

**Función plaquetaria y diagnóstico de enfermedad de von Willebrand.**

**Platelet function tests and von Willebrand disease diagnosis**

## **Control de antiagregación**

### **Monitoring antiplatelet therapy**

**Herrera L**

*Laboratorio de Hemostasia. Facultad de Farmacia y Bioquímica.  
Hospital de Clínicas José de San Martín. Universidad de Buenos Aires  
Servicio de Hemoterapia. Hospital Alemán.*

mherrera@hospitalaleman.com



**TOPICOS  
DE LABORATORIO**

HEMATOLOGÍA  
Volumen 20 • Número Extraordinario  
XII Congreso del Grupo CAHT: 146-148  
Septiembre 2016

**Palabras clave:** Antiagregantes, ensayos de función plaquetaria, plaquetas.

**Keywords:** antiplatelet therapy, platelet function assays, platelets.

Las plaquetas desempeñan un papel fundamental en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares, incluyendo los síndromes coronarios agudos, el infarto cerebral y la enfermedad vascular periférica. La terapia antiplaquetaria es una herramienta básica en la prevención y tratamiento de la patología aterosclerótica.

Existen tres familias de agentes antiplaquetarios que proveen eficacia clínica comprobada y que inhiben a las plaquetas a través de mecanismos selectivos y complementarios:

- 1) Los inhibidores de la ciclo-oxigenasa-1 (COX-1), tales como la aspirina, cuyo mecanismo de acción se basa en inhibir la vía del tromboxano  $A_2$  ( $TxA_2$ ) por acetilación irreversible de COX-1.
- 2) Los antagonistas de los receptores de la adenosina 5' difosfato (ADP) como las tienopiridinas, ticlopidina, clopidogrel y prasugrel: afectan la vía

del ADP bloqueando irreversiblemente el receptor P2Y12<sup>(1)</sup>.

- 3) Los antagonistas de la glicoproteína IIb/IIIa tales como abciximab, eptifibatide y tirofiban: actúan bloqueando selectivamente el receptor plaquetario para el fibrinógeno y las proteínas adhesivas como fibronectina, vitronectina y von Willebrand. En los últimos años los esfuerzos se centran en la búsqueda de nuevas drogas antiplaquetarias a fin de mejorar su efectividad y seguridad. De hecho, nuevos fármacos están en fase de desarrollo y varios han llegado ya a uso clínico. Entre ellos están los nuevos inhibidores de los receptores P2Y12 (ticagrelor, cangrelor y elinogrel) y los antagonistas del receptor PAR1 de la trombina (vorapaxar, atopaxar). A pesar de que numerosos estudios han demostrado la eficacia clínica de estas drogas, un número significativo de pacientes presentan recurrencia del even-

to trombótico, aún bajo tratamiento antiagregante, instaurando así el concepto de *resistencia* a los antiplaquetarios.

Si bien el concepto de *resistencia* a estos fármacos es controvertido, existe gran variabilidad en la respuesta a estas drogas, por lo que surge la necesidad de monitorear en el laboratorio la terapéutica antiplaquetaria, con el objetivo de poder individualizar el tratamiento y conseguir la máxima eficacia anti-trombótica minimizando el riesgo hemorrágico.

### ¿Cuál es el ensayo de funcionalidad plaquetaria adecuado para el monitoreo de estas drogas?

Para ser utilizado en la práctica clínica, se necesita un ensayo sensible y específico con condiciones perfectamente estandarizadas, no sólo en la fase analítica sino también en la pre y pos analítica, permitiendo identificar con exactitud la respuesta de los pacientes frente a los antiplaquetarios<sup>(2)</sup>.

La diversidad de pruebas disponibles para evaluar la función plaquetaria dificulta la determinación de la prevalencia real de la resistencia a estas drogas. Llama la atención que en los diferentes estudios publicados, se haya estimado una prevalencia de resistencia a la aspirina que varía entre 5% y 83.3% dependiendo de la metodología utilizada. La misma situación se presenta para la resistencia al clopidogrel donde la incidencia varía entre 4% y 30% de los pacientes estudiados.

La agregación plaquetaria por transmitancia de luz (LTA) ha sido el método más utilizado, considerada tradicionalmente como el patrón oro para evaluar la función plaquetaria. Gum y colaboradores definieron la resistencia a la aspirina usando esta metodología: una agregación del 70% o mayor con ADP 10 $\mu$ M y del 20% o mayor con ácido araquidónico (AA) 0,5 mg/ml, conforma la resistencia a la aspirina<sup>(3)</sup>.

Se han definido como no respondedores al clopidogrel a los pacientes en quienes la agregación plaquetaria estimulada con ADP 5 y 20  $\mu$ M induce una inhibición de la agregación menor a 10%; semirrespondedores aquéllos con inhibición del 10% al 29% y respondedores los que presentan una inhibición mayor al 30%<sup>(4)</sup>.

La gran ventaja de esta metodología es su flexibilidad en cuanto a los agonistas y concentraciones utilizadas, lo que permite obtener información relevante. La principal desventaja es que es laboriosa y

requiere de personal entrenado. Un punto importante a considerar es que para medir correctamente la reactividad plaquetaria residual in vitro en pacientes bajo tratamiento con clopidogrel, el test de función plaquetaria debe ser altamente específico para la vía de señalización ADP/P2Y<sub>12</sub>. La agregación por transmitancia de luz no responde a esta condición sobrestimando la prevalencia de no respondedores, debido a que la inducción por ADP se realiza sobre ambos receptores P2Y<sub>1</sub> y P2Y<sub>12</sub><sup>(1)</sup>.

