

Agregación plaquetaria, ADP (inhibidores del receptor P2Y₁₂)

Platelet aggregation, ADP (P2Y₁₂ receptor inhibitors)

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): 10240.

Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en Salud): no aplica.

Sección: Hematología.

Nivel de complejidad: alto.

Metodología: agregación plaquetaria por transmisión de luz.

Sinónimos: prueba de inhibidores P2Y₁₂.

Definición

La agregación plaquetaria con ADP es una prueba que mide el porcentaje de agregación inducida por el adenosín difosfato (ADP) a una concentración de 20 μM mediante una prueba de agregometría por transmisión de luz para medir la actividad como antiagregantes plaquetarios de los inhibidores del receptor P2Y₁₂ y, a su vez, la posible resistencia a estos.

Espectro clínico de aplicación

Las pruebas de función plaquetaria simulan el proceso fisiológico de activación y agregación plaquetaria, de forma que permiten la cuantificación de la respuesta plaquetaria y la identificación de una función anormal posterior a la estimulación con agentes específicos.

La agregación plaquetaria con ADP es una prueba empleada para el diagnóstico de la no respuesta (resistencia) al tratamiento con los inhibidores del receptor P2Y₁₂ *in vitro*, entendida como la incapacidad del me-

dicamento para bloquear apropiadamente la reactividad plaquetaria en un individuo que lo está tomado regularmente y a la dosis indicada, que se observa como un aumento *in vitro* de la agregación plaquetaria a dosis de 20 μM de ADP.

La resistencia a los inhibidores del receptor P2Y₁₂ puede ser debida a múltiples factores, entre los que se incluyen los demográficos (edad avanzada), los genéticos (polimorfismos de proteínas y enzimas para la absorción y el metabolismo hepático de estos medicamentos), celulares (estados de hiperactividad plaquetaria), interferencias medicamentosas, como las presentadas con los inhibidores de la bomba de protones, las estatinas lipófilas y los bloqueadores de canales de calcio, y comorbilidades del paciente (insuficiencia renal, diabetes mellitus, obesidad y enfermedad coronaria).

Una inhibición plaquetaria reducida, es decir, una alta reactividad plaquetaria durante el tratamiento, traducida como resistencia, genera un mayor riesgo de eventos trom-

bóticos, incluidos infartos de miocardio, estenosis y trombosis de los estents y de los puentes coronarios, con consecuencias fatales en muchos casos, por lo que debe ser detectado a tiempo.

Es importante aclarar que, además del concepto de resistencia, relacionado con los aspectos íntimos de la farmacodinámica del medicamento y el individuo, existe el de pseudoresistencia, que equivale a una falsa resistencia explicable por la no adherencia al tratamiento y por la mala calidad del medicamento, la cual se debe descartar antes de diagnosticar un paciente como resistente, aun cuando tenga pruebas de laboratorio indicativas de que esto puede estar sucediendo.

Fundamento

La agregación plaquetaria con ADP utiliza el principio de agregometría por transmisión de luz, que se basa en la medición por espectrofotometría del cambio turbidimétrico que se produce a medida que las plaquetas se agregan ante el estímulo de un agonista o sustancia proagregante, en este caso, el ADP a una dosis de 20 μ M, utilizando una muestra de plasma rico en plaquetas. Este cambio turbidimétrico aumenta la transmitancia (transmisión de luz) y la señal producida es detectada por el espectrofotómetro, que genera una curva bifásica de agregación, que permite evaluar el grado de inhibición alcanzado con cada uno de los medicamentos del grupo de inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂.

Control de calidad

Para el control de calidad de la agregación plaquetaria con ADP el Laboratorio Clínico Hematológico cuenta con un control de calidad externo con el Colegio Americano de Patólogos.

Preparación del paciente y manejo de las muestras

Preparación del paciente

Se recomienda evitar dietas ricas en grasa 8 a 12 horas previas a la toma de la muestra y permanecer en reposo durante 10 a 15 minutos antes de la venopunción. Además, que la muestra se tome antes de las 10 A. M. debido a que el ciclo circadiano puede afectar la función plaquetaria.

Para esta prueba es requisito que el paciente tome la dosis habitual del clopidogrel, o del inhibidor del receptor P2Y₁₂ que se le haya indicado, al levantarse o al menos una hora antes de la toma de la muestra para esta prueba.

Tipo de muestra

La agregación plaquetaria con ADP se realiza en sangre total anticoagulada con citrato de sodio al 3,2%, tubo tapa azul.

Para la toma de la muestra se recomienda el uso de agujas de calibre intermedio (21G), agotar por completo el vacío del tubo, tomar siempre el tubo citratado antes que los tubos con cualquier aditivo o anticoagulante y mezclar adecuadamente la muestra inmediatamente después de su obtención.

Debido a las bajas revoluciones empleadas para centrifugar, que originan poca cantidad de plasma, y la posibilidad de tener muestras hemoconcentradas, igualmente con poco plasma, se recomienda recolectar hasta cinco tubos citratados de 2,7 mL para lograr obtener cantidades suficientes de este.

Durante la toma de la muestra se deben evitar punciones traumáticas o estasis venosa prolongada.

Manejo y conservación de las muestras

Las muestras se deben dejar reposar durante una hora a temperatura ambiente (entre 15 °C y 25 °C) en posición vertical, y luego se centrifugan cuatro tubos a 1.000 rpm por 8 minutos para obtener plasma rico en plaquetas y un tubo a 3.200 rpm durante 8 minutos para obtener plasma pobre en plaquetas, el cual será empleado como blanco.

