; 3: 367-375.
89. Topol EJ, Fuster V, Harrington RA, Califf RM, Kleiman N, Kereiakes DJ et al. Recombinant hirudin for unstable angina pectoris: a multicenter, randomized angiographic trial. *Circulation* 1994; 89: 1557-1566.
90. Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes (OASIS) Investigators. Comparison of the effects of two doses of recombinant hirudin compared with heparin in patients with acute myocardial ischemia without ST elevation: a pilot study. *Circulation* 1997; 96: 769-777.
91. OASIS-2 Investigators. Effects of recombinant hirudin (lepirudin) compared with heparin on death, myocardial infarction, refractory angina, and revascularization procedures in patients with acute myocardial ischaemia without ST elevation: a randomised trial. *Lancet* 1999; 353: 429-438.
92. Lidon R-M Theroux P, Juneau M, Adelman B, Maraganore J. Initial experience with a direct antithrombin, hirulog, in unstable angina: anticoagulant antithrombotic and clinical effects. *Circulation* 1993; 88: 1495-1501.
93. Fuchs J, Cannon CP. Hirulog in the treatment of unstable angina: results of the Thrombin Inhibition in Myocardial Ischemia (TIMI) 7 trial. *Circulation* 1995; 92: 727-733.
94. Lewis BE, Grassman ED, Wrona L, Rangel Y. Novastan anticoagulation during renal stent implant in a patient with heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997; 8: 54-58.
95. Simoons ML, van Miltenburg A, Scheffer MG. Anticoagulant properties of efgatran, a direct thrombin inhibitor in patients with unstable angina. *Eur Heart J* 1994; 15 (Supl): 120.
96. Simoons M, Lenderink T, Scheffer M, Stoe I, de Millino P, Remme W et al. Efgatran, a new direct thrombin inhibitor: safety and dose response in patients with unstable angina. *Circulation* 1994; 90 (part 2): 231.
97. Jackson CV, Satterwhite J, Roberts E. Preclinical and clinical pharmacology of efgatran (LY294468): A novel antithrombin for the treatment of acute coronary syndromes. *Clin Appl Thromb/Hemost* 1996; 2: 258-267.

98. Andersen K, Dellborg M. Heparin is more effective than inogatran, a low-molecular weight thrombin inhibitor in suppressing ischemia and recurrent angina in unsatisfactory coronary disease. Thrombin Inhibition in Myocardial Ischemia (TRIM) Study Group. *Am J Cardiol* 1998; 81: 939-944.
99. Parent F, Briley F, Dreyfus M, Musset D, Grimon G, Duroux P et al. Treatment of severe venous thromboembolism with intravenous hirudin (HBW 023): an open pilot study. *Thromb Haemost* 1993; 70: 386-388.
100. Schiele F, Vuillemenot A, Kramarz P, Kieffer Y, Soria J, Soria C et al. A pilot study of subcutaneous recombinant hirudin (HBW 023) in the treatment of deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1994; 71: 558-562.
101. Ginsberg JS, Nurmohtamed MT, Gent M, MacKinnon B, Stevens P, Weitz J et al. Effects on thrombin generation of single injection of hirudin in patients with calf vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1994; 72: 523-525.
102. Moia M, Schiele F, Walker M, Eriksson H, Camez A, Lemarie JC. Treatment of acute deep vein thrombosis (DVT) by subcutaneous r-hirudin (HBW023): A multicenter study *Thromb Haemost* 1995; 73: 1456.
103. Bounameaux H, Ehringer H, Hulting J, Rasche H, Rapold HJ, Zultak M. An exploratory trial of two dosages of a novel synthetic thrombin inhibitor (napsagatran, Ro 46-6240) compared with unfractionated heparin for treatment of proximal deep-vein thrombosis: results of the European multicenter ADVENT trial. *Thromb Haemost* 1997; 78: 997-1002.
104. Eriksson H, Eriksson UG, Frison L, Hansson PO, Held P, Holmström M et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of melagatran, a novel synthetic LMW thrombin inhibitor, in patients with acute DVT. *Thromb Haemost* 1999; 81: 358-363.
