

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y
BIOQUÍMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD



OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE
MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS
CIRCULANTES Y LA APLICACIÓN EN PACIENTES
CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR

**Tesis de Grado, para obtener el Título de Especialidad en Diagnóstico de Laboratorio
en Salud “Mención Hematología”**

POR: Lic.SONIA PATRICIA CABALLERO SANABRIA

LA PAZ- BOLIVIA

2013

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y
BIOQUÍMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD



OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE
MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS
CIRCULANTES Y LA APLICACIÓN EN PACIENTES
CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR

**Tesis de Grado, para obtener el Título de Especialidad en Diagnóstico de Laboratorio
en Salud “Mención Hematología”**

POR: Lic.SONIA PATRICIA CABALLERO SANABRIA

TUTOR:Lic. ZORKA CASTILLO VACANO

LA PAZ- BOLIVIA

2013

DEDICATORIA

A mi hijo José Fernando
Por la fuerza que me da
cada día para crecer en la vida.

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios por darme la fortaleza, por darme paciencia, y la voluntad para alcanzar mis metas.

- ❖ Al Instituto SELADIS y a su plantel académico por haber posibilitado mi formación.

- ❖ A la Dra. Zorka Castillo por su guía y continua ayuda, en la elaboración del presente trabajo.

- ❖ Al Dr. Jaime Salgueiro por su apoyo incondicional.

- ❖ A la Dra. Nilda Caballero por su incansable paciencia

- ❖ A mi familia por su continuo apoyo moral

6.2.2.2. FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS.....	18
6.2.2.3. REACTIVIDAD PLAQUETARIA.....	18
6.3. HEMOSTASIA SECUNDARIA.....	22
6.3.1. COAGULACIÓN PLASMÁTICA.....	22
6.4. CONTROL DE LA HEMOSTASIA.....	25
6.4.1. CIRCULACIÓN SANGUÍNEA.....	25
6.4.2. DEPURACIÓN HEPÁTICA.....	25
6.4.3. INHIBICIÓN POR RETROALIMENTACIÓN.....	25
6.4.4. INHIBIDORES BIOQUÍMICOS.....	26
6.4.5. SISTEMA FIBRINOLÍTICO.....	27
6.5. TROMBOSIS.....	28
6.5.1. PATOGENIA DE LA TROMBOSIS.....	29
6.5.1.1. PARED DEL VASO.....	29
6.5.1.2. ALTERACIONES DEL FLUJO SANGUÍNEO.....	30
6.5.1.3. CONSTITUYENTES SANGUÍNEOS.....	31
6.5.2. TIPOS DE TROMBOSIS.....	31
6.5.2.1. TROMBOSIS VENOSA.....	31
6.5.2.2. TROMBOSIS ARTERIAL.....	32
6.5.3. FACTORES DE RIESGO DE TROMBOSIS.....	33
6.6. MEDICACIÓN ANTIAGREGANTE.....	35
6.6.1. INHIBIDORES DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO.....	35
6.6.2. INHIBIDORES DE LA VÍA DEL TROMBOXANO.....	36
6.6.2.1. ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO (ASA).....	36
6.6.3. FARMACOS QUE ACTÚAN EN LA MEMBRANA.....	37

6.6.3.1. TICLOPIDINA Y CLOPIDOGREL.....	37
6.7. EVENTOS Y RIESGOS CARDIOVASCULARES.....	38
6.7.1. GRUPOS DE RIESGO CARDIOVASCULARES.....	40
6.7.1.1. MAYOR RIESGO.....	40
6.7.1.2. RIESGO INTERMEDIO.....	41
6.7.1.3. RIESGO BAJO.....	41
6.7.2. PREVENCIÓN PRIMARIA Y SECUNDARIA.....	42
6.8. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE	
AGREGADOS PLAQUETARIOS EN SANGRE.....	43
6.8.1. FILTROS DE SANGRE.....	43
6.8.2. DETECCIÓN POR ULTRASONIDO.....	44
6.8.3. MÉTODOS ÓPTICOS AGREGOMETRÍA PLAQUETARIA.....	45
6.8.4. CITOMETRÍA DE FLUJO.....	46
6.8.5. FIJACIÓN DE LOS MICROAGREGADOS.....	46
6.8.5.1. PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA.....	47
6.8.5.2. MODIFICACIÓN DE LA TÉCNICA ORIGINAL.....	48
7. DISEÑO METODOLÓGICO.....	50
7.1. DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	50
7.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	51
7.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	51
7.4. SISTEMÁTICA DE CONTROL DE TRABAJO.....	52
7.5. ASPECTOS ÉTICOS.....	52
7.6. DISEÑO DE ESTUDIO.....	52
7.6.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	52

