



Pruebas de laboratorio para la evaluación de la función de las plaquetas

Margarita Martínez-Arias,* Briceida López-Martínez,† Israel Parra-Ortega§

Abreviaturas.

ADP = adenosín difosfato.
SPP = síndrome de plaquetas pegajosas.
PRP = plasma rico en plaquetas.
PPP = plasma pobre en plaquetas.
SD = desviación estándar.
ME = microscopía electrónica.
EDTA = ácido etilenodiaminotetraacético.

Palabras clave:

Agregometría,
plaquetas, disfunción
plaquetaria,
diagnóstico,
interpretación de
resultados.

Key words:

platelet, platelet dysfunction, diagnosis, interpretation of results.

* Departamento de Laboratorio Clínico.

† Subdirección de Servicios Auxiliares y de Diagnóstico.

§ Departamento de Laboratorio Clínico.

Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

Recibido:

26/05/2015

Aceptado:

10/09/2015

RESUMEN

En los últimos años ha habido una evolución en el conocimiento de la función plaquetaria, así como su papel en el mantenimiento de la integridad del sistema vascular y su respuesta en relación con los procesos de hemostasia y trombosis. Dentro de las pruebas de laboratorio que ayudan a evaluar la función plaquetaria tenemos la agregometría, que es una prueba utilizada para evaluar la función de las plaquetas y que mide la capacidad de diversos agonistas para inducir la activación e interacción *in vitro* de éstas con otras plaquetas. Inicialmente fue utilizada sólo para diagnosticar las alteraciones de agregación plaquetaria. Actualmente es una herramienta esencial en la ayuda diagnóstica y terapéutica de los trastornos plaquetarios, así como en la eficacia de la terapia anticoagulante; existen otras metodologías para el estudio de las plaquetas como la microscopía electrónica, la citometría de flujo y los desarrollos tecnológicos como el equipo PFA-100. En esta revisión se presentan algunos aspectos de la utilidad de esta prueba así como la interpretación de sus resultados.

ABSTRACT

In recent years there has been growth in the knowledge of platelet function and its role in maintaining the integrity of the vascular system and its response in connection with the processes of hemostasis and thrombosis. Among laboratory tests that help assess platelet function we have the aggregometry test, which is used to evaluate the function of platelets, it measures the ability of various agonists to induce *in vitro* activation and interaction of these agonists with other platelets. Initially it was only used to diagnose abnormalities of platelet aggregation; currently is an essential tool in the aid of the diagnosis and therapeutic support in platelet disorders and the effectiveness of anticoagulant therapy; there are other methodologies for the study of platelets as electron microscopy, flow cytometry and technological developments such as the PFA-100 equipment. In this review we present some useful aspects of the test and the interpretation of results.

INTRODUCCIÓN

Las pruebas de laboratorio dirigidas al estudio de las plaquetas se clasifican en 2 tipos: las que estudian la cantidad y las que evalúan la función. Entre las que evalúan la función se encuentra la agregometría plaquetaria; esta prueba comenzó a utilizarse en 1962 cuando Born la describió y explicó cómo es que se agregan las plaquetas.¹ La inducción de la agregación plaquetaria *in vitro* es un fenómeno que se estudia en el laboratorio clínico utilizando sustancias con capacidad agregante como adenosín difosfato (ADP), epinefrina, colágeno y ristocetina.²⁻⁴

El método más utilizado para el estudio de la agregación plaquetaria es la turbidimetría; es común que los pacientes con alteración en la función de las plaquetas tengan menos de 70% de agregación con los agonistas mencio-

nados y dependiendo del defecto o alteración puede evidenciarse un patrón; por ejemplo, en el síndrome de Bernard-Soulier^{5,6} existe una disminución en la agregación plaquetaria cuando la inducción se realiza con ristocetina sin mostrar alteración con los otros agregantes.

Una patología frecuente en la población mexicana es la identificación de hiperagregabilidad plaquetaria o también conocida como «síndrome de plaquetas pegajosas» (SPP), el cual es un factor que predispone a trombosis y en nuestro medio, una de las alteraciones mayormente identificada en pacientes con trombofilia.⁷⁻¹⁵

En esta revisión describiremos las características y la utilidad de las pruebas de laboratorio para la evaluación de la función plaquetaria como la agregometría plaquetaria, la microscopía electrónica, la citometría de flujo, la innovación de nuevas tecnologías dentro de

Correspondencia:
Israel Parra-Ortega
Departamento de
Laboratorio Clínico,
Hospital Infantil de
México «Federico
Gómez».
Dr. Márquez Núm.
162,
Col. Doctores,
06720,
Delegación
Cuauhtémoc,
México, D.F.
Tel: 5228 9917, ext.
2280 y 9108
E-mail: i_parra29@
hotmail.com

este campo como el equipo PFA-100, al igual que los aspectos indispensables para la interpretación de sus resultados.

