

Utilidad clínica de la agregometría plaquetaria

Clinical utility of platelet aggregometry

Natalia María Guevara Arismendy¹, Gloria Elcy Escobar Gallo²,
Germán Campuzano Maya³

Resumen: la acción de las plaquetas en la hemostasia primaria comprende la adhesión a los vasos sanguíneos afectados, la activación, la secreción del contenido granular, y posteriormente, la agregación plaquetaria para la formación del tapón hemostático primario. Bajo las condiciones fisiológicas de flujo vascular, estos procesos requieren la acción sinérgica de varias proteínas y receptores plaquetarios, como también de agonistas que inducen la activación plaquetaria. Por ello, las mutaciones de los genes que codifican para moléculas y receptores de superficie implicados en estos procesos darán origen a desórdenes hemorrágicos como la enfermedad de von Willebrand, la trombostenia de Glanzmann, el síndrome de Bernard Soulier y la deficiencia de gránulos plaquetarios, entre otros. El diagnóstico de estas enfermedades se realiza mediante ensayos de función plaquetaria que simulan los procesos fisiológicos de activación, adhesión, liberación del contenido granular y agregación. Una de las pruebas de función plaquetaria más utilizada es la agregometría. En este artículo de revisión se describe la utilidad de esta prueba para el diagnóstico de desórdenes hemorrágicos hereditarios y del síndrome de la plaqueta pegajosa, un desorden trombotico hereditario caracterizado por hiperagregabilidad. Adicionalmente, se revisa el fundamento de esta prueba, las condiciones preanalíticas, analíticas y posanalíticas, las indicaciones, las contraindicaciones y la interpretación de los resultados.

Palabras clave: agregación plaquetaria, agregometría, agonistas plaquetarios, ristocetina, enfermedad de von Willebrand, trombostenia de Glanzmann, síndrome de Bernard Soulier, deficiencia de gránulos plaquetarios, síndrome de la plaqueta pegajosa.

Abstract: the role of platelets in primary hemostasis involves their adherence to sites of vessel injury, activation, secretion of platelet granule content, and finally, aggregation to form the primary hemostatic plug. Under physiologic conditions of vascular flow, these processes require the synergistic action of several proteins and platelet receptors, and also the action of physiological agonists that stimulate the activation of the platelets. As a result, hereditary mutations of genes codifying for molecules and surface receptors implied in primary hemostasis will be expressed as hemorrhagic disorders, including von Willebrand disease, Glanzmann thrombasthenia, Bernard Soulier syndrome, storage pool diseases, among others. The diagnosis of these diseases is possible through platelet function assays that resemble the physiological processes of activation, adhesion, release of granule content, and aggregation. Platelet aggregometry is one of the most frequently used tests. This review article intends to describe the utility of platelet aggregometry for the diagnosis of hereditary hemostatic disorders and sticky platelet syndrome,

¹ Microbióloga y Bioanalista. Estudiante de Maestría en Microbiología y Bioanálisis, énfasis Hematología, Universidad de Antioquia. Coordinadora científica Editorial Médica Colombiana S.A. Medellín, Colombia. Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: infoedi@edimeco.com.

² Bacterióloga y Laboratorista Clínica. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

³ Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Docente, Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.
Medicina & Laboratorio 2012; 18: 311-332.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 93. Editora Médica Colombiana S.A., 2012®.

Recibido el 19 de julio de 2012; aceptado el 8 de agosto de 2012.

a hereditary thrombotic disorder characterized by increased platelet aggregability. In addition, the fundamentals of the test, the pre-analytical, analytical and post-analytical conditions, the test indications, contraindications and results interpretation are discussed.

Key words: platelet aggregation, aggregometry, platelet agonists, ristocetin, von Willebrand disease, Glanzmann thrombasthenia, Bernard Soulier syndrome, storage pool disease, sticky platelet syndrome.

Las plaquetas tienen como función principal participar en la hemostasia a través de la adhesión al endotelio vascular cuando éste sufre algún tipo de lesión, de la agregación con otras plaquetas (hemostasia primaria) para formar el tapón hemostático primario y de la liberación de factores que participan en la cascada de la coagulación (hemostasia secundaria). Para lograrlo, las plaquetas están provistas de sustancias proagregantes y de glicoproteínas de superficie que favorecen la formación del tapón hemostático y el inicio de la cascada de la coagulación.

Es por ello, que las mutaciones en los genes que codifican para la síntesis de estas moléculas conducen a alteraciones hemorrágicas hereditarias, entre ellas, la trombostenia de Glanzmann, la enfermedad de von Willebrand, el síndrome de Bernard Soulier y la deficiencia de gránulos alfa o de gránulos densos, e incluso a alteraciones tromboticas hereditarias como el síndrome de la plaqueta pegajosa. Un mecanismo para el diagnóstico de estas enfermedades es la evaluación de la capacidad de respuesta de las plaquetas cuando entran en contacto con una sustancia proagregante (agonista) como el adenosín difosfato (ADP), el colágeno, la epinefrina, el ácido araquidónico y la ristocetina. Ello se realiza a través de ensayos de agregometría plaquetaria, los cuales son el objeto de este artículo de revisión, en el que se analizan los fundamentos de la prueba, las condiciones preanalíticas, analíticas y posanalíticas, la utilidad clínica y la interpretación de los resultados.

Adhesión y agregación plaquetaria

Para comprender el principio de las pruebas de agregometría es necesaria una explicación breve acerca de la función plaquetaria y su participación en los procesos de adhesión y de agregación. Las plaquetas están conformadas principalmente por moléculas procoagulantes contenidas en los gránulos citoplasmáticos y por glicoproteínas ancladas a la membrana, las cuales permiten la interacción con otras plaquetas y con el endotelio vascular. Las plaquetas circulan en estado de reposo hasta que se produce una injuria tisular, en cuyo caso se adhieren al subendotelio, se activan (cambian de forma y liberan su contenido granular), inducen el reclutamiento de más plaquetas y se agregan [1, 2] (ver **figura 1**).

Cuando se produce una lesión en el endotelio vascular las moléculas del factor von Willebrand, de colágeno y de fibronectina del subendotelio quedan expuestas a la luz vascular. Las plaquetas interactúan con los multímeros de alto peso molecular del factor von Willebrand por medio del complejo de las glicoproteínas GPIb/IX/V, ruedan por el sitio afectado y se activan lentamente; posteriormente, se unen por medio de la glicoproteína GPIIb/IIIa al factor von Willebrand y mediante de la glicoproteína GPIa/IIa y la GPVI al colágeno, de forma que se unen fuertemente al subendotelio, proceso denominado adhesión plaquetaria. Además, las plaquetas son activadas por los agonistas presentes en el sitio afectado, en especial el colágeno y la trombina [2-5].

La acción de agonistas como la trombina induce cambios bioquímicos y morfológicos de las plaquetas, como la liberación del contenido granular (activación), principalmente del ADP y

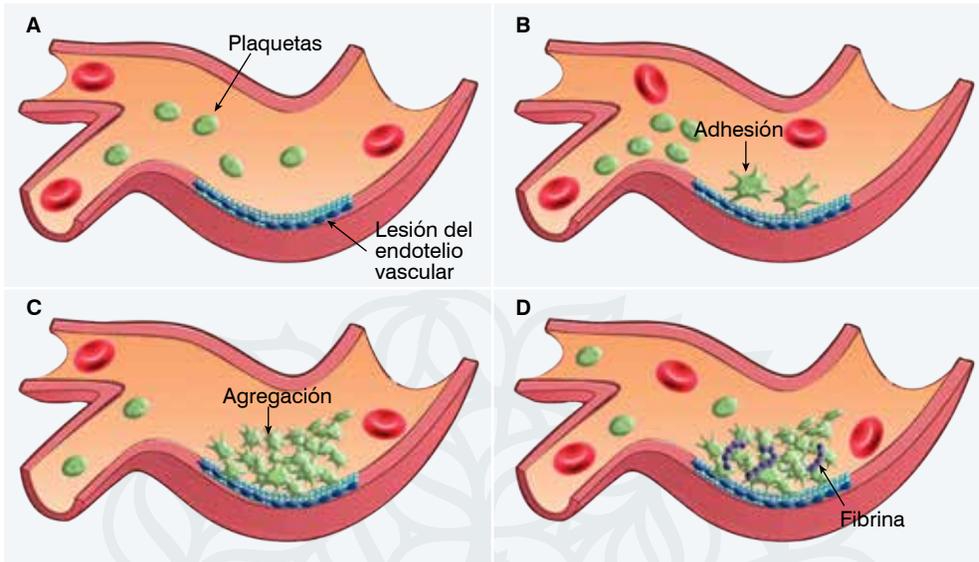


Figura 1. Respuesta plaquetaria durante una injuria vascular. **A.** Cuando ocurre una injuria vascular, el colágeno y el factor von Willebrand expuesto en la superficie endotelial activa y captura las plaquetas en circulación. **B.** Las plaquetas se unen al endotelio dañado (adhesión) y forman una monocapa. **C.** A medida que las plaquetas se adhieren, secretan sustancias que inducen la unión entre plaquetas (agregación) para formar el tapón hemostático. **D.** Mediante la activación de la cascada de coagulación (hemostasia secundaria) se forma fibrina, la cual estabiliza el coágulo.

del tromboxano A_2 , los cuales se unen a sus receptores en la membrana para soportar la unión de otras plaquetas [2-4]. También se libera serotonina, factor 4 plaquetario, β -trombomodulina, algunos factores de la coagulación y otras sustancias contenidas en los gránulos alfa (α) y densos (δ); además, las plaquetas sufren cambios morfológicos como la extensión de pseudópodos y la exposición de fosfolípidos con carga negativa en la superficie, lo que favorece el inicio de la hemostasia secundaria [2, 6, 7].

Simultáneamente, cuando otras plaquetas pasan por el sitio vascular afectado se unen a las que están adheridas, proceso denominado agregación. En la agregación participa la integrina GPIIb/IIIa, la cual cambia su conformación, se une al fibrinógeno (molécula clave para la agregación) y en ocasiones al factor von Willebrand presente en la superficie de otras plaquetas; ello permite la formación de puentes entre las plaquetas vecinas y el establecimiento del tapón hemostático primario [1, 2, 5]. A su vez, agonistas como la epinefrina, la trombina, el factor activador de plaquetas y otros, estimulan la agregación plaquetaria al interactuar con sus receptores de membrana [1-3].

En la **figura 2** se esquematiza las interacciones moleculares durante la adhesión y agregación plaquetaria.

Evaluación de la función plaquetaria: agregometría

Las pruebas de función plaquetaria simulan el proceso fisiológico de adhesión y de agregación, de forma que permiten la cuantificación de la respuesta plaquetaria y la identificación de una función anormal, y por lo tanto, el diagnóstico de individuos con defectos en alguno de estos procesos [8]. Una de las pruebas más importantes es la agregometría plaquetaria, ya que contribuye al diagnóstico y a la diferenciación de desórdenes hemostáticos hereditarios a partir del perfil de respuesta con varios agonistas.