7.6.2. TAMAÑO MUESTRAL.....	53
7.7. MATERIAL.....	54
7.7.1. EQUIPOS.....	54
7.2.2. MATERIALES.....	54
7.7.3. REACTIVOS.....	55
7.7.3.1. SOLUCIONES MADRES.....	55
7.7.3.2. SOLUCIONES DE TRABAJO.....	55
7.8. MÉTODO.....	56
7.8.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA.....	56
7.8.2. TÉCNICA.....	57
7.8.3. FUNDAMENTO.....	57
7.8.4. ESQUEMA DE TRABAJO.....	58
7.8.5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.....	59
7.9. METODOLOGÍA PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES.....	60
7.9.1. EVALUACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS.....	60
7.9.2. DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS.....	61
7.9.3. CONTROL DE REPRODUCTIBILIDAD DE LA TÉCNICA.....	62
7.9.4. DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES EN PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR.....	62
8. RESULTADOS.....	63

8.1. OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES.....	63
8.8.1. EVALUACIÓN DEL GRUPO CONTROL SANO.....	63
8.1.2. EVALUACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA DE TRABAJO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS.....	65
8.1.3. DETERMINACIÓN DE ESTABILIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS.....	66
8.1.4. CONTROL DE REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA.....	67
8.2. DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES A PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR.....	68
8.3. DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS CIRCULANTES SEGÚN GRUPOS DE ESTUDIO EN RANGOS DE AGREGACIÓN.....	69
8.4. DETERMINACIÓN DE LA PATOLOGÍA DE MAYOR FRECUENCIA EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO.....	71
8.5. DETERMINACIÓN DE LA PATOLOGÍA DE MAYOR FRECUENCIA CON INDICE DE HIPERAGREGABILIDAD.....	73
9. DISCUSIÓN.....	75
10. CONCLUSIONES.....	78
11. RECOMENDACIONES.....	80
GLOSARIO.....	81
BIBLIOGRAFÍA.....	87
ANEXOS.....	93

LISTA DE TABLAS Y GRÁFICOS

TABLA N°1 EVALUACIÓN DEL GRUPO CONTROL SANO SEGÚN SEXO Y RESULTADOS	Pág. 62
GRÁFICO N°1 EVALUACIÓN DEL GRUPO CONTROL SANO SEGÚN SEXO Y RESULTADOS	Pág. 62
TABLA N°2 EVALUACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA DE TRABAJO DEL PRP DEL GRUPO CONTROL SANO	Pág. 63
TABLA N° 3 DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PRP DEL GRUPO CONTROL SANO	Pág. 64
TABLA N° 4 CONTROL DE REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES	Pág. 65
TABLA N° 5 NUMERO DE PACIENTES CON Y SIN TERAPIA ANTIAGREGANTE SEGÚN SEXO	Pág. 66
GRÁFICO N° 5 NÚMERO DE PACIENTES CON Y SIN TERAPIA ANTIAGREGANTE SEGÚN SEXO	Pág. 67
TABLA N° 6 NÚMERO DE PACIENTES SEGÚN RANGOS DE AGREGACIÓN*TERAPIA ANTIAGREGANTE	Pág. 68
GRÁFICO N° 6 NÚMERO DE PACIENTES SEGÚN RANGOS DE AGREGACIÓN*TERAPIA ANTIAGREGANTE	Pág. 68
TABLA N°7FRECUENCIA DE PATOLOGÍAS EN PACIENTES DE ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR, HOSPITAL COSSMIL	Pág.70
TABLA N°8 TABLA DE CORRELACIÓN PATOLOGÍAS-RESULTADOS EN PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR	Pág. 71

RESUMEN

Las plaquetas activadas por diferentes estímulos forman agregados que pueden formar trombos que según su gravedad pueden conducir a fenómenos tromboembólicos con desenlaces poco favorables. Actualmente se observa un aumento en los eventos cardiovasculares debido principalmente a la forma de vida y a los riesgos de acción tóxica asociados a la misma. Con la evolución de la ciencia se tiende a mejorar los métodos de laboratorio destinados tanto al diagnóstico como al seguimiento de las terapias empleadas para el tratamiento de las distintas patologías.

El objetivo principal del presente trabajo ha sido la optimización de la técnica de fijación de agregados plaquetarios propuesta por Kenneth Wu y John Hoak y modificada por Kohanna y colaboradores. Ajustada al trabajo rutinario del laboratorio de Hematología. Para aplicación en grupos de pacientes con elevado riesgo cardiovascular que reciben o no terapia antiagregante.

Las conclusiones de este trabajo demuestran que para un buen desempeño de la técnica, el procedimiento de laboratorio deberá ser ejecutado el mismo día de toma de muestra, en una dilución óptima determinada de 1/ 2, la técnica es reproducible a diferentes lapsos de tiempo sin presentar variación en los resultados. Los microagregados plaquetarios son advisibles en personas sanas dentro de los rangos de normalidad, y se encuentran también en pacientes con diferentes eventos cardiovasculares y son más frecuentes en personas con terapia antiagregante de aspirina 100 mg diarios que en las personas que no la recibían, siendo la hipertensión arterial sistémica y la cardiopatía isquémica las patologías que se relacionan con la hiperagregabilidad plaquetaria.