AGREGOMETRÍA

La prueba tiene como principio la inducción *in vitro* de la adhesión y agregación plaquetaria con sustancias agonistas; el método más utilizado de medición es la turbidimetría que mide el promedio de la agregación plaquetaria proveniente de la diferencia de densidad óptica que existe entre el plasma rico en plaquetas (PRP) y el plasma pobre en plaquetas (PPP), cuando se agrega un agonista como ADP, epinefrina, colágeno y ristocetina, por citar algunos; a medida que se agregan las plaquetas, permiten mayor paso de luz disminuyendo la densidad óptica, arrojando el resultado mediante las curvas de agregación en función del tiempo. Otro método de medición también utilizado es el de la impedancia, éste mide el aumento en la resistencia al paso de la corriente eléctrica a través de 2 electrodos colocando sangre completa en contacto con un agonista cuando comienzan a agregarse las plaquetas.^{1,5,6}

Desarrollo de la técnica: agregación plaquetaria por turbidimetría

A. Indicaciones para el paciente (previo al estudio) y tipo de muestra

1. El paciente no debe encontrarse bajo tratamiento médico a base de ácido acetilsalicílico, antiinflamatorios no esteroideos u otro medicamento que pudiera inhibir el fenómeno de agregación plaquetaria por lo menos durante 10 días previos a la prueba.
2. El paciente debe presentarse con un ayuno mínimo de 8 horas para evitar la interferencia por lipemia de la muestra. Si el paciente presenta hipertrigliceridemia mayor de 500 mg/dL, debe aumentarse el tiempo de ayuno.
3. La muestra de sangre debe ser obtenida utilizando tubos con citrato de sodio al 3.2% como anticoagulante, con 9 partes de sangre venosa y una de anticoagulante.
4. Obtención de PRP y PPP:
Una vez obtenida la muestra debe centrifugarse a 1,500 revoluciones por minuto

(rpm) durante 5 minutos, separar el plasma rico en plaquetas en un tubo de plástico, realizar un conteo plaquetario (puede realizarse en los equipos electrónicos automatizados con los que se realiza la cito-metría hemática) y ajustarlas a 250 k/μL (es indispensable obtener esta concentración de plaquetas, de no ser así la prueba pierde objetividad). El resto del paquete globular debe ser centrifugado nuevamente a 3,500 rpm durante 10 minutos para obtener PPP que será utilizado para diluir el PRP si es necesario.

5. Ya obtenidos el PPP y el PRP deben protegerse de la luz, sin agitarse ni exponerse a cambios bruscos de temperatura para evitar que las plaquetas sufran cambios que afecten el resultado de la prueba. Es recomendable colocar las muestras en un intervalo de temperatura de 20-25 °C.

B. Proceso analítico

El principio de la medición se basa en el cambio de la densidad óptica que existe entre el PRP y PPP cuando se agrega un agonista; en el mercado existe una gran variedad de equipos automatizados para medir la agregación plaquetaria y dependiendo del modelo y marca del equipo se decide la técnica a seguir; por lo cual nosotros describiremos algunos aspectos que deben considerarse para la correcta ejecución de la prueba.

1. Conectar el equipo a una corriente eléctrica que no tenga variaciones de acuerdo con las necesidades del propio instrumento (ver manual de operación).
2. Verificar que las celdas de reacción y el incubador mantengan una temperatura constante a 37 °C.
3. El agregómetro debe calibrarse o ajustarse mediante la colocación de las muestras del paciente; la muestra de PPP del paciente debe colocarse en una cubeta de reacción y asignar el valor que represente 100% de la transmitancia y la muestra del paciente PRP debe representar 0% de la transmitancia.
4. Asegurarse de la funcionalidad del agitador magnético (debe realizarse dentro del protocolo de funcionalidad al momento de

instalar el equipo y posterior al mantenimiento programado) recubierto de teflón en las celdas de reacción y la velocidad de agitación, la naturaleza del agitador puede variar según el fabricante del equipo.