105. Eriksson BI, Kalebo P, Ekman S, Lindbratt S, Kerry R, Close P. Direct thrombin inhibition with rec-hirudin CGP 39393 as prophylaxis of thromboembolic complications after total hip replacement. *Thromb Haemost* 1994; 72: 227-231.
106. Eriksson BI, Ekman S, Kalebo P, Zachrisson B, Bach D, Close P. Prevention of deep-vein thrombosis after total hip replacement: direct thrombin inhibition with recombinant hirudin CGP 39393. *Lancet* 1996; 347: 635-639.
107. Eriksson BI, Ekman S, Lindbratt S, Bour M, Bach D, Torholm C et al. Prevention of thromboembolism with use of recombinant hirudin. Results of a double blind, multicenter trial comparing the efficacy of desudrin (Revasc) with that of unfractionated heparin in patients having a total hip replacement. *J Bone Joint Surg* 1997; 79: 326-333.
108. Eriksson BI, Wille-Jorgensen P, Kalebo P, Mouret P, Rosencher N, Bosch P et al. A comparison of recombinant hirudin with a low-molecular-weight heparin to prevent thromboembolic complications after total hip replacement. *New Engl J Med* 1997; 337: 1329-1335.
109. Ginsberg J, Nurmohtamed MT, Gent M, MacKinnon B, Sicurella J, Brill-Edwards P et al. Use of hirulog in the prevention of venous thrombosis after major hip or knee surgery. *Circulation* 1994; 90: 2385-2389.
110. Eriksson BI, Arfwidsson A-C, Sareyko Elvander C, Kalebo P, Frison L, Eriksson U et al. Subcutaneous and oral direct thrombin inhibitors for prophylaxis of deep venous thrombosis and pulmonary embolism after total hip and knee replacement. *Blood* 1999; 94 (Supl 1): 589.
111. Eriksson BI, Arfwidsson A-C, Frison L, Eriksson U, Bylock A, Kalebo P et al. METHRO I : dose ranging study of H376/95, a novel, oral, direct thrombin inhibitor, and its subcutaneous formulation, melagatran, for prophylaxis of venous thromboembolism after total hip and total knee replacement. *Haemostasis* 2000; 30 (Supl 1): 183.
112. Eriksson BI, Lindbratt S, Kalebo P, Bylock A, Frison L, Wellin L et al. METHRO II: Dose-response study of the novel oral, direct thrombin inhibitor, H 376/95 and its subcutaneous formulation melagatran, compared with dalteparin as thromboembolic prophylaxis after total hip or total knee replacement. *Haemostasis* 2000; 30 (Supl 1): 20-21.
113. Breddin HK, Markwardt F. Clinical experience with hirudin in disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 1993; 69: 1299.
114. Saito M, Asakura H, Jokaji H, Utani C, Kumabayashi I, Morishita E et al. Recombinant hirudin for the treatment of disseminated intravascular coagulation in patients with haematological malignancy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995; 6: 60-64.
115. Schiele F, Vuillemenot A, Kramarz P, Kieffer Y, Anguenot T, Bernard Y et al. Use of recombinant treatment in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol* 1995; 50: 20-25.
116. Greinacher A, Völkel H, Pötzsch B. Recombinant hirudin in the treatment of patients with heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Blood* 1996; 88: 281.
117. Harenberg J, Huhle G, Piazzolo L, Wang LC, Heene DL. Anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia type II. *Semin Thromb Hemost* 1997; 189-196.
118. Walenga JM, Jeske WP, Wallis DE, Bakhos M, Lewis BE, Leya F et al. Clinical experience with combined treatment of thrombin inhibitors and GPIIb/IIIa inhibitors in patients with HIT. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 (Supl 1): 77-81.
119. Matsuo T, Kario K, Chikahira Y, Nakao K, Yamada T. Treatment of heparin-induced thrombocytopenia by use of argatroban, a synthetic thrombin inhibitor. *Br J Haemat* 1992; 82: 627-629.
120. Lewis BE, Walenga JM, Wallis DE. Anticoagulation with Novastan (argatroban) in patients with heparin-induced thrombocytopenia and heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis syndrome. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 197-202.
121. Matthai WH. Use of argatroban during percutaneous coronary interventions in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 (Supl 1): 57-60.