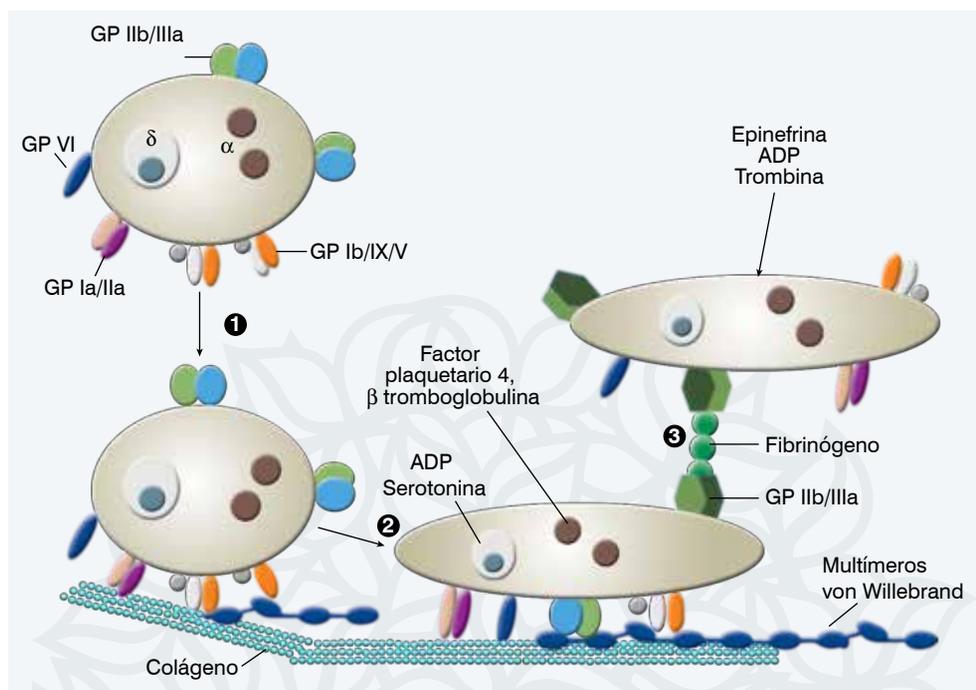


Figura 2. Interacciones moleculares durante la adhesión y agregación plaquetaria. (1) Las plaquetas se adhieren al endotelio mediante la unión del complejo GPIb/IX/V a los multímeros de alto peso molecular del factor von Willebrand, así como por la unión de la GPIIb/IIIa al factor von Willebrand y de la glicoproteína GPIa/IIa y la GPIVI al colágeno. (2) Posteriormente, las plaquetas son activadas por agonistas presentes en el sitio afectado, liberan el contenido de los gránulos alfa (α) y gránulos densos (δ) (ADP, serotonina, β tromboglobulina y factor plaquetario 4, entre otros) y sufren un cambio morfológico. (3) Simultáneamente, cuando otras plaquetas pasan por el sitio de la lesión, se unen con las plaquetas previamente adheridas a través de la GPIIb/IIIa, la cual se une al fibrinógeno y en ocasiones al factor von Willebrand presente en la superficie de otras plaquetas; de esta forma se establecen puentes entre las plaquetas vecinas (agregación) y se forma el tapón hemostático primario. A su vez, la acción de agonistas como la epinefrina, la trombina, el ADP y otros, estimulan la agregación plaquetaria. Tomado y modificado de **Kottke-Marchant K, Corcoran G.** The laboratory diagnosis of platelet disorders. Arch Pathol Lab Med 2002; 126: 133-146 [1].

Principio de la agregometría por transmisión de luz

Una de las pruebas más utilizadas para evaluar la función plaquetaria es la agregometría por transmisión de luz. En 1962, Born [8] desarrolló un método turbidimétrico para medir la agregación, éste se modificó hasta que se desarrolló un sistema automatizado que funciona a 37°C para simular las condiciones fisiológicas. Dicha técnica se basa en la medición por espectrofotometría del cambio turbidimétrico que se produce a medida que las plaquetas, en agitación constante, se agregan ante el estímulo de un agonista o sustancia proagregante [5, 8, 9]. Cuando a una muestra de plasma rico en plaquetas se le adiciona un agonista, las plaquetas se agregan en respuesta a éste y la muestra se vuelve menos turbia, por lo cual aumenta la transmitancia (transmisión de la luz) y la señal es detectada por el espectrofotómetro. A partir de este cambio gradual se obtiene una curva de agregación. El porcentaje de agregación se calcula con la fórmula de Weiss [10]:

$$\frac{(\text{Densidad óptica inicial} - \text{Densidad óptica máxima}) \times 100}{\text{Densidad óptica inicial}} = \% \text{ agregación}$$

En el estudio se emplean dos muestras del paciente: plasma rico en plaquetas y plasma pobre en plaquetas, los cuales se obtienen a partir de la centrifugación a revoluciones diferentes,

baja y alta, respectivamente. El plasma rico en plaquetas representa ausencia de agregación (0%) y el plasma pobre en plaquetas representa el 100% [9, 10].

En la **figura 3** se esquematiza el principio de funcionamiento de la agregometría por turbidimetría.

Curvas de agregación

A medida que las plaquetas se agregan se producen cambios en la transmisión de la luz, los cuales se grafican en lo que se conoce como “curva de agregación”; ésta se compone de una fase previa a la inducción con el agente, una respuesta lenta, y finalmente, la agregación [10]. Antes de la adición del agonista, se observa una oscilación al azar de la línea; después de su adición, se produce un retraso en la respuesta, seguida por cambios de la forma plaquetaria, los cuales son el primer mecanismo de respuesta. Posteriormente, se forman los agregados, lo que da lugar a una onda de agregación hasta que alcanza su nivel máximo [9, 10].

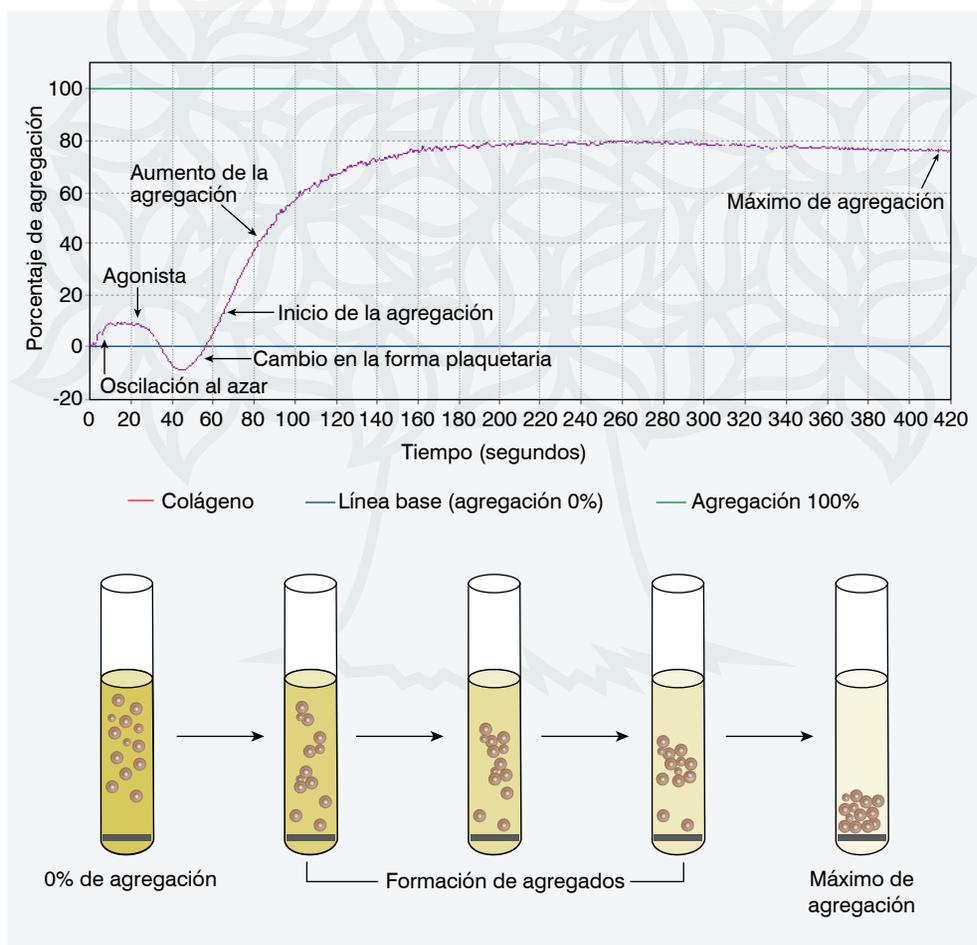


Figura 3. Evaluación de la respuesta plaquetaria por agregometría. El plasma rico en plaquetas permite poca transmisión de luz; la agregación inicia cuando se adiciona un agonista, el plasma se vuelve más claro y permite la transmisión de luz; ésta se mide constantemente y el cambio en la transmisión se representa en una curva de agregación. El porcentaje de agregación se calcula a partir de la distancia que hay entre el 0% de agregación y la agregación máxima, dividida por la distancia que hay entre 0% y el máximo de agregación teórico, 100%.

La onda de agregación puede ser única o bifásica. La onda única se presenta cuando se emplea ácido araquidónico, colágeno y agonistas del receptor de la trombina (ver **figura 4A**); por su parte, el ADP y la epinefrina producen una onda de agregación bifásica. En la primera fase inicia la formación de agregados pequeños hasta que se forman masas de agregados grandes, correspondientes al ascenso de la curva u onda primaria. Si se produce una reacción de liberación plaquetaria, como del ADP almacenado en los gránulos densos, el proceso de agregación continúa hasta ser irreversible (onda secundaria) y la línea ascenderá hasta alcanzar el máximo de agregación; por el contrario, si no hay una reacción de liberación, la línea reversará y descenderá hasta la base (ver **figura 4B**) [1, 9, 10].