5. Despues de verificar la funcionalidad del equipo, se inicia la prueba con la determinación de la agregación espontánea (autoagregación) dejando correr el graficador en la línea basal por 5 minutos (para hacer el informe de la presencia o ausencia de autoagregación). El volumen de muestra, la velocidad de agitación y el canal de detección se especifican en cada instrumento dependiendo del modelo y marca.
6. Posteriormente se realiza el mismo procedimiento con cada uno de los agonistas correspondientes (ADP, epinefrina, colágeno, ristocetina, ácido araquidónico).¹⁻⁶

C. Procesamiento de datos y emisión de resultados

El porcentaje de agregación se obtiene a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de agregación} = (\text{punto más alto del promedio de agregación}-20)/80 \times 100$$

Debe compararse con los valores de referencia en estudio de la función plaquetaria (*cuadro I*). Otra manera de cuantificar la agregación plaquetaria es presentar la tasa inicial de agregación por minuto; esta forma se determina calculando la tangente a partir de la deformación o agregación inicial y el cálculo de la pendiente de la tangente por unidad de tiempo (normalmente se realiza por minuto).²

Al finalizar el proceso tendremos una serie de resultados correspondientes a cada agonista utilizado durante el proceso de agregación plaquetaria, los cuales deben ser interpretados de manera adecuada para el correcto diagnóstico de la patología del paciente (*cuadro II*).

D. Investigación de hiperagregabilidad plaquetaria: síndrome de plaquetas pegajosas

El SPP supone trastornos en la habilidad de agregación de las plaquetas, se caracteriza por incremento anormal de las mismas y tendencia a fenómenos vasocclusivos arteriales y venosos. No se conoce aún con certeza el mecanismo patogénico; su existencia sólo puede determinarse con las pruebas de agregación plaquetaria. Se desconoce también su prevalencia, pero hay datos que sugieren que es frecuente. Algunos autores opinan que es responsable de 20% de las trombosis arteriales y de 13% de las venosas en las que no es posible identificar una causa, por lo que se le considera la condición de trombofilia más frecuente en México. Son escasos los reportes de evaluación clínica de pacientes mexicanos, lo que hace imperativo realizar más estudios prospectivos rigurosos para establecer su magnitud.⁷⁻¹⁷

Para establecer el diagnóstico de SPP debe demostrarse la hiperagregabilidad plaquetaria. El método más utilizado es el descrito por Mammen,⁸ el cual se obtiene mediante la sangre del paciente en ayuno, preferentemente entre 8 y 10 de la mañana; al realizar la punción venosa, debe liberarse el torniquete y desecharse los primeros 5 mL de sangre, posteriormente se aspiran 18 mL en una jeringa de 20 mL previamente preparada

Cuadro I. Valores de referencia en estudio de la función plaquetaria.

Parámetros	Media ± DE	Intervalo
% Agregación del ácido araquidónico (500 µg/mL)	69 ± 16	36-101
% Secreción de ácido araquidónico	35 ± 16	2-67
Umbral para la agregación de ADP, µmol/L	5.5 ± 1.7	1-7.5
% Secreción de ADP	47 ± 11	24-69
Umbral para la agregación de epinefrina, µmol/L	5.8 ± 1.6	0.5-10
% Secreción epinefrina	41 ± 19	16-66
% Agregación de colágeno (5 µg/mL)	80 ± 6.4	63-84
% Secreción de colágeno	68 ± 16	41-83
% Agregación de γ-trombina	74 ± 7.8	58-89
% Secreción de γ-trombina	56 ± 16	23-88
% Consumo serotonina	90.7 ± 3.6	75-97

Abreviaturas: ADP = adenosín difosfato.

Cuadro II. Interpretación de los resultados de agregación plaquetaria en algunos padecimientos hereditarios.