Palabras claves: Microagregados plaquetarios, eventos cardiovasculares, antiagregante

ABSTRACT

Platelets activated by different stimulations form aggregates, which may form at the same time thrombi, according to its severity this can lead to thromboembolic events with unfavorable outcomes. Currently there is an increase in cardiovascular elements mainly due to lifestyle and toxic action risks associated therewith. But the evolution of science tends to improve laboratory methods for both the diagnosis and the monitoring of therapies used for the treatment of these pathologies.

The main, objective of this work has been the optimization of the fixation technique from platelet aggregates, proposed by Kenneth Wu & John Hoak and modified by Kohanna and collaborators, work framed in the routine of hematology laboratory for application in large groups of patients with cardiovascular risk, receiving or not receiving antiplatelet therapy.

The findings of this research shows that for a good performance of the technique, the laboratory procedure shall be performed on the same day of sampling, in particular optimal dilution of 1/ 2, the technique is reproducible for different lengths of time without showing variation in the results. The platelet micro aggregates are predictable in healthy people, within normal ranges and also can be found in patients with various cardiovascular events, but are frequently more common in people with antiplatelet therapy of aspirin 100 mg daily, contrasting to people who did not receive anything. Being the systemic arterial hypertension and ischemic heart disease the pathologies that are directly related to the hyper aggregability platelet.

Keywords: Platelet micro aggregates, cardiovascular events, antiplatelet

1. INTRODUCCIÓN

La formación de microagregados plaquetarios circulantes se debe a la acción de diferentes estímulos en las plaquetas que al activarse producen cambios en su forma, agregación y liberación del contenido de sus gránulos, formación de microagregados plaquetarios circulantes. Estímulos como, complejos antígeno-anticuerpo circulantes, virus, bacterias, productos derivados del tabaco, etc., determinan la exposición de estructuras subendoteliales y producción de ADP, adrenalina, trombina que produce la activación de las mismas.

Se ha demostrado que los agregados plaquetarios pueden provocar, según su magnitud obstrucción de la microcirculación y comprometer la función de los órganos vitales. Al ser detectados in vitro demuestran la hiperactividad plaquetaria in vivo; de tal manera que se consideran marcadores biológicos en la predicción de eventos coronarios y mortalidad en pacientes con infarto agudo al miocardio reciente, así como en la evolución de arteriopatías diversas como la retinopatía diabética. El tratamiento con heparina causa la formación de agregados plaquetarios en personas normales como en pacientes sometidos a hemodiálisis.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de morbilidad y mortalidad, y son consideradas la epidemia del siglo XXI en las sociedades desarrolladas 50% de muertes en EEUU, el 80 % de la mortalidad por aterosclerosis en diabéticos, el 75% de las hospitalizaciones es por enfermedad cardiovascular o eventos cardiovasculares y en muchos de los países en vías de desarrollo. Los estudios epidemiológicos a nivel mundial tanto en Europa como en Estados Unidos demuestran que existe un incremento en la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares; la OMS estima que aproximadamente 17 millones de personas mueren cada año como consecuencia de enfermedades cardiovasculares en todo el mundo.

En los últimos años el aumento la incidencia de patologías cardiovasculares como las dislipidemias, hipertensión arterial y enfermedades coronarias ha ido en aumento, el riesgo se incrementa además con la edad ya que después de los 40 años la posibilidad de presentar un accidente tromboembólico aumenta geométricamente, destacándose un papel importante la interconurrencia de el tabaquismo, la diabetes mellitus, el stress, la obesidad y el sedentarismo que aumenta el riesgo.

En este contexto es necesario y muy útil el contar con una prueba que pueda predecir fenómenos trombóticos y más aún ajustar la terapia empleada en la valoración clínica y seguimiento terapéutico del paciente.

El trabajo actual tiende a mejorar la calidad de las pruebas de laboratorio para hacerlas más confiables tanto para el paciente como para el médico proporcionando un nivel mayor de seguridad y confianza en los resultados obtenidos, por tal motivo se optimizará la técnica de fijación de agregados propuesta por Kenneth Wu y John Hoak y adecuarla al trabajo de laboratorio en la búsqueda de microagregados plaquetarios circulantes y aplicarla a pacientes con diferentes riesgos cardiovasculares, que no se encuentren recibiendo terapia antiagregante y también aquellos que si la reciban.