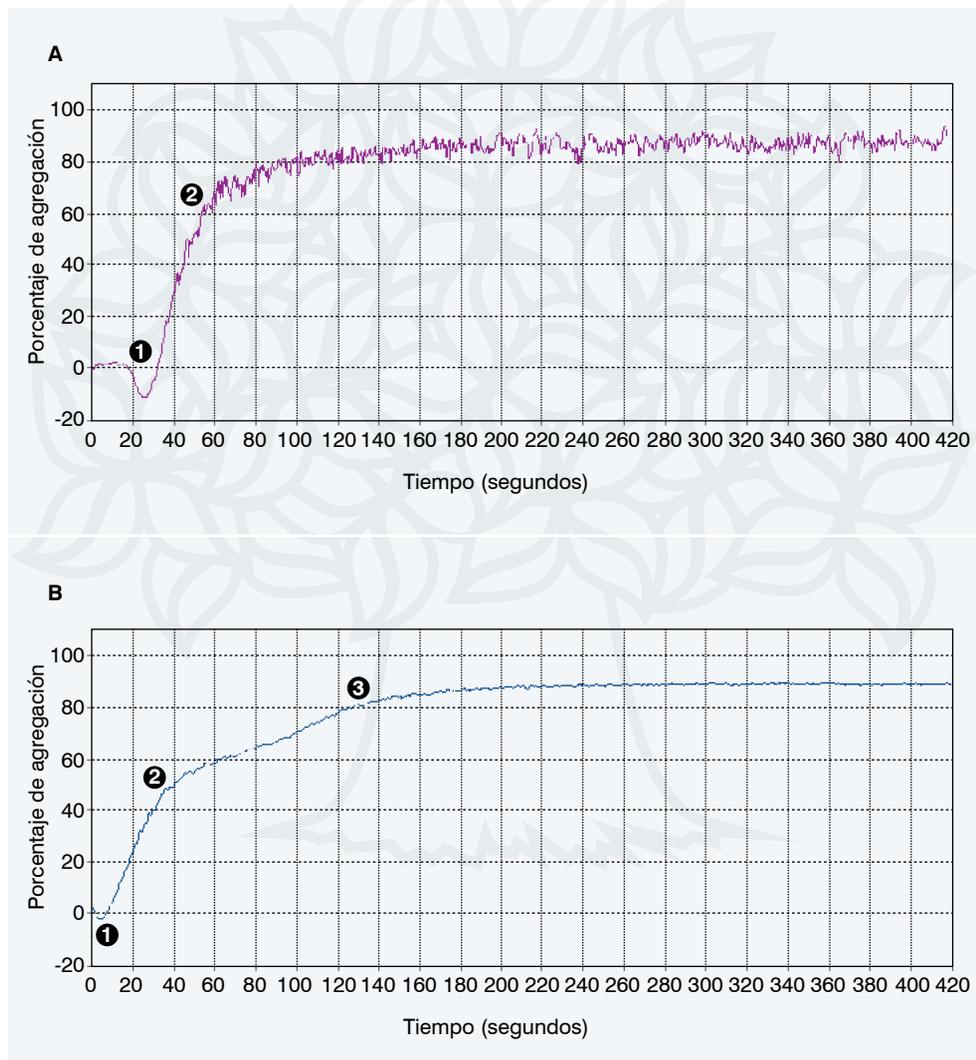


Figura 4. A. Curva de agregación inducida por colágeno. (1) Se observa una oscilación al azar antes de que se agregue el agonista. Después de adicionar el agonista se produce un retraso en la respuesta, seguido por el cambio de la forma plaquetaria; (2) posteriormente se forman los agregados y se produce el ascenso de la onda de agregación. **B.** Curva de agregación bifásica inducida por la epinefrina. (1) Se observa una oscilación al azar antes de que se agregue el agonista. Después de adicionar el agonista, se produce un retraso en la respuesta, seguido por el cambio de la forma plaquetaria y (2) la aparición de la onda primaria. (3) Cuando se libera el contenido granular, se produce la segunda onda y la curva de agregación continúa en ascenso. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

Agonistas que se emplean en la agregometría

Algunos agonistas que se emplean en las pruebas de agregación plaquetaria son la trombina, el colágeno, el ADP, el ácido araquidónico, la vasopresina, la serotonina y la epinefrina [9]; de éstos, los que se usan con mayor frecuencia son el ADP, el colágeno, la epinefrina y el ácido araquidónico, los cuales son estimulantes *in vivo* del inicio y amplificación de la adhesión y la agregación plaquetaria [9, 11-13].

La inducción *in vitro* de la agregación depende del mecanismo de acción fisiológico de cada agonista; por ejemplo, el ADP y la epinefrina inducen directamente la agregación a través de la activación de la glicoproteína IIb/IIIa (aunque se consideran agonistas débiles) [1, 9], mientras que el colágeno y la trombina la inducen indirectamente al estimular la liberación de ADP y de tromboxano A_2 . Si bien la trombina es uno de los agonistas más potentes, induce la conversión del fibrinógeno en fibrina y conduce a la formación del coágulo, lo cual dificulta su aplicación diagnóstica y por ello se usan sustancias análogas [9]. Por su parte, cuando se usa colágeno como agonista el primer evento es la adhesión de las plaquetas a éste, y en respuesta se inicia la agregación; por ello, en condiciones normales, la curva de agregación con colágeno es diferente a las curvas que se obtiene con los demás agonistas [10].

En el caso de la epinefrina, algunos individuos sin desórdenes hemorrágicos conocidos no exhiben una onda secundaria de agregación y tienen un porcentaje de agregación inferior, entre el 20% y el 60%, sin representar enfermedad alguna, mientras que la agregación con los demás agonistas es normal [10, 14, 15]. Se postula que esta alteración se debe a una disminución del receptor α_2 adrenérgico en la superficie plaquetaria [15].

Aunque no es un agonista fisiológico, la ristocetina es un antibiótico con fuerte actividad proaglutinante dependiente de la unión de la glicoproteína Ib con el factor von Willebrand. En condiciones normales induce la agregación plaquetaria, por lo que se suspendió su administración terapéutica; sin embargo, en las enfermedades hemorrágicas que cursan con alteración de la glicoproteína Ib o del factor de von Willebrand, la ristocetina no induce la agregación plaquetaria [1, 9, 10], por lo cual se usa como inductor *in vitro* con fines de diagnóstico.

En la **figura 5** se muestra un resultado de agregometría normal en un paciente sin trastornos de la hemostasia primaria.

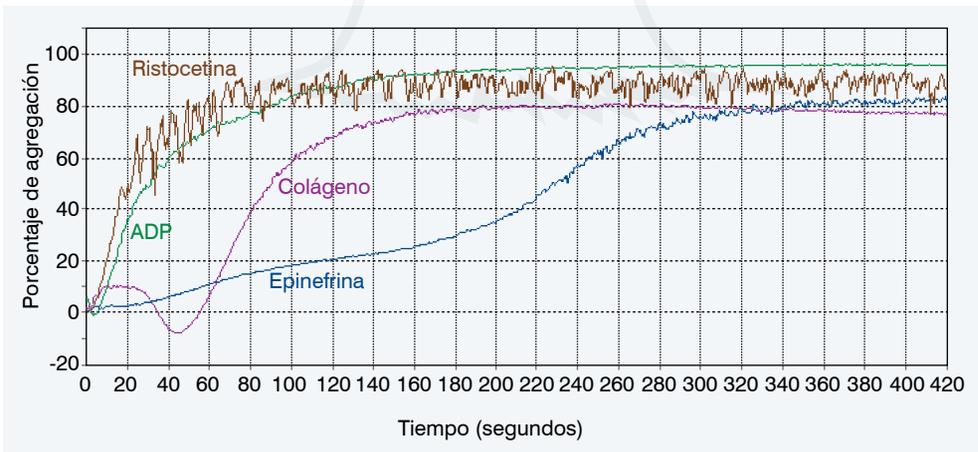


Figura 5. Curvas de agregometría normales con los agonistas ADP (94,9%), colágeno (79,6%), epinefrina (82,6%) y ristocetina (94,4%). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

Aplicación clínica de la agregometría plaquetaria

Dado que la agregometría simula la activación de las plaquetas cuando éstas entran en contacto con agonistas fisiológicos como el colágeno, la epinefrina y el ADP y agonistas no fisiológicos como la ristocetina, esta prueba contribuye al diagnóstico de enfermedades hemorrágicas y trombóticas en las que hay una alteración cualitativa o cuantitativa de las moléculas que participan en la adhesión y la agregación plaquetaria.

De estas enfermedades quizá la más conocida es la enfermedad de von Willebrand, en la cual hay una deficiencia cuantitativa o un defecto cualitativo del factor von Willebrand, esencial para la adhesión, y en menor proporción para la agregación plaquetaria, por lo que los pacientes tienen un riesgo hemorrágico aumentado. Otras enfermedades hemorrágicas en las cuales se recomienda el estudio de agregometría son la trombostenia de Glanzmann [16], el síndrome de Bernard Soulier, la deficiencia de gránulos alfa, densos o de ambos [17], entre otras enfermedades; de igual forma, los estudios de agregación están indicados en los pacientes con sospecha del síndrome de la plaqueta pegajosa [18], una enfermedad hereditaria que cursa con eventos trombóticos e hiperagregabilidad plaquetaria en presencia de ADP o de epinefrina. En la **tabla 1** se presentan los resultados de agregación con cada agonista plaquetario en algunas enfermedades hereditarias que cursan con desórdenes de la adhesión o de la agregación plaquetaria.

Enfermedad de von Willebrand

La enfermedad de von Willebrand es un desorden hereditario que cursa con deficiencia cualitativa o cuantitativa del factor von Willebrand que conduce a una disfunción plaquetaria. Es el trastorno hemorrágico hereditario más frecuente, con una prevalencia que varía entre el 0,1% y el 1,3% [31,32]. Esta enfermedad se clasifica en seis tipos [19-21], los cuales se resumen en la **tabla 2** [33]. Cada tipo tiene mutaciones diversas y éstas sólo se pueden identificar a través de estudios moleculares [21].

Tabla 1. Resultados de agregometría con los principales agonistas fisiológicos y con ristocetina en cada enfermedad hemostática hereditaria

Enfermedad	ADP primera onda	ADP segunda onda	Colágeno	Epinefrina	Ácido araquidónico	Ristocetina
Enfermedad de von Willebrand [19-21]	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Anormal ¹
Síndrome de Bernard Soulier [22, 23]	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Anormal
Trombastenia de Glanzmann [16, 24]	Anormal	Anormal	Anormal	Anormal	Anormal	Normal ²
Afibrinogenemia congénita [25, 26]	Anormal	Anormal	Variable ³	Anormal	Normal ⁴	Variable ⁵
Deficiencia de gránulos α [1, 17]	Variable	Variable	Variable	Normal	Normal	Normal
Deficiencia de gránulos δ [1, 17]	Normal	Anormal	Variable	Variable	Normal	Normal
Síndrome de la plaqueta pegajosa [18]	Anormal ⁶	Anormal ⁶	Normal	Anormal ⁶	Normal	Normal
Atrombia esencial [27, 28]	Anormal	Anormal	Anormal	Anormal	Anormal	Normal
Defecto similar a aspirina [29, 30]	Normal	Anormal	Variable	Anormal	Anormal	Normal

¹ Excepto en tipo 2N. ² Sólo se observa la onda primaria de agregación con ristocetina. ³ Levemente disminuida. ⁴ Respuesta lenta. ⁵ Anormal a concentraciones bajas. ⁶ Se observa agregación con concentraciones bajas del agonista.

Dependiendo de la severidad de la alteración, los síntomas varían entre un sangrado mucocutáneo leve hasta síntomas similares a la hemofilia, como en los tipos 2N y 3, por lo que esta enfermedad también se conoce como “seudohemofilia”. Entre los principales síntomas se encuentra aparición de equimosis con facilidad, epistaxis, menorragia, sangrado excesivo por heridas pequeñas, extracciones dentales o parto, así como hemorragia en la cavidad oral o hemorragia gastrointestinal [34]. Dado que la enfermedad von Willebrand tipo 3 cursa con ausencia total de factor von Willebrand y éste participa en la estabilización del factor VIII de la coagulación, los pacientes cursan con deficiencia simultánea de dicho factor y por ello los síntomas semejan a los de la hemofilia; además, estos pacientes tienen un tiempo de tromboplastina parcial activado prolongado [2, 19-21].

Hallazgos en el estudio de agregometría

Para el estudio de agregometría de la enfermedad de von Willebrand se emplea ristocetina y agonistas fisiológicos como epinefrina, ADP, ácido araquidónico y colágeno. La agregación es normal con los agonistas fisiológicos; por el contrario, a causa de las alteraciones del factor von Willebrand, la ristocetina no induce agregación (ver **figura 6**), excepto en el tipo 2N, en el que la agregación inducida por ristocetina es normal y para su diagnóstico se requiere un ensayo de afinidad entre el factor von Willebrand y el factor VIII [19-21, 35, 36] (ver **tabla 2**).