Patología/medicamento	ADP/EP 1 ^a fase	ADP/EP 2 ^a fase	Colágeno	Ácido araquidónico	Ristocetina
Enfermedad de Von Willebrand	N	N	N	N	A
Trombastenia de Glanzmann	A	A	A	A	N
Síndrome de Bernard-Soulier	N	N	N	N	A
Trastorno de almacenamiento	N/D	N/D	N/D	N/D	N

Abreviaturas: A = ausente, ADP/EP = adenosín difosfato y epinefrina, D = disminuido, N = normal, NA = no aplicable.

que contenga 2 mL de una solución de citrato de sodio a 3.8%; se centrifuga lo antes posible durante 10 minutos a 100 grays y a temperatura ambiente para obtener PRP. La mitad de este plasma vuelve a centrifugarse a 3,500 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente para obtener PPP. Para las pruebas de agregación, el PRP se diluye con PPP para obtener una cuenta plaquetaria de 200 x 10⁹/L. La agregación plaquetaria se mide en un agregómetro y se registran los cambios en la densidad óptica, manteniendo una temperatura de 37 °C y con el agitador a velocidad constante. La agregación *in vitro* se induce con 2 reactivos a 3 concentraciones diferentes, con las siguientes concentraciones; ADP (2.34, 1.17 y 0.58 umol) y epinefrina (11, 1.1 y 0.55 μmol). La agregación máxima se expresa como el porcentaje de la transmisión de la luz calibrado para cada muestra. Los valores anormales para la agregación plaquetaria con las 3 concentraciones de ADP (2.34, 1.17 y 0.58 μmol) son variables, pero por lo general se encuentran por arriba de 55, 36 y 12%, respectivamente, en tanto que para las 3 concentraciones de epinefrina (11, 1.1 y 0.55 μmol) están por encima de 80, 27 y 20% respectivamente (*cuadro III*).

Los tipos del SPP se definen de acuerdo con los resultados en la agregación: el tipo I se caracteriza por hiperagregabilidad con ADP y epinefrina, el tipo II supone hiperagregabilidad plaquetaria sólo con epinefrina y el tipo III exhibe hiperagregabilidad plaquetaria sólo con ADP (*cuadro IV*).¹⁶⁻²⁰

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

La microscopía electrónica (ME) ayuda a revelar o evidenciar anomalías plaquetarias a nivel estructural; utilizando esta metodología podemos evaluar la disminución en el número de gránulos plaquetarios alfa y densos. La

Cuadro III. Valores de referencia en la investigación del síndrome de plaquetas pegajosas.

Reactivos	Valor de referencia %
EPI 11 μM	39-80
EPI 1.1 μM	15-27
EPI 0.55 μM	9-20
ADP 2.34 μM	7.5-55
ADP 1.17 μM	2-36
ADP 0.58 μM	0-12

Abreviaturas: ADP = adenosín difosfato, EPI = epinefrina.

ME es capaz de producir hasta 10⁵ aumentos y una resolución de 0.2 nm. Para el examen, las muestras de sangre periférica deben ser procesadas y fijadas con resinas que garanticen su correcta conservación, posteriormente se obtienen las preparaciones necesarias. Para mejorar su apreciación pueden utilizarse tinciones que ayuden a contrastar las estructuras celulares.

La fijación se logra mejor mediante el uso de glutaraldehído al 3%, lo que permite una excelente preservación morfológica, favoreciendo la visualización de los microtúbulos y las demás estructuras celulares. La temperatura de fijación es crucial para mantener la estructura celular en las plaquetas. Se recomienda realizar esta parte del proceso a 37 °C, ya que las plaquetas mantienen su forma y estructura, la cual se pierde a 22 °C. Las muestras de sangre periférica utilizadas para obtener plaquetas pueden prepararse a partir de PRP y cuando el volumen sanguíneo es pequeño (muestras pediátricas) puede utilizarse la capa de leucocitos.^{21,22}

La preparación de las plaquetas se realiza a partir de sangre periférica obtenida con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante, se centrifugan a 1,000 rpm durante 10 minutos; una vez obtenido el PRP, se realiza la fijación de las plaquetas a 4 °C con glutaraldehído al 3% en buffer fosfato (Millonig) 0.15 M con un pH 7.4, durante una hora y se lavan con el buffer; a continuación se coloca la preparación en buffer a 4 °C durante toda la noche (aproximadamente 12 horas). Posteriormente se realiza la fijación con tetróxido de osmio al 2% en buffer fosfato durante una hora a 4 °C y se realizan 2 lavados con solución buffer por 5 minutos a la misma temperatura. La deshidratación se realiza en alcohol a 2 concentraciones diferentes 50 y 70% (iniciando con la de menor concentración) durante 5 minutos en cada una de ellas a la misma temperatura; al final se realizan 3 lavados con alcohol absoluto durante 10 minutos a temperatura ambiente, posterior a estos procesos la preparación de plaquetas queda lista para ser capacitada y visualizada; en algunos casos puede recurrirse a tinciones e inmunohistoquímica para visualizar mejor las estructuras celulares (figura 1).^{22,23}

Enfermedades en las que el uso de la microscopía electrónica es de gran ayuda:

- Defectos en los gránulos α (síndrome de la plaqueta gris).