2. ANTECEDENTES

En 1856 Rudolph Virchow plantea su triada sobre la formación de trombos y los problemas que acompañan a la formación de los mismos, donde la aparición de un trombo se produce por la alteración de la pared vascular, modificaciones en el flujo sanguíneo o por la alteración en los componentes sanguíneos; en la actualidad estos conceptos se siguen aceptando.

Para la detección de agregados plaquetarios puede usarse también el empleo de transmisión óptica por agregometría empleando plasma rico en plaquetas y agonistas como ácido araquidónico, colágeno, adrenalina y ADP; citometría de flujo, filtros de sangre, el empleo de ultrasonido y la fijación de los agregados plaquetarios o ratio de agregación plaquetaria, técnica empleada en el presente trabajo.

En 1974 Kenneth Wu y John Hoak reportan la presencia de agregados plaquetarios circulantes en procesos tromboembólicos y otros eventos cardiovasculares a través de una técnica que fija los agregados plaquetarios mediante una solución de formalina empleando un contador automatizado para el recuento plaquetario, que fue confirmada por posteriores investigaciones, encontrándose microagregados circulantes, también en otros procesos como la diabetes, infarto cardíaco, cáncer de pulmón, y en sujetos adictos al tabaco. Durante esta investigación se pudo establecer que pacientes con eventos cardiovasculares tenían un coeficiente de agregación de 0.75 ± 0.003 y pacientes normales o con otras afecciones presentaban cocientes normales de 0.8 a 1.0. Gracias a esta valoración se pudo realizar el cambio de tratamiento de aspirina a sulfipirazona ayudando a resolver algunos cuadros. (Wu-Hoak, 1975)

En 1984 Kohanna y colaboradores validan y optimizan la técnica original de Wu-Hoak al presentar diferentes causas de interferencias durante la toma de muestra, empleando sangre pura como también plasma rico en plaquetas para el recuento de plaquetas luego de la valoración in vitro empleando ADP como inductor en la agregación plaquetaria valorado en un agregómetro y realizando el ratio de agregación o empleando un contador de células automático, se evidencia que la modificación ofrece resultados más confiables que eliminan posibles errores de técnica, variante que será empleada en el presente trabajo de investigación adecuada al trabajo manual. (Kohanna, 1984).

En el año 2000, durante el estudio de marcadores de activación plaquetaria en pacientes con sepsis grave, se pudo demostrar la presencia de microagregados plaquetarios circulantes significativamente mayores a los encontrados en pacientes normales, en pacientes con sepsis no grave y en el grupo control. Demostrando que las plaquetas son activadas considerablemente por la acción de interleucinas producidas a causa de la presencia de bacterias. (García, 2000)

Es importante conocer los riesgos ambientales y genéticos para un enfoque integral acerca de la predisposición a desarrollar enfermedades del sistema circulatorio, las más comúnmente observadas: la enfermedad isquémica del corazón y la enfermedad cerebro vascular o ictus (AVC), se debe tomar también muy en cuenta que en cada sociedad existen grupos de individuos que tienen más probabilidades que otros de presentar determinadas enfermedades cardiovasculares, pudiéndose así determinar los riesgos características o factores que vayan a incrementar la probabilidad de enfermedad. Emplear además para la prevención cardiovascular el concepto de Virchow “Las epidemias se producen como consecuencia de alteraciones en la cultura humana”

Si bien los factores de riesgo cardiovasculares son similares tanto para hombres como para mujeres, las diferencias son más evidentes particularmente en la diabetes y dislipidemias, que aumentan los índices de prevalencia de enfermedades cardiacas y accidente cerebro vascular aumentando el riesgo de muerte por enfermedad coronaria entre los 65-70 años en ambos sexos. Estudios sobre agregación plaquetaria inducida con distintos agonistas, ADP, trombina, colágeno y fibrinógeno, a diferentes concentraciones de glucosa demostró que a mayor glucosa mayor incremento de la agregación plaquetaria (Gonzales, 2001)

El comienzo de la enfermedad trombótica en las mujeres tal vez es debido a la disminución de la actividad hormonal, ya que la incidencia de enfermedades coronarias aumenta en las mujeres menopáusicas, menopáusicas tempranas o quirúrgicas por la pérdida fisiológica de estrógenos; no es evidente de tal forma que el tratamiento con terapia hormonal de reemplazo ayude en la prevención primaria de enfermedades cardiovasculares, como el empleo de aspirina como antiagregante. (Berger, 2006)

Se ha establecido que el efecto de la aspirina no es el mismo para las mujeres que en hombres; ya que la aspirina reduce considerablemente la incidencia de accidentes cerebro vasculares en las mujeres pero no en los hombres, reduciendo la incidencia de los ataques cardiacos en hombres pero no en mujeres. En ambos casos antes del comienzo de la terapia preventiva con aspirina debe tomarse en cuenta el riesgo de sangrado gástrico. (Berger, 2006)

En Bolivia, se observa que existe un incremento de las enfermedades cardiovasculares, siendo la frecuencia de hipertensión arterial de un 20 % en la consulta externa del Hospital Obrero N° 1 de la Caja Nacional de Salud, y del 19.5% en el Instituto Nacional del Tórax de la ciudad de La Paz. (Jáuregui, 1999)

3. JUSTIFICACIÓN.

La activación plaquetaria es sumamente importante en la patogénesis de la aterotrombosis, se ha detectado la presencia de microagregados circulantes en entidades clínicas asociadas a hiperactividad plaquetaria, tales como la presencia de prótesis valvulares cardíacas, coronariopatías, infarto agudo al miocardio, diabetes mellitus, síndrome metabólico, tabaquismo, dislipidemias, etc.