Las muestras no se deben refrigerar y son estables durante cuatro horas siempre que se conserven a temperatura ambiente. Es ideal que se evite el transporte de las muestras, incluyendo el transporte por tubo neumático; por lo que las muestras se deben tomar en el sitio de procesamiento del examen.

Valores esperados

El resultado consta de las curvas de agregación con ADP y del porcentaje de agregación máxima que se encontró a cada concentración. En nuestro medio se ha estandarizado esta prueba utilizando como agonista ADP a 20 μ M, cuyo valor de referencia para la agregación plaquetaria es del 30% al 64,5%.

Interpretación de resultados

En un individuo que no está recibiendo ningún tipo de antiagregante se presenta una agregación plaquetaria con ADP por encima del 80%, lo que en este caso se consideraría como un valor "normal". No obstante, es importante aclarar que esta prueba no se realiza en pacientes sin tratamiento con inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂.

En el caso de los pacientes en tratamiento con inhibidores del receptor plaquetario

P2Y₁₂, que presentan una adecuada respuesta, se obtiene un valor de agregación plaquetaria con ADP entre el 30% y el 64,5%, el cual está por debajo del rango de normalidad encontrado en los individuos sanos no tratados.

Los pacientes en tratamiento con inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂ cuyos valores de agregación plaquetaria con ADP sean inferiores al 30% presentan una sobreinhibición de la agregación plaquetaria y, en consecuencia, tienen un mayor riesgo de sangrado, en tanto que aquellos con valores superiores al 64,5% muestran una inhibición insuficiente o resistencia y, por lo tanto, tienen un mayor riesgo de eventos tromboticos.

Si el paciente suspende el medicamento por más de una semana se encuentra, nuevamente, un resultado de hiperagregación plaquetaria con ADP (mayor del 80%), similar al resultado obtenido antes de iniciar el tratamiento. La prueba, cuando se realiza en los dos o tres meses posteriores a un evento trombotico, puede demostrar resistencia al medicamento, con curvas de agregación plaquetarias normales (mayor del 80%).

Interferentes y limitaciones

La exactitud del estudio depende de la correcta relación anticoagulante: sangre, por lo cual se debe agotar completamente el vacío durante la toma de la muestra.

La lipemia y la hemólisis interfieren con la lectura y pueden ocasionar resultados erróneos, así como la inadecuada centrifugación o la recentrifugación de los tubos.

Cuando los pacientes presentan un recuento de plaquetas menor que 50.000 por μ L los resultados de la agregación plaquetaria se pueden ver afectados.

Los medicamentos, como los inhibidores de la bomba de protones, las estatinas lipofílicas, los bloqueadores de los canales de calcio, los antibióticos (eritromicina y troleandomicina), el ketoconazol y la morfina pueden interferir con el efecto antiagregante producido por el clopidogrel, y las demás drogas inhibitorias del receptor plaquetario P2Y₁₂; por lo tanto, pueden estar asociados con mayor resistencia al tratamiento.

La rifampicina, al igual que el tabaquismo y el consumo de ciertos medicamentos naturistas como el ginseng, el tanaceto, el castaño de las Indias y el té verde, pueden aumentar la antiagregación inducida por el clopidogrel, y el resto de inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂, lo que aumenta el riesgo de sangrado.

La desmopresina, los antibióticos (penicilinas y cefalosporinas), los vasodilatadores (dipiridamol), los fibrinolíticos (tenectaplasa, alteplasa, reteplasa y estreptoquinasa) y los anestésicos (lidocaína, dibucaína, propofol, sevoflurano, halotano), al igual que otros medicamentos naturistas (arándanos, cúrcuma, jengibre y omega 3), pueden interferir con la agregación plaquetaria y alterar los resultados de la prueba.

Observaciones adicionales

La agregación plaquetaria con ADP está incluida en el portafolio de servicios del Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín Colombia.

Fuente: Laboratorio Clínico Hematológico. Manual de Procedimientos. Sistema de Gestión de Calidad.

Bibliografía recomendada

Adcock-Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38: 576-585.

Du X, Ginsberg MH. Integrin alpha IIb beta 3 and platelet function. *Thromb Haemost* 1997; 78: 96-100.

Campuzano-Maya G. Inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂. Parte 1 de 2: escenario de acción, farmacología, aplicación clínica y limitaciones de su uso. *Medicina & Laboratorio* 2017; 23: 13-44.

Campuzano-Maya G. Inhibidores del receptor plaquetario P2Y₁₂. Parte 2 de 2: etiología, diagnóstico y manejo de la resistencia. *Medicina & Laboratorio* 2017; 23: 113-148.

Guevara-Arismendy NM, Escobar-Gallo GE, Campuzano-Maya G. Utilidad clínica de la agregometría plaquetaria. *Medicina & Laboratorio* 2012; 18: 311-332.

Hayward CP, Moffat KA, Raby A, Israels S, Plumhoff E, Flynn G, et al. Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol* 2010; 134: 955-963.

Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Palisaitis DA, Diodati JG. Evaluation of the platelet count drop method for assessment of platelet function in comparison with "gold standard" light transmission aggregometry. *Thromb Res* 2009; 124: 418-422.

Lordkipanidze M, Pharand C, Palisaitis DA, Schampaert E, Diodati JG. Insights into the interpretation of light transmission aggregometry for evaluation of platelet aggregation inhibition by clopidogrel. *Thromb Res* 2009; 124: 546-553.

Sibbing D, Braun S, Jawansky S, Vogt W, Mehilli J, Schomig A, et al. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost* 2008; 99: 121-126.

Velik-Salchner C, Maier S, Innerhofer P, Streif W, Klingler A, Kolbitsch C, et al. Point-of-care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting aspirin and clopidogrel: the results of a pilot study. *Anesth Analg* 2008; 107: 1798-1806.