Cuadro IV. Criterios diagnósticos del síndrome de plaquetas pegajosas.

Clasificación

Tipo I: hiperagregación con EPI y con ADP

Tipo II: hiperagregación sólo con EPI

Tipo III: hiperagregación sólo con ADP

Diagnóstico sugestivo

Hiperagregación sólo con un reactivo y a una sola concentración con historia de trombosis

Diagnóstico firme

Historia de trombosis más:

- Hiperagregabilidad plaquetaria con 2 concentraciones y 2 reactivos diferentes
- Hiperagregabilidad a 1 concentración con 2 reactivos diferentes
- Alteración en una sola concentración y con 1 reactivo en 2 ocasiones

Abreviaturas: ADP = adenosín difosfato, EPI = epinefrina.

- Síndrome de Paris-Trousseau.
- Enfermedad plaquetaria de Québec.
- Defectos en los gránulos densos.
- Síndrome de Hermansky-Pudlak.
- Síndrome de Chediak-Higashi.
- Defectos en el citoesqueleto (asociadas con MYH9).
- Síndrome de Wiskott-Aldrich.
- Defectos en la membrana plaquetaria (síndrome de Bernard Soulier).

CITOMETRÍA DE FLUJO

En los últimos años la citometría de flujo se ha manifestado como un excelente apoyo para establecer el diagnóstico y clasificación de diversas patologías utilizando anticuerpos monoclonales. Representa un método rápido, objetivo y cuantitativo del análisis de las células, núcleos, cromosomas, mitocondrias y otras partículas en suspensión. El principio se basa en pasar células u otras partículas en suspensión, alineadas, de una en una, por delante de un haz de luz. La interacción de las células o de las partículas con el rayo luminoso genera señales que son conducidas a detectores y la información obtenida se agrupa en 2 tipos



Figura 1. Microscopio electrónico. La microscopía electrónica ayuda a revelar o evidenciar anomalías plaquetarias a nivel estructural. El uso de esta metodología nos permite evaluar la disminución en el número de gránulos plaquetarios alfa y densos de las plaquetas. Foto Cortesía del Dr. Stanislaw Sadowinsky Pine, Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

de datos fundamentales: la generada por la dispersión de la luz y la relacionada con la emisión de la luz por los fluorocromos presentes en las células o las partículas al ser estimuladas por el rayo de luz.²⁴

Las glicoproteínas de membrana de las plaquetas y el patrón de expresión son fundamentales para identificar y clasificar de manera correcta la etiología de algunas enfermedades. En el caso del síndrome de Bernard-Soulier, la expresión de alguna de las glicoproteínas Ib, IX y V se ve disminuida y por lo tanto no existe una expresión adecuada del complejo Ib/IX/V. Basándose en estos hallazgos y la sospecha clínica puede confirmarse el diagnóstico. El fenotipo de plaquetas consiste en la evaluación de las glicoproteínas constitutivas de la membrana plaquetaria utilizando marcadores específicos como CD41, CD42 y CD61 y es posible caracterizar anomalías en la expresión de glicoproteínas de la membrana, también se han propuesto otros marcadores de la función plaquetaria en estudios de alteraciones de la adhesión plaquetaria como antiCD42a, antiCD42b, antiCD42c y antiCD42d (*cuadro V*).²⁵ Sin embargo, la citometría de flujo tiene ciertas consideraciones especiales, entre las que destaca la necesidad de un operador especializado (conocimientos técnicos y científicos), ya que la preparación de las muestras no es un proceso fácil pese al desarrollo de sistemas automatizados. Una ventaja es el empleo de programas de computación que han vuelto estos procesos más sencillos.²⁶

ANALIZADOR DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA: PFA-100

El analizador de la función plaquetaria PFA-100 está disponible como una posible alternativa o suplemento a las pruebas básicas de coagulación. Proporciona una evaluación rápida y simple de la función plaquetaria mediante un procedimiento que utiliza pequeñas cantidades de sangre anticoagulada con citrato de sodio al 3.2%. Dentro del instrumento, las muestras de sangre utilizadas se aspiran a altas velocidades a través de un capilar en el cartucho del equipo y en su camino se encuentran con una membrana revestida con colágeno y epinefrina, o con colágeno y ADP. Los cartuchos de prueba están constituidos por un depósito de muestra, un capilar y una membrana recubierta con 2 mg de equina colágeno de tipo I en combinación con bitartrato de epinefrina 10 mg (cartucho de PAI) o bien colágeno de tipo I con 50 mg de adenosina 5'-difosfato (cartucho de ADP). La membrana desencadena la adhesión plaquetaria, la activación y la formación de agregados plaquetarios, lo que da como resultado la oclusión de la abertura central