En los últimos años se han realizados diversos intentos para encontrar pruebas de laboratorio capaces de predecir el desarrollo de una trombosis o detectar un proceso trombótico oculto antes de manifestarse clínicamente. Las técnicas de mayor utilidad son las pruebas capaces de detectar la presencia de proteínas específicas plaquetarias que se liberan en los procesos de su activación, o péptidos estables derivados de la activación de factores de la coagulación y complejos activador-inhibidor.

Por lo tanto el examen físico y los estudios con métodos no invasivos como el ultrasonido, doppler color, etc., proporcionan los parámetros para confirmar un problema trombótico. La relación entre trombosis y la presencia de las placas ateromatosas grandes son las que aportan más peligro, pero muchas placas ateromatosas que desencadenan eventos clínicos agudos son pequeñas y bastante difíciles de diagnosticar angiográficamente, ya que al tener una capa delgada e irregular y un alta actividad de macrófagos, metalo proteínas y presencia de abundante factor tisular producido por el músculo liso son capaces de desencadenar la formación de un trombo ante la más mínima ruptura. (Dario, 2003)

Si bien las pruebas de gabinete son de suma importancia en el diagnostico de estas afecciones, sin embargo dichas técnicas presuponen costos, que a veces no se encuentran al alcance de los pacientes o no se hallan disponibles todo el tiempo, principalmente para la evaluación de su tratamiento.

En 1971 Smith y Willis demostraron el efecto antiagregante de la aspirina, desde entonces su empleo en la prevención primaria para evitar complicaciones cardiovasculares ha sido bien estudiada en seis ensayos clínicos. La Antithrombotic Trialist Collaboration demostró que la aspirina disminuye el riesgo de las complicaciones cardiovasculares en un 25 %. En el estudio ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) publicó que el uso de aspirina reducía en 23 % la mortalidad en el infarto agudo al miocardio. A pesar de la eficacia de los antiagregantes es cada vez más frecuente encontrarse con pacientes resistentes a la aspirina o que tendrán eventos cardiovasculares a pesar de tomar antiplaquetarios. (Gimeno, 2010)

En 2004, en el New York times informaba de que el 40 % de los que tomaban aspirina eran resistentes a ella. La prevalencia de la resistencia a la aspirina en laboratorio oscila entre el 5.5 y el 61% .La resistencia clínica a la aspirina se estima que representaría el 10 al 20% de los pacientes. Se han postulado varios estudios que han demostrado la asociación entre resistencia a la aspirina y las consecuencias clínicas. (Gimeno, 2010)

La evaluación de la terapia antiagregante o antiplaquetarios, actualmente es evaluada a través de la medición de metabolitos del tromboxano A₂ especialmente del Tromboxano B₂ (TXB₂) en plasma o suero o en orina. Como se menciona también a través de la agregometría óptica considerada como la estándar Glod, citometría de flujo el empleo de filtros, ultrasonido y la fijación de los agregados plaquetarios. Requiriendo para tal efecto de aparatos que no siempre se encuentran en todos los laboratorios.

En este escenario la determinación de microagregados plaquetarios o ratio de agregación plaquetaria, a través de la técnica de fijación; al adecuarla al trabajo manual y al ser una técnica sencilla, de costo accesible y no requerir de un muestreo especial, ni grandes aparatos para su ejecución o kits reactivos que no siempre se encuentran a disposición, busca cumplir con las expectativas del paciente como así también del médico tratante ya que se podrá contar valores útiles

para su valoración y también ofrecer un posible marcador para el seguimiento de la terapia antiagregante adecuada a cada caso en particular

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Optimizar la técnica de determinación de microagregados plaquetarios circulantes y la aplicación en pacientes con elevado riesgo cardiovascular

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Optimizar la técnica de microagregados plaquetarios in vitro
- b) Determinar la presencia de microagregados plaquetarios circulantes en pacientes con elevado riesgo cardiovascular con tratamiento antiagregante
- c) Determinar la presencia de microagregados plaquetarios circulantes en pacientes con elevado riesgo cardiovascular sin tratamiento antiagregante
- d) Comparar los resultados de agregación en pacientes con elevado riesgo cardiovascular con y sin tratamiento antiagregante
- e) Determinar la patología de mayor frecuencia
- f) Relacionar la patología de mayor frecuencia con los resultados obtenidos dentro de los índices de hiperactividad plaquetaria.