Para los pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand se recomienda evaluar la agregación con dos concentraciones diferentes de ristocetina: una alta (entre 1,2 mg/mL y 1,5 mg/mL), conocida como cofactor de ristocetina, con la cual se espera que la agregación esté

Tabla 2. Características generales de los tipos de enfermedad von Willebrand. Tomado y modificado de Budde U, et al. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease: the phenotype. En Federici A, et al, editores. Von Willebrand disease: basic and clinical aspects. United Kingdom: Wiley-Blackwell. 2011 [33]

Tipo	Prevalencia	Herencia	Defecto	Tendencia al sangrado	Concentración del antígeno von Willebrand	Agregación con el cofactor de ristocetina
1	Cercana al 1%	Autosómica dominante	Deficiencia cuantitativa parcial	Media a moderada	Disminuida (<50 UI/dL)	Disminuida, proporcional a la disminución del factor
2A*	Poco común	Autosómica dominante o recesiva	Cualitativo. Disminución de la adhesión, con deficiencia de multímeros de alto peso molecular	Variable, usualmente moderada	Disminuida o normal	Disminuida
2B**	Poco común	Autosómica dominante	Cualitativo. Aumento de afinidad por GPIb	Variable, usualmente moderada	Disminuida o normal	Disminuida o normal Aumenta a dosis bajas de ristocetina
2M*	Poco común	Autosómica dominante o recesiva	Cualitativo. Disminución de la adhesión, sin deficiencia de multímeros de alto peso molecular	Variable, usualmente moderada	Normal o levemente disminuida	Disminuida
2N***	Poco común	Autosómica recesiva	Cualitativo. Disminución severa de afinidad a factor VIII	Variable, usualmente moderada	Normal	Normal
3	Rara (1:250.000 a 1: 1.000.000)	Autosómica recesiva	Ausencia total	Alta, hemorragias severas	Ausente o muy disminuida (<5 UI/dL)	Ausente

* Su diferenciación requiere electroforesis en gel de los multímeros de von Willebrand. ** Generalmente cursa con trombocitopenia. *** Su diferenciación requiere un ensayo de afinidad entre el factor von Willebrand y el factor VIII.

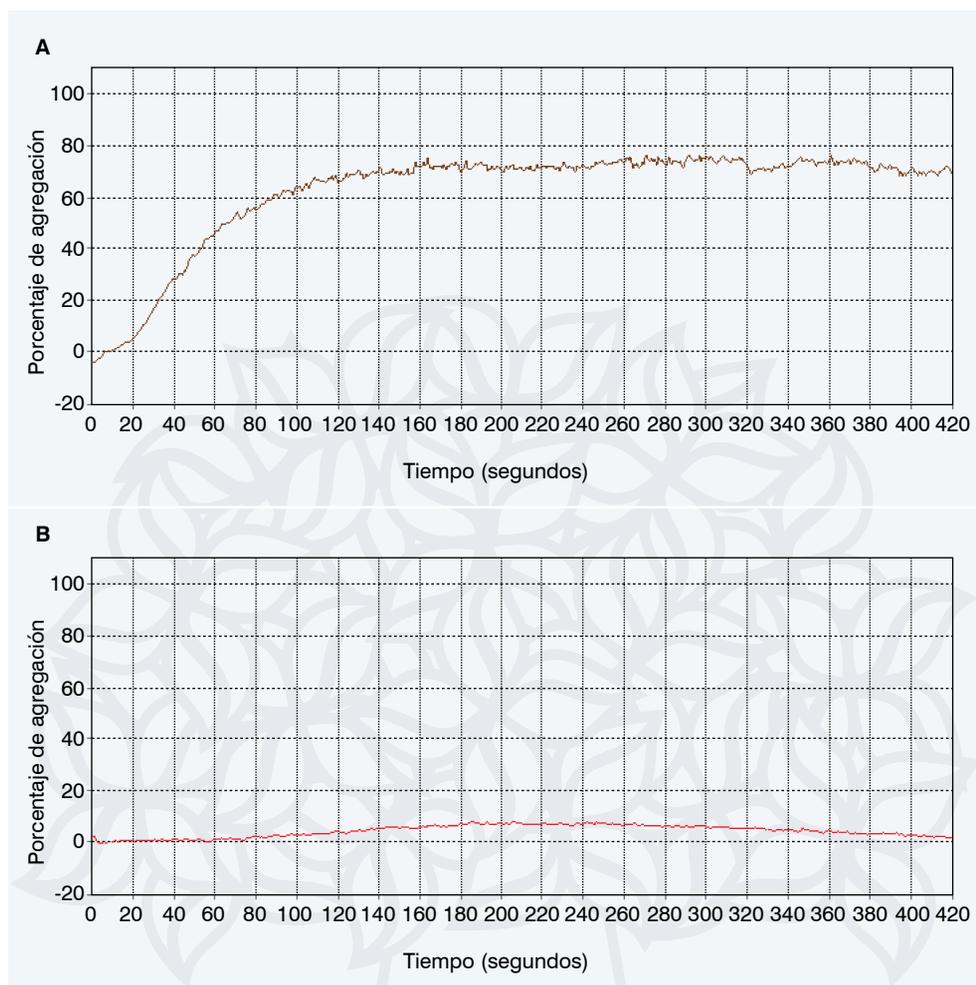


Figura 6. A. Cofactor de ristocetina (1,5 mg/mL) en un control normal (agregación de 76,2%) B. Cofactor de ristocetina (1,5 mg/mL) en un paciente con enfermedad de von Willebrand (agregación de 8%). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

disminuida o ausente, y una concentración baja (entre 0,5 mg/mL y 0,6 mg/mL), con la cual se observará un aumento de la agregación en caso que el paciente tenga una enfermedad tipo 2B [11, 19, 21, 29, 37]; adicionalmente, se debe tener en cuenta el resultado de las demás pruebas que soportan el diagnóstico de los tipos de esta enfermedad (ver **tabla 2**).

Síndrome de Bernard Soulier

El síndrome de Bernard Soulier es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva poco frecuente. Se caracteriza por la deficiencia del complejo glicoproteico GPIb/IX/V; como consecuencia, las plaquetas son incapaces de interactuar con el factor von Willebrand y se altera la adhesión. Las mutaciones responsables de dicho defecto son variables; pueden afectar al gen que codifica para la cadena α de la glicoproteína Ib, para la cadena β de ésta o al gen que codifica para la glicoproteína IX [22, 23, 38, 39].

Los pacientes con síndrome de Bernard Soulier presentan epistaxis, petequias, equimosis o sangrado gingival, y la edad de inicio de los síntomas es variable [23, 40]. Entre los principales

hallazgos en el estudio hematológico se encuentran la presencia de macrotrombocitos y la trombocitopenia [22, 39], aunque en ocasiones el recuento de plaquetas es normal [40].

Hallazgos en el estudio de agregometría

La agregometría de un paciente con síndrome de Bernard Soulier es semejante al de un paciente con enfermedad de von Willebrand: la agregación con agentes fisiológicos como epinefrina, ADP, colágeno y ácido araquidónico es normal, mientras que no hay respuesta con ristocetina, tanto a concentraciones altas (cofactor de ristocetina) como bajas [23, 29, 38, 40]. Para establecer el diagnóstico se deben tener en cuenta los resultados de otros estudios de laboratorio, entre ellos, la cuantificación del antígeno von Willebrand, los niveles plasmáticos del factor VIII, el tiempo de tromboplastina parcial activado, el hemograma y el extendido de sangre periférica, entre otros.

Trombastenia de Glanzmann

La trombastenia de Glanzmann es una enfermedad poco frecuente, de incidencia desconocida, con patrón de herencia autosómico recesivo [41]. Se caracteriza por la deficiencia de la glicoproteína GPIIb/IIIa (integrina α IIb β 3), el receptor del fibrinógeno y en menor proporción, el receptor de la fibronectina [24, 42]. Dado que el fibrinógeno participa en la unión entre las plaquetas, los pacientes con deficiencia de GPIIb/IIIa presentan defectos en la agregación, que se manifiesta por hemorragias mucocutáneas de severidad variable, ya sean espontáneas o por traumas [16, 42, 43].

La deficiencia de dicha glicoproteína se debe a mutaciones del gen ITGA2B, el cual codifica para la cadena α IIb, o del gen ITGB3, que codifica para la cadena β 3; las mutaciones pueden ser inserciones, deleciones o mutaciones puntuales. Hasta el momento, se han identificado más de 300 mutaciones relacionadas con la trombastenia de Glanzmann [44]. De acuerdo con la cantidad de GPIIb/IIIa que se sintetiza, la enfermedad se clasifica en tres tipos: I, con 0% a 5% de la concentración normal de la glicoproteína; II, con 6% al 20% de la concentración normal; y III, también denominada variante, con el 50% al 100% de la concentración normal, pero la glicoproteína está mutada y es afuncional [16, 24, 43, 45-47].

Hallazgos en el estudio de agregometría

En la agregometría de pacientes con trombastenia de Glanzmann no hay respuesta al colágeno, el cual es el inductor *in vitro* más potente de la agregación. Tampoco se observa agregación inducida por el ADP, la epinefrina, la trombina o el péptido activador del receptor de la trombina (TRAP, por *thrombin receptor activating peptide*); este último, en condiciones normales, induce una activación plaquetaria fuerte sin las complicaciones de la conversión del fibrinógeno en fibrina y de la formación del coágulo que se presentan con la trombina; sin embargo, este agonista no se emplea en el contexto local. Por su parte, los pacientes con trombastenia de Glanzmann presentan agregación normal con ristocetina [1, 10, 16, 24].

El patrón de agregación es similar al que presentan los pacientes con afibrinogenemia congénita. Para diferenciarlas se puede realizar electroforesis de proteínas de la membrana plaquetaria para confirmar la ausencia de GPIIb/IIIa en la trombastenia de Glanzmann, o se puede adicionar fibrinógeno al plasma rico en plaquetas del paciente y repetir los estudios de agregometría; en caso que se trate de una afibrinogenemia, se logrará una respuesta normal con los agonistas fisiológicos, mientras que si se trata de una trombastenia, la agregación seguirá deficiente [25, 26, 48].

Deficiencia de gránulos plaquetarios

La deficiencia de gránulos plaquetarios, también conocida como síndrome de pool de depósito, corresponde a un grupo de desórdenes hemorrágicos hereditarios o adquiridos en los cuales hay deficiencia de gránulos citoplasmáticos en megacariocitos y plaquetas. Dentro de este grupo se incluye la deficiencia de gránulos α o síndrome de la plaqueta gris, la deficiencia de gránulos δ (gránulos densos) y la deficiencia de gránulos $\alpha\delta$, la cual cursa con deficiencia de ambos gránulos [17, 49].