150 µm y cese del flujo de sangre; el dispositivo mide el tiempo requerido para ocluir la abertura central con un tapón de plaquetas. Los resultados se reportan en segundos; es decir, el tiempo que tardan los agregados plaquetarios en cerrar la abertura; si ésta permanece sin cerrarse a los 300 segundos, se reporta como «sin cierre».^{27,28} Sin embargo, este dispositivo tiene varias limitantes, dentro de las cuales destacan: las muestras sanguíneas con citrato de sodio como anticoagulante no deben procesarse en un tiempo posterior a 4 horas de su toma, no deben procesarse muestras sanguíneas con un hematocrito bajo (< 30%), el conteo de plaquetas es indispensable, pues un bajo recuento de plaquetas (< 100 g/L) puede dar lugar a la prolongación de los tiempos de cierre. Para emitir los informes de estas pruebas es necesario duplicar las mediciones dentro de las primeras 4 horas posteriores a la toma de muestra; si la muestra es reprocesada después de 4 horas, los resultados difieren y pueden llegar a generar confusión, pues se ha descrito que hay diferencias significativas entre las muestras de sangre tomadas por la mañana y procesadas por la tarde. Existen muchos factores intrínsecos, como los de coagulación y los factores fibrinolíticos que muestran variaciones diurnas; sin embargo su interferencia en la prueba aún no está del todo clara.²⁹ Se han encontrado tiempos de cerrado significativamente más largos en individuos de grupo sanguíneo «0», diferencia probablemente atribuible a menores concentraciones del factor de von Willebrand (FvW) en estos pacientes respecto a los demás grupos sanguíneos, y debe considerarse esta característica para la correcta interpretación de los resultados. La prueba PFA-

Cuadro V. Algunos antígenos plaquetarios cuantificables por citometría de flujo.

CD	Estructura
CD36	GPIV
CD41	GPIIb
CD42a	GPIX
CD42b	GPIb α
CD42c	GPIb β
CD42d	GPV
CD61	GPIIIa
CD62P	P selectina
PAC-1	GPIIb/IIIa

Abreviaturas: CD = cúmulo de diferenciación (*cluster of differentiation* en inglés), GP = glicoproteína.

Cuadro VI. Características de las pruebas de laboratorio para el monitoreo de la terapia antiplaquetaria.

Prueba	Ventajas	Limitantes	Pronóstico	Aspirina	Clopidogrel	GP IIb/IIIa
Agregometría plaquetaria	Sangre completa	Consumo tiempo Requiere preparación de la muestra Mala capacidad de reproducción Necesita personal operativo con experiencia	B	B	B	B
Citometría de flujo	Sangre completa Volumen de muestra pequeño	Requiere preparación de la muestra Necesita personal operativo con experiencia	B	B	B	B
PFA-100	Sangre completa Volumen de muestra pequeño Fácil de usar	Pipeteado manual Dependiente de: FvW y Hto Recuento plaquetario	B	B	NR	NR

Abreviaturas: B = capaz de detectarlo, FvW = factor de von Willebrand, Hto = hematocrito, NR = no recomendable.

100 revela resultados patológicos (tiempos de cerrado más largos) en diversos trastornos de plaquetas, tales como la trombastenia de Glanzmann, el síndrome de Bernard Soulier, enfermedad agrupación de almacenamiento o el síndrome de Hermansky-Pudlak.³⁰

MONITOREO DEL TRATAMIENTO

El tratamiento antiplaquetario con aspirina y clopidogrel es la piedra angular de la terapia en pacientes con síndromes coronarios agudos y posterior a la intervención coronaria percutánea; es de vital importancia para reducir el riesgo de eventos trombóticos y mejorar los resultados clínicos a largo plazo; no obstante, más de 10% de estos pacientes muestran eventos isquémicos recurrentes, por lo que es necesario monitorear la terapia anticoagulante para así disminuir la recidivas.³¹