5. HIPOTESIS

Es posible la optimización y adecuación de la técnica de fijación de agregados plaquetarios para el trabajo manual en el laboratorio de hematología y su posterior aplicación a pacientes con elevado riesgo cardiovasculares con y sin terapia antiagregante.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. HEMOSTASIA

La sangre circula en un sistema de vasos (venas y arterias) cerrado formado por células endoteliales que proporcionan el ambiente donde circulan libremente elementos formes y sustancias químicas. (Mckenzie, 1998)

Cuando este sistema de vasos sufre un daño se desencadena todo un proceso en el que se forma una barrera que limita el sitio dañado, conservando el resto de la circulación normal, a este proceso se denomina *hemostasia* (Vives, 1982) que comprende la hemostasia primaria en los vasos sanguíneos y las plaquetas, y la hemostasia secundaria formada principalmente por proteínas destinadas a la coagulación y al control de la misma complementándose ambas para lograr el equilibrio hemostático.

6.2. HEMOSTASIA PRIMARIA

6.2.1. VASOS SANGUÍNEOS

El revestimiento más profundo de los vasos sanguíneos es una capa continua de células llamadas endoteliales, que forman una superficie lisa sin solución de continuidad que impide la turbulencia de la sangre; luego una membrana basal con alto contenido de colágeno y su capa circundante de tejido conectivo que brinda sostén a las células endoteliales.

En todos los vasos sanguíneos los fibroblastos ocupan la capa de tejido conectivo y producen colágeno. Las células del músculo liso, entremezcladas con los fibroblastos en las arterias y arteriolas, pero no en las paredes de las venas, vénulas y capilares, se contraen durante la hemostasia primaria. (Rodak, 2010)

Las células de la íntima y su entorno desempeñan un papel muy importante en la hemostasia primaria, primero cualquier estímulo local induce a la vasoconstricción de las arterias y arteriolas. Las células del músculo liso se contraen cerrando la luz vascular disminuyendo el flujo sanguíneo. La membrana basal y los tejidos subendoteliales de las arterias y venas tienen alto contenido de colágeno que se une y activa a las plaquetas.

Las células endoteliales secretan el factor de von Willebrand proteína necesaria para que las plaquetas se adhieran al colágeno subendotelial expuesto en una lesión. Durante la activación las células endoteliales secretan y se recubren con P-selectina molécula de adhesión que estimula la unión entre la plaqueta y el leucocito. Por último las células del músculo liso y los fibroblastos secretan el factor tisular que activa la cascada de la coagulación por la activación del factor VII. (Rodak, 2010)

Mientras los vasos sanguíneos dañados poseen propiedades pro coagulantes, la capa de la íntima vascular intacta previene la trombosis intravascular por diversos mecanismos, en primer lugar las células endoteliales son romboidales y continuas, lo que proporciona una superficie lisa que nivela el flujo sanguíneo y evita la turbulencia. Las células endoteliales sintetizan prostaglandina GI_2 (PGI_2) o prostaciclina que impide la activación plaquetaria y promueve a la vasodilatación. (Boffinge, 1989)(Rodak, 2010)

El óxido nítrico se sintetiza en las células endoteliales, células del músculo liso vascular y regula la vasoconstricción y es necesario para el mantenimiento de los vasos sanguíneos. El sulfato de heparán retarda la coagulación del plasma mediante la activación de la protrombina. La célula endotelial también produce el inhibidor del factor tisular que inactiva al factor VIIa y la trombospondina que activa la proteína C. (Rodak, 2010)

6.2.2. PLAQUETAS

Las plaquetas proceden de la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos medulares, que circulan en la sangre y cuya misión es taponar rápidamente cualquier solución de continuidad producida en el endotelio vascular. Los estudios de Bizzocero publicados en 1882 constituyeron la base inicial de una serie de estudios a los conocimientos hoy existentes acerca de las funciones plaquetarias, de su participación en la coagulación y en la fibrinólisis. Posteriores estudios dieron evidencia que las plaquetas además intervenían en otros procesos como la inflamación, la cicatrización de las heridas, la fibrosis y la aterosclerosis. (Rodak, 2010)

Las plaquetas no activadas son elementos discoides biconvexos de 2,9 a 4,2 μm de diámetro y 0,6 a 1,2 μm de grosor. En sangre periférica su número oscila entre 150000 a 450000 mm^3 . La vida media de las plaquetas en circulación en sujetos normales es de 7 a 10 días. (McKenzie, 1998)

6.2.2.1. ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES DE LAS PLAQUETAS