En el síndrome de la plaqueta gris hay una deficiencia de gránulos α , que en condiciones normales son los más numerosos en las plaquetas; esta enfermedad se manifiesta desde la niñez como un trastorno hemorrágico caracterizado por hemorragia mucocutánea, petequias, aparición de hematomas con facilidad y hemorragias postoperatorias; en ocasiones los pacientes presentan trombocitopenia moderada [49, 50]. Por otra parte, la deficiencia de gránulos δ se puede presentar como una entidad hereditaria única o en asociación con otras enfermedades hereditarias, entre ellas la enfermedad de Wiskott-Aldrich, la anomalía de Chédiak Higashi, el síndrome de Hermansy-Pudlak, el síndrome de Québec y la trombocitopenia de radio ausente [49, 51, 52].

En el extendido de sangre periférica característicamente se observan plaquetas hipogranulares o plaquetas grises en el caso de la deficiencia de gránulos α , aunque la confirmación del diagnóstico se realiza por microscopía electrónica, en especial cuando no se observa la morfología típica de la enfermedad [13, 17, 52]. Dado que la prueba no está disponible en el medio, es de especial importancia realizar el diagnóstico a partir de la integración de las manifestaciones clínicas, los hallazgos en el perfil hematológico y los resultados de la agregometría plaquetaria.

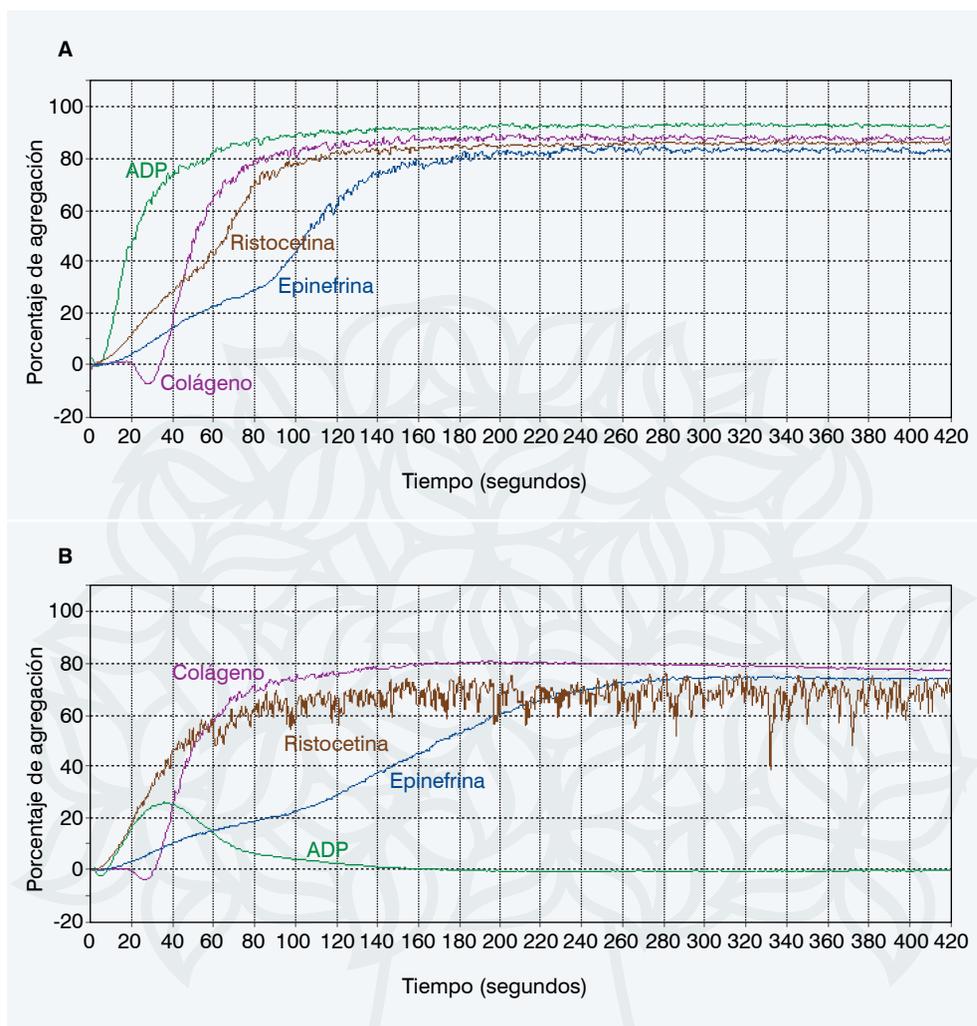
Hallazgos en el estudio de agregometría

Los resultados de agregometría son variables en los pacientes con deficiencia de gránulos plaquetarios. En el caso de la deficiencia de gránulos α , cuando se emplea el ácido araquidónico como agonista se observa una curva de agregación normal [10, 17], mientras que se puede presentar agregación anormal con el colágeno, el ADP y la trombina [49]. En cuanto a la deficiencia de gránulos δ , la onda secundaria de agregación con ADP es anormal o ausente, ya que la liberación de los nucleótidos de adenina que se almacenan en los gránulos densos está deficiente o ausente [10, 53, 54]; además, los pacientes pueden cursar con disminución de la agregación en respuesta a la epinefrina y al colágeno (ver **figura 7**).

Adicionalmente, en algunos pacientes con deficiencia de gránulos plaquetarios se observa una leve disminución de la agregación con ristocetina, mientras que en otros pacientes los estudios de agregación con los agonistas fisiológicos pueden resultar normales [17].

Lumi-agregometría

El diagnóstico de la enfermedad de pool de depósito se realiza por una modificación de la agregometría en la que se cuantifica el ADP. Esta variación consiste en la evaluación de la agregación y la cuantificación simultánea de la conversión del ADP, que se libera de los gránulos densos, se convierte en ATP y reacciona con la luciferina y la luciferasa que se emplea en la técnica, generando adenil-luciferona. Cuando esta molécula se oxida, se emite luz. Esta técnica es útil cuando los pacientes con sospecha de deficiencia de gránulos plaquetarios tienen episodios hemorrágicos sin anomalías en las curvas de agregación convencionales [10, 13, 55, 56].



Síndrome de la plaqueta pegajosa

El síndrome de la plaqueta pegajosa es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por eventos tromboticos venosos y arteriales [18, 57]. Es probable que el defecto se encuentre en los receptores de la superficie plaquetaria, lo que da origen a hiperagregabilidad en presencia de ADP o de epinefrina [18]. En ocasiones puede ser simultáneo a otros defectos hereditarios de la coagulación como la resistencia a la proteína C activada (factor V Leyden) y la deficiencia de la proteína S [36].

El síndrome de la plaqueta pegajosa se clasifica en tres tipos: I, caracterizado por hiperagregabilidad con ADP y con epinefrina; II, presenta hiperagregabilidad solo con epinefrina; y tipo III, hiperagregabilidad solo con ADP [58-60]. Algunas de las manifestaciones clínicas de este desorden trombotico son la angina de pecho, el infarto agudo de miocardio, los accidentes

cerebrovasculares, los accidentes isquémicos transitorios, la trombosis retiniana y la trombosis de arterias periféricas y venosas; además, los eventos trombóticos son recurrentes, incluso en aquellos pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales [18, 57].

Hallazgos en el estudio de agregometría

Los pacientes con síndrome de la plaqueta pegajosa presentan hiperagregabilidad plaquetaria en presencia de plasma rico en ADP o en epinefrina, según el tipo de la enfermedad [58]. Por su parte, la agregación con colágeno, ácido araquidónico y ristocetina son normales [18].

Este desorden se diagnostica si se observa una agregación mínima de 50% con concentraciones de epinefrina y de ADP 20 veces más bajas que las que se usan de rutina [59]. Las concentraciones que se utilizan para el estudio son 11 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 1,1 $\mu\text{M}/\text{mL}$ y 0,6 $\mu\text{M}/\text{mL}$ de epinefrina, y 2,3 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 1,2 $\mu\text{M}/\text{mL}$ y 0,6 $\mu\text{M}/\text{mL}$ de ADP [18]. En los pacientes normales, al diluir la epinefrina y el ADP hay una disminución de la agregación, mientras que en las muestras de pacientes con síndrome de la plaqueta pegajosa las curvas de agregación permanecerán elevadas y se observará una agregación superior a 50% con las concentraciones más bajas de ADP, de epinefrina o de ambas [18, 59]. En la **figura 8** se observa un estudio de agregometría con diluciones de epinefrina en un paciente con síndrome de la plaqueta pegajosa tipo II.

Consideraciones generales para los estudio de agregometría plaquetaria

Hayward y colaboradores, en 2010, publicaron una guía consenso norteamericana para los laboratorios clínicos y para los médicos especialistas que interpretan las pruebas de función plaquetaria basadas en agregometría por transmisión de luz, en la cual se hacen algunas recomendaciones para las fases preanalítica, analítica y posanalítica de esta prueba de laboratorio (ver **tabla 3**) [37].

Obtención de las muestras para los estudios de agregación plaquetaria

Para los estudios de agregometría plaquetaria, los pacientes deben realizar un ayuno previo y se deben tomar muestras de sangre total anticoagulada con citrato de sodio al 3,2% [13], las cuales se dejan en reposo entre 30 a 60 minutos y no se pueden enviar por tubo neumático hasta el laboratorio clínico. Posteriormente, se separa una muestra de plasma rico en plaquetas y otra de plasma pobre en plaquetas; el plasma rico en plaquetas se obtiene centrifugando las muestras a 170-200xg por 10 minutos a temperatura ambiente [29], mientras que el plasma pobre en plaquetas se logra al recentrifugar la sangre que quedó a 1600-2000xg durante 10 a 15 minutos a temperatura ambiente [30].

Después de tener el plasma rico en plaquetas se debe realizar un recuento de plaquetas, tanto en la muestra del paciente como en el control normal. Usualmente, se debe estandarizar en un recuento entre 200.000/ μL y 300.000/ μL [11-13]; en caso que el recuento sea mayor, éste se ajusta adicionando plasma pobre en plaquetas del paciente correspondiente. En los pacientes con trombocitopenia se ha evidenciado que las curvas de agregometría pueden variar en recuentos inferiores a 100.000/ μL , lo que afecta la interpretación de la prueba; sin embargo, algunos pacientes con trastornos hemorrágicos hereditarios pueden presentar trombocitopenia y para que se pueda realizar un diagnóstico adecuado, los estudios de agregometría resultan casi imprescindibles, por lo que se recomienda que en estos casos se utilice como control un plasma rico en plaquetas con un recuento de plaquetas ajustado al del paciente trombocitopénico [11, 37, 61].