Existen varias metodologías para evaluar el monitoreo de la terapia antiplaquetaria, entre ellas la agregometría plaquetaria por turbidimetría, considerada como el estándar de oro para la medición de la función plaquetaria y la evaluación de sus alteraciones; sin embargo, requiere largos períodos; la preparación especializada de las muestras tiene una baja capacidad de reproducirse y es necesario tener personal operativo con experiencia para realizar el estudio. El mismo problema se presenta con la agregometría realizada por impedancia eléctrica y con la evaluación por citometría de flujo; a pesar de estas limitantes, son estudios de gran utilidad para valorar la resistencia a la aspirina, al clopidogrel, a los inhibidores

de la GP IIb/IIa, así como para predecir los resultados clínicos de los pacientes a largo plazo.³²

Las pruebas realizadas en el PFA-100 también pueden utilizarse para el monitoreo de la efectividad del tratamiento antiplaquetario con la ventaja de que es un *point of care*; su aplicación e interpretación son rápidas y sencillas. Cabe señalar que esta prueba sólo puede utilizarse para la monitorización del tratamiento con aspirina y predecir los resultados clínicos a largo plazo. Recientemente se ha observado una alta resistencia a la aspirina, hecho que se asocia a un mayor riesgo de eventos cardiovasculares, por lo que la valoración de los pacientes mediante la prueba de PFA-100 puede ser útil en la predicción de resultados adversos. Hay que tomar en cuenta que los tiempos de cierre utilizados para definir una baja respuesta a la aspirina varían significativamente en los estudios realizados (130-300 seg), por lo que es prioritaria la estandarización de este ensayo (*cuadro VI*).^{33,34}

REFERENCIAS

1. Born GV, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol*. 1963; 168: 178-195.
2. Zhou L, Schmaier AH. Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma: description of procedures with the aim to develop standards in the field. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123 (2): 172-183.
3. Rivera-Pozo J et al. Trombopatías congénitas. Bases moleculares y aspectos clínicos. En: García-Conde JF, San Miguel J, Sierra J. Hematología. Madrid, España: ARAN; 2003: p. 353-368.
4. De Groot GP. The role of von Willebrand factor in platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2002; 28: 133-138.