La falta de estandarización en las variables pre analíticas como en las analíticas afectan significativamente los resultados de los ensayos. El tiempo que transcurre entre la última dosis y la toma de la muestra afecta cualquier ensayo de función plaquetaria, especialmente en pacientes con enfermedad coronaria en donde el recambio plaquetario acelera la entrada de nuevas plaquetas no inhibidas a la circulación. Además la función plaquetaria mostró tener ritmo circadiano con una máxima actividad a media mañana. Kozinsky reportó en pacientes en tratamiento con 75 mg de clopidogrel una prevalencia de hipo respondedores del 20,3% a las 10 de la mañana vs un 10,2% a las 2 de la tarde<sup>(5)</sup>.

En los últimos años se han desarrollado nuevos ensayos con dispositivos compactos que intentan reproducir in vitro la respuesta hemostática. El analizador de función plaquetaria PFA-100 ofrece simplicidad, rapidez, escaso volumen de muestra y valoración de la respuesta en condiciones de alto flujo. Por el contrario es un equipo inflexible (sólo pueden ser ensayados dos cartuchos Epinefrina/colágeno y Epinefrina/ADP) y el porcentaje de resistencia a la aspirina y el clopidogrel es mayor que con otras pruebas por lo que su utilidad clínica es discutida.

El ensayo VerifyNow Aspirin y el VerifyNow P2Y<sub>12</sub> utilizan AA y ADP respectivamente como agonistas plaquetarios presentando mayor especificidad y una buena correlación con los ensayos clínicos<sup>(6)</sup>.

Actualmente existe en el mercado un método fácil y sencillo de utilizar, el Plateletworks™ (Helena), donde la agregación plaquetaria se estima mediante el conteo de plaquetas en sangre entera antes y después de la activación usando colágeno, ADP o ácido araquidónico como agonista. Este ensayo permite controlar la terapia con clopidogrel y aspirina demostrando una buena correlación con los ensayos VerifyNow y la LTA.

La citometría de flujo en sangre total de la fosfo-

rilación intrplaquetaria de la proteína estimulada por vasodilatadores (VASP) ha demostrado ser un ensayo altamente específico para el monitoreo del clopidogrel, ya que el receptor P2Y1 no interviene en el proceso<sup>(7)</sup>.

El tiempo de sangría fue la primera prueba empleada para evaluar la función plaquetaria hace más de cien años, es un ensayo simple que evalúa in vivo el funcionamiento global de la hemostasia primaria. A pesar de sus limitaciones metodológicas podría ser útil para identificar pacientes con una mayor sensibilidad a la aspirina o el clopidogrel, que pueden presentar complicaciones hemorrágicas que directa o indirectamente pueden contribuir a su morbi mortalidad.

El conocimiento de que no todos los pacientes responden adecuadamente a estas drogas fomenta la idea de confeccionar un tratamiento individual para cada paciente con el fin de alcanzar la máxima efectividad sin disminuir la seguridad.

Existen varias estrategias posibles para superar una respuesta insuficiente a los fármacos antiagregantes y conseguir que los pacientes resistentes sean más sensibles: a) aumentar la dosis de carga y de mantenimiento, b) añadir un fármaco antiplaquetario adicional como el inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa o c) utilizar un nuevo fármaco antiagregante plaquetario más potente. La dificultad a la hora de abordar esta cuestión está en determinar qué hacer con los resultados de los ensayos obtenidos in vitro, ya que no siempre correlacionan con la clínica del paciente. Actualmente no hay evidencia concluyente de que el resultado de resistencia a antiagregantes obtenido en el laboratorio pueda ser considerado marcador fidedigno de riesgo de trombosis. Debido a la falta de estandarización de las pruebas y a la ausencia de un nivel de corte universal que nos permita identificar a aquellos pacientes en situación de riesgo, no está recomendada la monitorización rutinaria de las drogas antiagregantes, ni el cambio de terapia en función de los resultados<sup>(8-9)</sup>. El monitoreo de las drogas antiplaquetarias quedaría entonces limitado a ciertas situaciones especiales, pacientes seleccionados con alto riesgo trombótico, cambio de formulación y utilización de biosimilares o evaluación de la adherencia al tratamiento.

#### **Declaración de conflictos de interés:**

La autora declara que no posee conflictos de interés.

#### **Bibliografía**

1. Capodanno D, Ferreiro JL, Angiolillo DJ. Antiplatelet therapy: new pharmacological agents and changing paradigms. *J Thromb Haemost.* 2013 Jun;11 Suppl 1:316-29.
2. Cattaneo M. Response variability to clopidogrel: is tailored treatment, based on laboratory testing, the right solution? *J Thromb Haemost.* 2012;10:327-36.
3. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Nov 7;48(9):1918.
4. Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res.* 2005;115(1-2):89-94.
5. Kozinski M1, Bielis L, Wisniewska-Szmyt J et al. Diurnal variation in platelet inhibition by clopidogrel. *Platelets.* 2011;22:579-87.
6. Price MJ, Angiolillo DJ, Teirstein PS and et al. Platelet reactivity and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention: a time-dependent analysis of the Gauging Responsiveness with a VerifyNow P2Y12 assay: Impact on Thrombosis and Safety (GRAVITAS) trial. *Circulation.* 2011;124:1132-7.
7. Sharma RK, Voelker DJ, Sharma R. Evolving role of platelet function testing in coronary artery interventions. *Vascular Health and Risk Management* 2012;8, 65-75.
8. Bonello L, Tantry US, Marcucci R et al. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Dec 17;62(24):2261-73.2011;306:1215-23.
9. Cattaneo M. Potential clinical utility of genetic and platelet function tests in patients on treatment with clopidogrel. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2013 Dec;14 Suppl 1:S16-21.