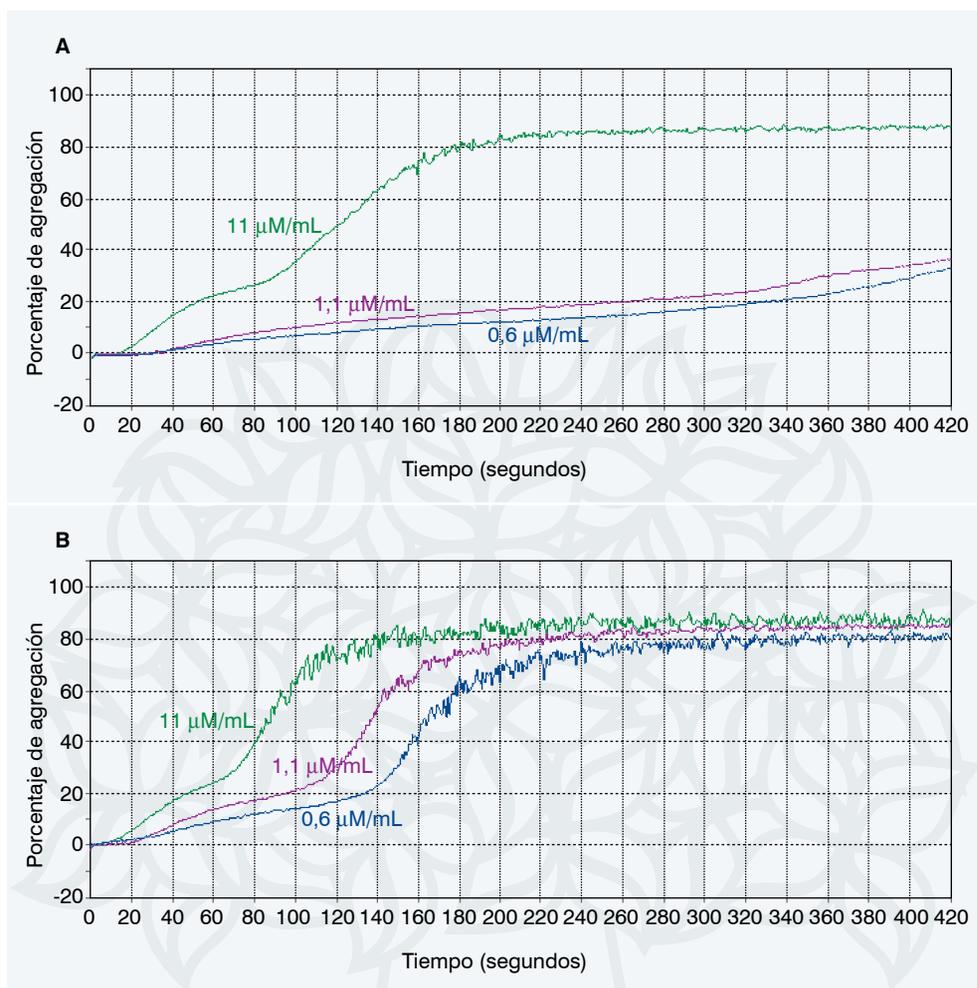


Figura 8. A. Agregometría normal con diferentes concentraciones de epinefrina. Agregación máxima de 89,2% (11 μM/mL), 37,4% (1,1 μM/mL) y de 33,8% (0,6 μM/mL). **B.** Agregación plaquetaria con diferentes concentraciones de epinefrina en un paciente con síndrome de la plaqueta pegajosa tipo II. Agregación máxima de 91,8% (11 μM/mL), 89,9% (1,1 μM/mL) y de 90,8% (0,6 μM/mL). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

Limitantes de las pruebas de agregometría

Entre los limitantes de las pruebas de agregación plaquetaria se destaca el consumo de algunos medicamentos con función antiagregante, en especial la aspirina y el clopidogrel. Entre las alteraciones relacionadas con el consumo de la aspirina se encuentran la alteración de la agregación inducida por el ácido araquidónico, por dosis bajas de ADP y por el colágeno, como también la ausencia de la onda secundaria de la epinefrina [10, 62-64] (ver figura 9).

Por su parte, el clopidogrel, al inhibir el receptor del ADP, P_2Y_{12} , produce disminución o ausencia de agregación cuando se usa ADP como agonista [64-67] (ver figura 10); sin embargo, los resultados dependen de la concentración que se emplea de ADP y del tiempo transcurrido para definir el máximo de agregación [68], por lo que para la monitorización del tratamiento con clopidogrel se han diseñado técnicas más sencillas, como PFA-100 P2Y [69, 70], disponible en el medio.

Tabla 3. Recomendaciones para las fases preanalítica, analítica y posanalítica de las pruebas de función plaquetaria basadas en la agregometría por transmisión de luz. Modificado de 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 [37]

Fase preanalítica

- Intervalo biológico de referencia:
 - Cada laboratorio debe determinar los intervalos de referencia para el porcentaje de agregación máxima de los agonistas en las concentraciones que se usan
 - El porcentaje de agregación máxima para la concentración de cada agonista se calculará a partir del análisis de 40 voluntarios sanos y los intervalos biológicos de referencia se calcularán a partir del análisis estadístico con pruebas no paramétricas
 - Los intervalos biológicos de referencia establecidos con los adultos sanos se pueden aplicar en la población infantil, pero no en los neonatos
- El tiempo de sangría no se seguirá usando como una prueba para el diagnóstico de desórdenes hemorrágicos
- El día de la toma de muestra, los pacientes y los controles responderán un cuestionario acerca del consumo de medicamentos para favorecer la interpretación adecuada de los resultados. El cuestionario se debe llenar por el personal del laboratorio antes de tomar la muestra
- Antes de realizar la prueba, se recomienda la evaluación de la morfología plaquetaria en el extendido de sangre periférica

Fase analítica

- Controles:
 - Cada día que se analicen muestras, se debe evaluar la muestra de un control sano, quien no debe consumir medicamentos inhibidores de la función plaquetaria, como los antiinflamatorios no esteroideos, el clopidogrel y la aspirina, entre otros
 - No se pueden usar como controles sanos las muestras de pacientes a quienes se les está buscando un desorden de la coagulación
- En caso que se necesite ajustar el recuento de plaquetas del plasma rico en plaquetas de la muestra control, se adicionará plasma pobre en plaquetas de dicho control. Este ajuste aplica cuando el paciente tiene un recuento inferior al valor ajustado y por lo tanto el control debe quedar con un recuento similar al del paciente
- Las pruebas de agregometría por transmisión de luz se realizarán en muestras de plasma rico en plaquetas, ajustado con plasma autólogo pobre en plaquetas hasta que se logre un recuento entre 200.000/μL y 300.000/μL

Fase posanalítica

- Antes de emitir el informe se debe revisar el porcentaje máximo de agregación y las curvas con cada agonista. Se recomienda que se agregue un comentario de interpretación
- Si solo se obtiene agregación anormal con un agonista fisiológico, puede ser un falso positivo

Otros medicamentos que pueden afectar la prueba son los antiinflamatorios no esteroideos, algunos antibióticos y otros fármacos que pueden inhibir la onda secundaria de la epinefrina. En estos casos, se recomienda que la prueba se realice 10 días después de la suspensión del consumo de estos medicamentos [10]. En la **tabla 4** se indican los medicamentos diferentes a los antiagregantes que pueden interferir con la evaluación de la función plaquetaria.

Dado que la agregometría se basa en el cambio de la transmisión de la luz, la presencia en el plasma de eritrocitos y lípidos pueden interferir con la medición de la agregación y generan una disminución en el porcentaje de agregación [9,10]. Adicionalmente, si los pacientes presentan trombocitopenia severa (recuento de plaquetas menor a 50.000/μL), los resultados de la agregación plaquetaria se pueden ver comprometidos [3].

Por otra parte, se recomienda que los estudios de agregometría se realicen en las tres horas posteriores a la toma de la muestra, ya que algunos estudios han demostrado que la agregación puede cambiar en el tiempo [9,11,13].

Informe e interpretación de los resultados de agregometría

Como se analizó, el perfil de agregación con diferentes agonistas permite el establecimiento de una sospecha diagnóstica, y en ocasiones, permite incluso la confirmación de la misma. Por

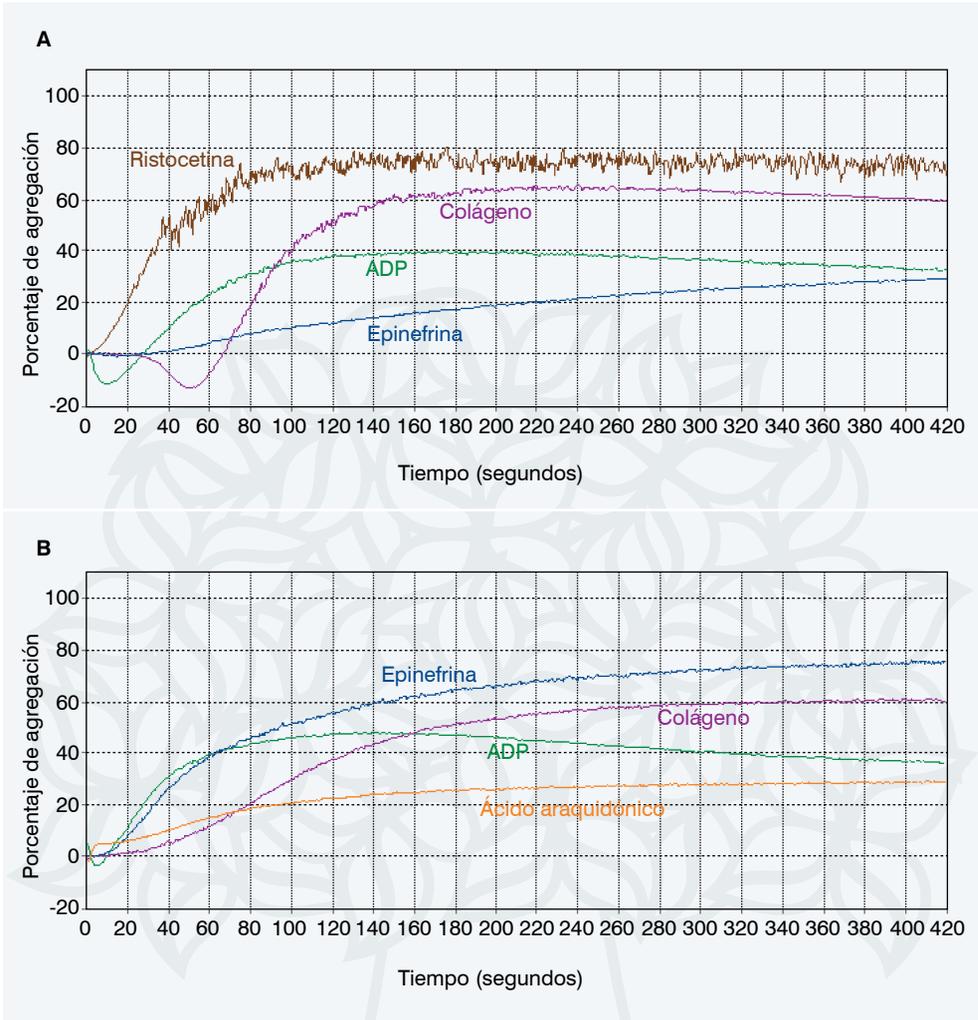


Figura 9. Alteración de la agregación plaquetaria inducida por el consumo de aspirina. **A.** Se observa una disminución de la agregación con ADP y epinefrina, y la ausencia de la onda secundaria de la epinefrina. **B.** Se observa disminución de la agregación con ácido araquidónico (29,2%), colágeno (61,4%) y ADP (48,1%). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

ello, es importante que en los resultados de laboratorio se incluya el porcentaje máximo de agregación con cada agonista y la concentración empleada de éste, como también una nota de interpretación que oriente el análisis de los resultados [37]. En la **tabla 5** se presentan algunas interpretaciones recomendadas de acuerdo con el perfil de agregación.