5. Parra-Ortega I. El laboratorio en el diagnóstico de las alteraciones congénitas de las plaquetas: síndrome de Bernard-Soulier. Medicina Universitaria. 2006; 8 (31): 105-110.
6. Córdoba-Pluma VH, Vargas-Viveros P, Vega C, Quintero M, Hurtado-Monroy R. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. Medicina Interna de México. 2011; 27 (1): 58-74.
7. Parra-Ortega I, Estrada-Gómez RA, Ruiz-Argüelles GJ. Síndrome de las plaquetas pegajosas, la condición de trombofilia heredada más frecuente en pacientes mexicanos. Medicina Universitaria. 2007; 9 (34): 20-23.
8. Mammen EF. Sticky platelet syndrome. Semin Thromb Hemost. 1999; 25 (4): 361-365.
9. Bick RL. Recurrent miscarriage syndrome due to blood coagulation protein/platelet defects: prevalence, treatment and outcome results. Clin Appl Thromb Hemost. 2000; 6 (3): 115-125.
10. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Cruz-Cruz D, Reyes-Aulis MB. Primary thrombophilia in México III. A prospective study of the sticky platelet syndrome. Clin Appl Thromb Hemost. 2002; 8 (3): 273-277.
11. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Valdes-Tapia P, Gómez-Rangel JD et al. Primary thrombophilia in Mexico V. A comprehensive prospective study indicates that most cases are multifactorial. Am J Hematol. 2005; 78: 21-26.
12. Parra-Ortega I, Ruiz-Argüelles GJ. Trombofilia multifactorial en México: descripción de 18 pacientes mestizos mexicanos con el síndrome de las plaquetas pegajosas. Medicina Interna de México. 2006; 22: 93-96.
13. Ruiz-Argüelles GJ, González-Carrillo ML, Estrada-Gómez R et al. Trombofilia primaria en México, parte VI: falta de asociación estadística entre las condiciones trombofílicas heredadas. Gaceta Médica de México. 2007; 143 (4): 317-322.
14. Ruiz-Argüelles GJ, Alarcón-Urdaneta C, Calderón-García J, Ruiz-Delgado GJ. Primary thrombophilia in México VIII: description of five kindred's of familial sticky platelet syndrome phenotype. Revista de Hematología de México. 2011; 12 (2): 73-78.
15. Césarman-Maus G. Myths and reality of the sticky platelet syndrome. Revista de Hematología de México. 2011; 12 (2): 55-56.
16. Calderón-Cruz B, Pérez-González A, Peña-Duque MA et al. Prasugrel resistance may be linked to the sticky platelet syndrome report of one case. Revista de Hematología de México. 2011; 12 (2): 105-109.
17. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Camacho-Alarcón C et al. Primary thrombophilia in México IX: the glycoprotein IIIa PLA1/A2 polymorphism is not associated with the sticky platelet syndrome phenotype. Clin Appl Thromb Hemost. 2013; 19 (6): 689-692.
18. Moncada B, Ruiz-Argüelles GJ, Castillo-Martínez C. The sticky platelet syndrome. Hematology. 2013; 18 (4): 230-232.
19. Kubisz P, Ivankov J, Holly P, Stasko JN, Musial J. The glycoprotein IIIa PLA1/A2 polymorphism-a defect responsible for the sticky platelet syndrome? Clin Appl Thromb Hemost. 2006; 12 (1): 117-119.
20. Kubisz P, Bartosova L, Ivankova J, Holly P, Stasko J, Skerenova M et al. Is gas 6 protein associated with sticky platelet syndrome? Clin Appl Thromb Hemost. 2010; 16 (6): 701-704.
21. Clauer S, Cramer-Bordé E. Role of platelet electron microscopy in the diagnosis of platelet disorders. Semin Thromb Hemost. 2009; 35 (2): 213-223.
22. Balduini CL, Cattaneo M, Fabris F, Gresele P, Iolascon A, Pulcinelli FM et al. Inherited thrombocytopenias: a proposed diagnostic algorithm from the Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. Haematologica. 2003; 88 (5): 582-592.
23. Hayward CP, Pai M, Liu Y, Moffat KA, Seecharan J, Webert KE et al. Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry: results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments. J Thromb Haemost. 2009; 7 (4): 676-684.
24. Schmitz G, Rothe G, Ruf A, Barlage S, Tschöpe D, Clemetson K et al. European working group on clinical cell analysis: consensus protocol for the flow cytometric characterization of platelet function. J Thromb Haemost. 1998; 79: 885-896.
25. Orfa A, Ruiz-Arguelles A. Citometría de flujo y su aplicación en hematología. En: Enciclopedia iberoamericana de hematología. Vol. I. España: Ediciones Universidad de Salamanca; 1992: p. 61-75.
26. Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. Blood. 1996; 87: 4925-4936.
27. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an *in vitro* platelet function analyzer-PFA-100. Semin Thromb Hemost. 1995; 21: 106-112.
28. Jámbor C et al. Multiple electrode whole blood aggregometry, PFA-100, and *in vivo* bleeding time for the point-of-care assessment of aspirin-induced platelet dysfunction in the preoperative setting. Anesthesia & Analgesia. 2011; 113 (1): 31-39.
29. Walter A, Wuillemina, Katharina M, Gassera, Sacha S, Zeerleder, Bernhard Lämmleb. Evaluation of a Platelet Function Analyser (PFA-100®) in patients with a bleeding tendency. Swiss Med Weekly. 2002; 132: 443-448.
30. von Beckerath N, Koch W, Mehilli J et al. ABO locus O1 allele and risk of myocardial infarction. Blood Coagul Fibrinolysis. 2004; 15 (1): 61-67.
31. Sofi F, Marcucci R, Gori AM, Giusti B, Abbate R, Gensini GF. Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity: an updated meta-analysis. J Thromb Haemost. 2010; 103: 841-848.
32. Sambu N, Curzen N. Monitoring the effectiveness of antiplatelet therapy: opportunities and limitations. Br J Clin Pharmacol. 2011; 72 (4): 683-696.
33. Reny JL, De Moerloose P, Dauzat M, Fontana P. Use of the PFA-100 closure time to predict cardiovascular events in aspirin treated cardiovascular patients: a systematic review and meta-analysis. J Thromb Haemost. 2008; 6: 444-450.
34. Crescente M, Di Castelnuovo A, Iacoviello L, Vermynen J, Cerietti C, de Gaetano G. Response variability to aspirin as assessed by the platelet function analyzer (PFA)-100. A systematic review. J Thromb Haemost. 2008; 99: 14-26.