Conclusiones

La identificación y la caracterización de los principales agonistas fisiológicos, antagonistas, receptores de superficie y vías de señalización intracelulares implicadas en los procesos de adhesión, secreción del contenido granular y de agregación plaquetaria, ha permitido no sólo el reconocimiento de enfermedades relacionadas con defectos en alguno de estos procesos, sino el desarrollo de pruebas de función plaquetaria que simulan los procesos fisiológicos relacionados con la hemostasia primaria, y de esta forma, permiten el diagnóstico de dichas enfermedades.

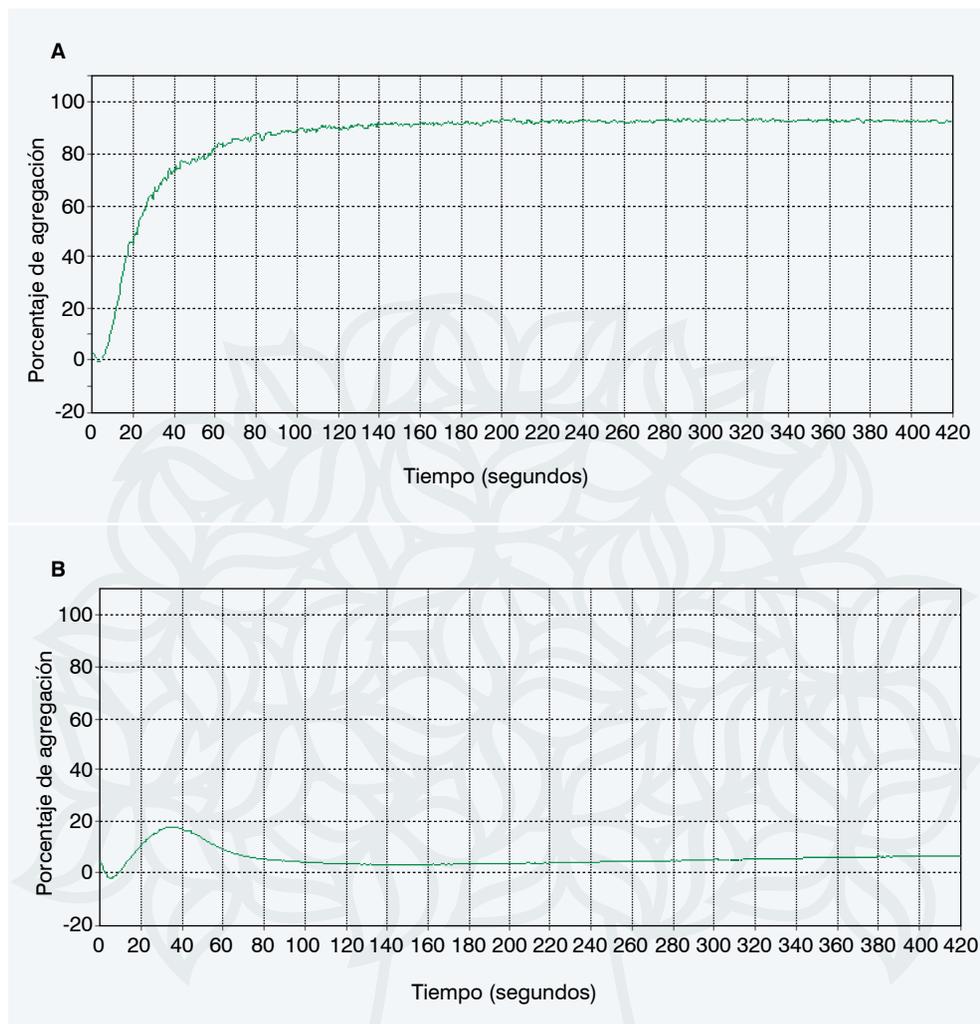


Figura 10. A. Agregometría normal con ADP (93,6%). **B.** Alteración de la agregación plaquetaria inducida por el tratamiento con clopidogrel. Se observa una disminución de la agregación con ADP (17,8%). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

Tabla 4. Medicamentos que interfieren con las pruebas de agregometría

Grupo	Medicamento	Efecto
Antibióticos [71]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Penicilinas ▪ Cefalosporinas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bloqueo de las interacciones receptor-agonista ▪ Alteración del flujo del calcio
Vasodilatadores [72]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dipyridamol 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibe la absorción de adenosín por las plaquetas y aumenta los niveles de AMP cíclico, se usa como vasodilatador
Fibrinolíticos [6, 73]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tenecteplasa ▪ Alteplasa ▪ Reteplasa ▪ Estreptoquin 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Los productos de degradación del fibrinógeno compiten con el fibrinógeno para la unión a la membrana plaquetaria e interfieren con la agregación
Anestésicos [74, 75]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lidocaína ▪ Dibucaína ▪ Propofol ▪ Sevoflurano ▪ Halotano 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Efecto directo sobre la membrana plaquetaria ▪ Inhibición de vías de señalización implicadas en la función plaquetaria ▪ Aumento del tiempo de sangría y disminución de respuesta <i>in vitro</i> a agonistas plaquetarios

Tabla 5. Interpretación recomendada en el informe de laboratorio de acuerdo con los resultados obtenidos con cada agonista. Modificado de [37]

Perfil de agregación	Interpretación sugerida para el informe de laboratorio
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ausente o muy disminuida con ácido araquidónico ▪ Normal con análogos del tromboxano ▪ Reducida con concentraciones bajas de colágeno ▪ Segunda onda de agregación con epinefrina ausente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Defecto similar a la aspirina (hereditario o inducido por medicamentos) ▪ Revisar historia de consumo de medicamentos (aspirina y antiinflamatorios no esteroideos)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se observa agregación con ristocetina ▪ Agregación ausente con los agonistas fisiológicos (epinefrina, colágeno, ADP, ácido araquidónico y otros) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Posible trombostenia de Glanzmann
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ausente con concentraciones altas de ristocetina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si el paciente tiene trombocitopenia con presencia de macrotrombocitos, los hallazgos sugieren síndrome de Bernard-Soulier; sin embargo, se sugiere descartar enfermedad de von Willebrand
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reducida con concentraciones altas de ristocetina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si el paciente no tiene trombocitopenia, los hallazgos sugieren una enfermedad de von Willebrand
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aumento anormal de agregación con concentraciones bajas de ristocetina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Posible enfermedad de von Willebrand tipo 2B
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anormal con varios agonistas, pero es marcadamente disminuida con ADP 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se debe considerar la posibilidad de un defecto en el receptor del ADP (P_2Y_{12}) ▪ Excluir que este defecto se deba al uso de medicamentos dirigidos contra el receptor P_2Y_{12}, entre ellos, el clopidogrel
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Otras anomalías con dos o más agonistas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Los hallazgos sugieren que hay un desorden plaquetario, puede corresponder a un síndrome de pool de depósito ▪ Se sugiere repetir la prueba según el contexto clínico
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anormalidades con un agonista diferente al colágeno o a la ristocetina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La anomalía en agregación con un agonista no es diagnóstica y se puede tratar de un falso positivo ▪ Se sugiere repetir la prueba según el contexto clínico

Es así como la agregometría plaquetaria por transmisión de luz se ha convertido en una prueba fundamental para el estudio de los trastornos hemorrágicos, tales como la enfermedad de von Willebrand y otros trastornos menos frecuentes como la atrombia esencial, la afibrinogenemia congénita y el defecto similar a la aspirina. Así mismo, la agregometría plaquetaria ha traspasado su aplicación principal, el diagnóstico de trastornos hemorrágicos, hasta convertirse en una herramienta útil para el diagnóstico de una enfermedad trombótica de difícil manejo como el síndrome de la plaqueta pegajosa.

Si bien tiene un potencial diagnóstico en el campo de la coagulación, es importante tener presente que no es la prueba óptima para la evaluación del tratamiento con antiagregantes como la aspirina y el clopidogrel, para los cuales, se disponen de otros sistemas, como PFA-100.

Para finalizar, tanto el médico que ordena e interpreta la prueba, como el bacteriólogo que procesa la muestra, debe conocer y tener presente las aplicaciones, las ventajas y las limitantes de la agregometría plaquetaria, la interpretación de los resultados y los medicamentos que pueden interferir con la prueba. De igual forma, los laboratorios clínicos que ofrecen la agregometría plaquetaria dentro de su portafolio de servicios, deben llevar estrictos controles de calidad en las fases preanalítica, analítica y posanalítica para garantizar la aplicabilidad clínica de los resultados.

Bibliografía

- Kottke-Marchant K, Corcoran G. The laboratory diagnosis of platelet disorders. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 133-146.
- van Ommen CH, Peters M. The bleeding child. Part I: primary hemostatic disorders. *Eur J Pediatr* 2012; 171: 1-10.
- Rand ML, Leung R, Packham MA. Platelet function assays. *Transfus Apher Sci* 2003; 28: 307-317.
- Tsuji S, Sugimoto M, Miyata S, Kuwahara M, Kinoshita S, Yoshioka A. Real-time analysis of mural thrombus formation in various platelet aggregation disorders: distinct shear-dependent roles of platelet receptors and adhesive proteins under flow. *Blood* 1999; 94: 968-975.
- Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood* 2007; 109: 5087-5095.
- Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Binbrek A, Van De Werf F, Alexander JH, et al. Effect of tenecteplase versus alteplase on platelets during the first 3 hours of treatment for acute myocardial infarction: the Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Agent (ASSENT-2) platelet substudy. *Am Heart J* 2003; 145: 636-642.
- Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Lipid-protein interactions in blood coagulation. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1376: 433-453.
- Born GV, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1963; 168: 178-195.
- 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: 172-183.
- Jennings LK, White MM. Platelet Aggregation. In: Michelson AD, ed. *Platelets* (ed 2nd). United States of America: Academic Press; 2007.
- Duncan EM, Bonar R, Rodgers SE, Favaloro EJ, Marsden K. Methodology and outcomes of platelet aggregation testing in Australia, New Zealand and the Asia-Pacific region: results of a survey from the Royal College of Pathologists of Australasia Haematology Quality Assurance Program. *Int J Lab Hematol* 2009; 31: 398-406.
- Hayward CP, Moffat KA, Plumhoff E, Van Cott EM. Approaches to investigating common bleeding disorders: an evaluation of North American coagulation laboratory practices. *Am J Hematol* 2012; 87 Suppl 1: S45-50.
- 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: 676-684.
- Arkel YS, Haft JJ, Kreutner W, Sherwood J, Williams R. Alteration in second phase platelet aggregation associated with an emotionally stressful activity. *Thromb Haemost* 1977; 38: 552-561.
- Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, Ariyoshi H, Kawasaki T, Sakon M, et al. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. *Thromb Res* 1996; 81: 85-90.
- Dutta M, Ghatak S, Dutta S, Saha J, Sen I, Sinha R. Glanzmann's Thrombasthenia: A Rare Cause of Recurrent Profuse Epistaxis. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2011; 27: 113-116.
- Pujol-Moix N, Hernandez A, Escolar G, Espanol I, Martínez-Brotóns F, Mateo J. Platelet ultrastructural morphometry for diagnosis of partial delta-storage pool disease in patients with mild platelet dysfunction and/or thrombocytopenia of unknown origin. A study of 24 cases. *Haematologica* 2000; 85: 619-626.
- Velásquez AI, Carmona V, Ramos G. El síndrome de la plaqueta pegajosa: serie de casos en gestantes en el hospital militar central y revisión de literatura. *Rev Colomb Obstet Ginecol* 2004; 55: 232-239.
- Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14: 171-232.
- Nichols WL, Rick ME, Ortel TL, Montgomery RR, Sadler JE, Yawn BP, et al. Clinical and laboratory diagnosis of von Willebrand disease: a synopsis of the 2008 NHLBI/NIH guidelines. *Am J Hematol* 2009; 84: 366-370.
- Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2103-2114.
- Kunishima S, Matsushita T, Ito T, Kamiya T, Saito H. Novel nonsense mutation in the platelet glycoprotein Ibbeta gene associated with Bernard-Soulier syndrome. *Am J Hematol* 2002; 71: 279-284.
- Savoia A, Pastore A, De Rocco D, Civaschi E, Di Stazio M, Bottega R, et al. Clinical and genetic aspects of Bernard-Soulier syndrome: searching for genotype/phenotype correlations. *Haematologica* 2011; 96: 417-423.
- Pillitteri D, Pilgrimm AK, Kirchmaier CM. Novel Mutations in the GPIIb and GPIIIa Genes in Glanzmann Thrombasthenia. *Transfus Med Hemother* 2010; 37: 268-277.
- Cattaneo M, Kinlough-Rathbone RL, Lecchi A, Bevilacqua C, Packham MA, Mustard JF. Fibrinogen-independent aggregation and deaggregation of human platelets: studies in two afibrinogenemic patients. *Blood* 1987; 70: 221-226.
- De Marco L, Girolami A, Zimmerman TS, Ruggeri ZM. von Willebrand factor interaction with the glycoprotein IIb/IIIa complex. Its role in platelet function as demonstrated in patients with congenital afibrinogenemia. *J Clin Invest* 1986; 77: 1272-1277.

27. **Inceman S, Tangun Y.** Essential athrombia: study of a new case. *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 33: 278-285.
28. **Ueda Y, Arii Y, Fujino O, Oka K, Shigekiyo T, Saito S.** Successful delivery in a case of essential athrombia. *Jpn J Med* 1989; 28: 379-381.
29. **Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, Winter M, et al.** Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol* 2011; 155: 30-44.
30. **Rolf N, Knoefler R, Bugert P, Gehrisch S, Siegert G, Kuhlisch E, et al.** Clinical and laboratory phenotypes associated with the aspirin-like defect: a study in 17 unrelated families. *Br J Haematol* 2009; 144: 416-424.
31. **Bowman M, Hopman WM, Rapson D, Lillicrap D, Silva M, James P.** A prospective evaluation of the prevalence of symptomatic von Willebrand disease (VWD) in a pediatric primary care population. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55: 171-173.
32. **Werner EJ, Broxson EH, Tucker EL, Giroux DS, Shults J, Abshire TC.** Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr* 1993; 123: 893-898.
33. **Budde U, Favaloro EJ.** Laboratory diagnosis of von Willebrand disease: the phenotype. In: Federici AB, Lee CA, Berntorp EE, Lillicrap D, Montgomery RR, eds. *Von Willebrand disease: basic and clinical aspects*. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011.
34. **James PD, Tosetto A.** Clinical aspects of von Willebrand disease: bleeding history. In: Federici AB, Lee CA, Berntorp EE, Lillicrap D, Montgomery RR, eds. *Von Willebrand disease: basic and clinical aspects*. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011.
35. **Miller CH, Kelley L, Green D.** Diagnosis of von Willebrand disease type 2N: a simplified method for measurement of factor VIII binding to von Willebrand factor. *Am J Hematol* 1998; 58: 311-318.
36. **Chaturvedi S, Dzieczkowski JS.** Protein S deficiency, activated protein C resistance and sticky platelet syndrome in a young woman with bilateral strokes. *Cerebrovasc Dis* 1999; 9: 127-130.
37. **Hayward CP, Moffat KA, Raby A, Israels S, Plumboff 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.
38. **Vettore S, Tezza F, Malara A, Vianello F, Pecci A, Scandellari R, et al.** A A386G biallelic GPIIb/IIIa gene mutation with anomalous behavior: a new mechanism suggested for Bernard-Soulier syndrome pathogenesis. *Haematologica* 2011; 96: 1878-1882.
39. **Mahfouz RA, Bolz HJ, Otrrock ZK, Bergmann C, Muwakkit S.** Novel mutation in the glycoprotein Ibbeta in a patient with Bernard-Soulier syndrome: possibility of distant parental consanguinity. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23: 335-337.
40. **Toogeh G, Keyhani M, Sharifian R, Safaee R, Emami A, Dalili H.** A study of Bernard-Soulier syndrome in Tehran, Iran. *Arch Iran Med* 2010; 13: 549-551.
41. **Nurden AT.** Glanzmann thrombasthenia: the need for epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1875-1877.
42. **Fiore M, Nurden AT, Nurden P, Seligssohn U.** Clinical utility gene card for: Glanzmann thrombasthenia. *Eur J Hum Genet* 2012.
43. **Peretz H, Rosenberg N, Usher S, Graff E, Newman PJ, Coller BS, et al.** Glanzmann's thrombasthenia associated with deletion-insertion and alternative splicing in the glycoprotein IIb gene. *Blood* 1995; 85: 414-420.
44. **The Samuel Bronfman Department of Medicine Mount Sinai School of Medicine, Department of Medicine Glanzmann thrombasthenia database** <http://sinaicentralmssmedu/intranet/research/glanzmann/menu> 2012 Consultado el 18 de julio de 2012.
45. **Jackson DE, White MM, Jennings LK, Newman PJ.** A Ser162-->Leu mutation within glycoprotein (GP) IIIa (integrin beta3) results in an unstable alphaIIb-beta3 complex that retains partial function in a novel form of type II Glanzmann thrombasthenia. *Thromb Haemost* 1998; 80: 42-48.
46. **Nelson EJ, Nair SC, Peretz H, Coller BS, Seligssohn U, Chandy M, et al.** Diversity of Glanzmann thrombasthenia in southern India: 10 novel mutations identified among 15 unrelated patients. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1730-1737.
47. **Vannier C, Behnisch W, Bartsch I, Sandrock K, Ertle F, Schmidt K, et al.** Novel homozygous mutation (c.175delG) in platelet glycoprotein ITGA2B gene as cause of Glanzmann's thrombasthenia type I. *Klin Padiatr* 2010; 222: 150-153.
48. **Johnston GI, Heptinstall S, Robins RA, Price MR.** The expression of glycoproteins on single blood platelets from healthy individuals and from patients with congenital bleeding disorders. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123: 1091-1098.
49. **Vizcargüenaga MI.** Síndrome de pool de depósito. Revisión. *Presentación de estudios de laboratorio. Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006; 40: 327-334.
50. **Hayward CP, Weiss HJ, Lages B, Finlay M, Hegstad AC, Zheng S, et al.** The storage defects in grey platelet syndrome and alphasdelta-storage pool deficiency affect alpha-granule factor V and multimerin storage without altering their proteolytic processing. *Br J Haematol* 2001; 113: 871-877.
51. **Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ, et al.** A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol* 2006; 135: 603-633.
52. **Gahl WA, Brantly M, Kaiser-Kupfer MI, Iwata F, Hazelwood S, Shotelersuk V, et al.** Genetic defects and clinical characteristics of patients with a form of

- oculocutaneous albinism (Hermansky-Pudlak syndrome). *N Engl J Med* 1998; 338: 1258-1264.
53. **Israels SJ, McNicol A, Robertson C, Gerrard JM.** Platelet storage pool deficiency: diagnosis in patients with prolonged bleeding times and normal platelet aggregation. *Br J Haematol* 1990; 75: 118-121.
 54. **Nieuwenhuis HK, Akkerman JW, Sixma JJ.** Patients with a prolonged bleeding time and normal aggregation tests may have storage pool deficiency: studies on one hundred six patients. *Blood* 1987; 70: 620-623.
 55. **White MM, Foust JT, Mauer AM, Robertson JT, Jennings LK.** Assessment of lumiaggregometry for research and clinical laboratories. *Thromb Haemost* 1992; 67: 572-577.
 56. **Dawood BB, Wilde J, Watson SP.** Reference curves for aggregation and ATP secretion to aid diagnose of platelet-based bleeding disorders: effect of inhibition of ADP and thromboxane A(2) pathways. *Platelets* 2007; 18: 329-345.
 57. **Gehoff A, Kluge JG, Gehoff P, Jurisch D, Pfeifer D, Hinz J, et al.** Recurrent strokes under anticoagulation therapy: Sticky platelet syndrome combined with a patent foramen ovale. *J Cardiovasc Dis Res* 2011; 2: 68-70.
 58. **Sand M, Mann B, Bechara FG, Sand D.** Sticky platelet syndrome type II presenting with arterial microemboli in the fingers. *Thromb Res* 2009; 124: 244.
 59. **Andersen J.** Sticky platelet syndrome. *Clin Adv Hematol Oncol* 2006; 4: 432-434.
 60. **Frenkel EP, Mammen EF.** Sticky platelet syndrome and thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003; 17: 63-83.
 61. **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: 582-592.
 62. **Blais N, Pharand C, Lordkipanidze M, Sia YK, Merhi Y, Diodati JG.** Response to aspirin in healthy individuals. Cross-comparison of light transmission aggregometry, VerifyNow system, platelet count drop, thromboelastography (TEG) and urinary 11-dehydrothromboxane B(2). *Thromb Haemost* 2009; 102: 404-411.
 63. **Michelson AD.** Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004; 110: e489-493.
 64. **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.
 65. **Du X, Ginsberg MH.** Integrin alpha IIb beta 3 and platelet function. *Thromb Haemost* 1997; 78: 96-100.
 66. **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.
 67. **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.
 68. **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.
 69. **Edwards A, Jakubowski JA, Rechner AR, Sugidachi A, Harrison P.** Evaluation of the INNOVANCE PFA P2Y test cartridge: sensitivity to P2Y(12) blockade and influence of anticoagulant. *Platelets* 2012; 23: 106-115.
 70. **Tsantes A, Ikonomidis I, Papadakis I, Kottaridi C, Tsante A, Kalamara E, et al.** Evaluation of the role of the new INNOVANCE PFA P2Y test cartridge in detection of clopidogrel resistance. *Platelets* 2012.
 71. **Burroughs SE, Johnson GJ.** Beta-lactam antibiotic-induced platelet dysfunction: evidence for irreversible inhibition of platelet activation in vitro and in vivo after prolonged exposure to penicillin. *Blood* 1990; 75: 1473-1480.
 72. **Philp RB, Lemieux JP.** Interactions of dipyridamole and adenosine on platelet aggregation. *Nature* 1969; 221: 1162-1164.
 73. **Moser M, Nordt T, Peter K, Ruef J, Kohler B, Schmittner M, et al.** Platelet function during and after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction with reteplase, alteplase, or streptokinase. *Circulation* 1999; 100: 1858-1864.
 74. **Dordoni PL, Frassanito L, Bruno MF, Proietti R, de Cristofaro R, Ciabattini G, et al.** In vivo and in vitro effects of different anaesthetics on platelet function. *Br J Haematol* 2004; 125: 79-82.
 75. **Kozek-Langenecker SA.** The effects of drugs used in anaesthesia on platelet membrane receptors and on platelet function. *Curr Drug Targets* 2002; 3: 247-258.