6.2.2.1.1. ZONA PERIFÉRICA

Con una cubierta externa o membrana plaquetaria se constituye el límite o separación de la plaqueta con el exterior, está integrada por tres capas : la primera es una cubierta exterior o glicocálix, de 15-20 nm de grosor, que contiene receptores glicoproteicos, entre ellos el complejo Ib-IX, que interacciona con el factor de Von Willebrand en el proceso de adhesión, y el complejo IIb-IIIa, que lo hace con el fibrinógeno en la agregación. (Mckenzie, 1998) Además integran en su estructura química, los principales antígenos plaquetarios de membrana y los antígenos ABO. (Rodak, 2010)

Glicoproteína	Función Propuesta
GPIIb/IIIa (alfa2bbeta3CD41/CD61)	Receptor de fibrinógeno y factor FvW
GPIa/Iia(VLA-2-alfa2beta1-CD49b/CD29)	Receptor de colágeno
GPIc-IIa(alfa5beta1-CD49e/CD29)	Receptor de fibronectina
GPIc-IIa(VLA-6;alfa6beta1; CD49f/CD29)	Receptor de laminina
Alfav-beta3 (CD51/CD61)	Receptor de vitronectina, FvW, fibrinógeno
GPIb-IX (CD42)	Receptor de FvW y trombina
GPV	Sustrato de trombina
Selectina P (GMP-140; PADGEM)	Interacción de plaquetas y leucocitos
PECAM-1	Interacción célula a célula

La segunda capa es una típica bicapa fosfolipídica, rica en ácido araquidónico, en respuesta a la activación la membrana expone una superficie cargada negativamente, esencial como soporte a los factores de la coagulación (actividad pro coagulante), el ácido araquidónico ingresa en el metabolismo de los eicosanoides, gracias a la acción de la ciclooxigenasa se forman los endoperoxidos PGG₂ y PGH₂, que gracias a la acción de la tromboxanosintetasa se forma el Tromboxano A₂ cuyas funciones son de activar la agregación plaquetaria, movilizar el calcio de sus depósitos y la vasoconstricción. (Mckenzie, 1998)

La capa mas interna es el área submembranosa, unida a las porciones transmembranosas de algunas glicoproteínas y contiene filamentos que forman parte del citoesqueleto rico en filamentos de actina y miosina (Trombostetina), es la zona donde se transforman las señales recibidas en la superficie exterior en mensajes químicos y alteraciones físicas que activaran a la plaqueta.

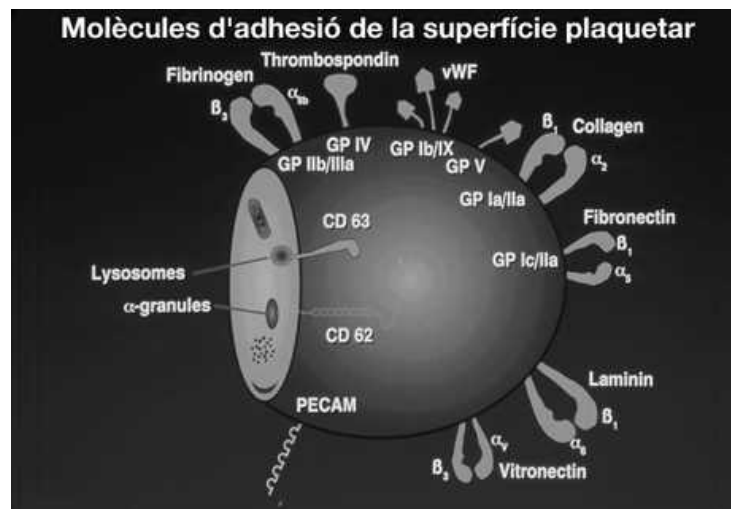


Figura.- 1 Zona periférica

6.2.2.1.2. ZONA SOL GEL O CITOESQUELETO PLAQUETARIO

La actina y la miosina son los componentes más importantes del citoesqueleto plaquetario. La actina tras polimerizar, participa en los fenómenos de cambio de forma, la asociación de la actina polimerizada con la miosina es capaz de generar una fuerza expresada en extensión o contracción. (Mckenzie, 1998)

Un tercer componente del citoesqueleto son los microtúbulos, cuya proteína principal es la tubulina. Los microtúbulos intervienen en el mantenimiento de la forma discoide de las plaquetas no estimuladas favoreciendo a los movimientos generados por la actina-miosina. La apariencia redondeada de las plaquetas expuesta al acidoetilendiaminotetracético (EDTA) es el resultado de la inhibición de las contracciones de miosina. (Rodak, 2010)

6.2.2.1.3. ZONA DE ORGANELOS

El interior de las plaquetas contiene a las mitocondrias, partículas de glicógeno y tres tipos de gránulos citoplasmáticos:

A. Gránulos densos

Los gránulos densos suelen distinguirse fácilmente de los gránulos alfa al microscopio electrónico, por su mayor densidad, debido a la elevada concentración de calcio y fósforo. Durante la activación son los primeros en liberarse luego de la adherencia de la plaqueta al tejido sub endotelial o a la trombina cada plaqueta puede tener hasta 10 gránulos densos. (Rodak, 2010)

Estos gránulos densos plaquetarios, contienen nucleótidos de adenina (ADP, ATP), serotonina o 5-hidroxitriptamina el calcio y fósforo, que son también liberados al medio extracelular durante la activación plaquetaria

B. Gránulos alfa

Una plaqueta puede tener hasta 100 gránulos alfa que se liberan a continuación de los gránulos densos. La secreción de los gránulos alfa, produce la liberación de sustancias, que se pueden dividir en: factores mitógenos, proteínas plaquetarias específicas, factores de coagulación, proteínas adhesivas, factores de permeabilidad vascular, inhibidores proteolíticos y factores fibrinolíticos.(Mckenzie, 1998)

Los gránulos alfa también liberan un factor de crecimiento plaquetario (PDGF) que favorece la proliferación de células endoteliales, células del músculo liso y fibroblastos en procesos de inflamación y reparación y por tal razón ha hecho que se postulara su papel en la patogénesis de la aterosclerosis, estimulando la proliferación del músculo liso.(Rodak, 2010) Entre las proteínas específicas de las plaquetas, las más estudiadas son el factor plaquetario 4 (PF4), el PF4 de baja afinidad (LA-PF4) y la Beta- Trombomodulina, todas con actividad antiheparina.(Bever, 1983)

C. Lisosomas

La estimulación fuerte de las plaquetas, por ejemplo con altas dosis de trombina produce la liberación de lisosomas plaquetarios. Estos gránulos contienen actividades hidrolíticas y proteolíticas. Contrariamente al contenido de los gránulos alfa y densos de las plaquetas, que se liberan con inductores fuertes, la liberación del contenido de los lisosomas, es parcial en plaquetas estimuladas máximamente. Otros componentes proteicos importantes desde el punto de vista funcional de la plaqueta,

son las proteínas que ligan nucleótidos de guanina o proteína G y diversas enzimas: fosfolipasas, quinasas, etc. (Mckenzie, 1998)

6.2.2.1.4. SISTEMA MEMBRANOSO

Se encuentra formado por dos sistemas: *El sistema Canalicular Abierto*, conectado a la superficie el cual es una serie complicada de conductos que comienza con indentaciones de la membrana plasmática y recorre el interior de la plaqueta, éste es continuo con el exterior de la plaqueta. Dentro de sus funciones proporciona un mecanismo de entrada de elementos externos al interior de la plaqueta y también es una vía de para la liberación del contenido de sus gránulos, es un lugar de almacenamiento para las glicoproteínas de la membrana plasmática.

El *Sistema Tubular Denso*, es una red de canales cerrados del retículo endoplásmico residual caracterizada por actividad peroxidasa. Este sistema se ha comparado con el retículo sarcoplásmico del músculo debido a que puede secuestrar calcio iónico y liberarlo cuando la plaqueta es activada. (Beutler, 2005).

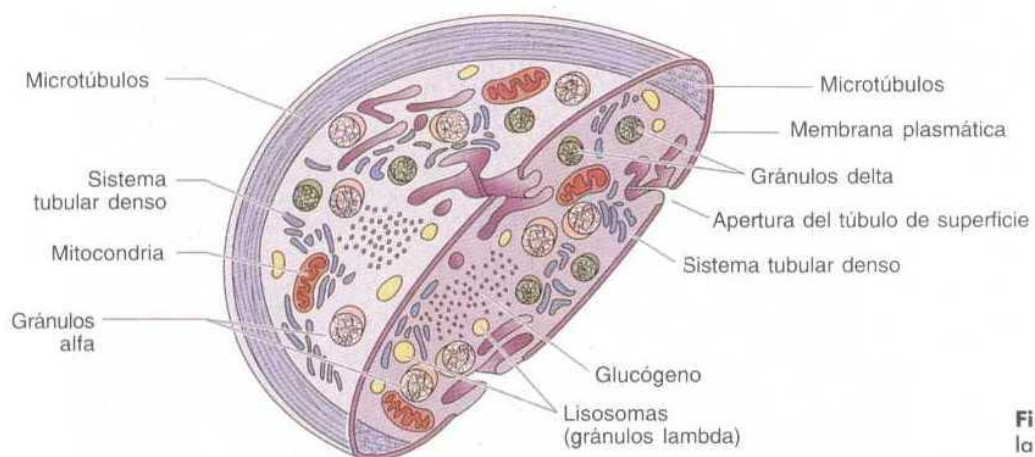


Figura 10-10. Esquema de la ultraestructura de una plaqueta.

Figura.- 2 Ultra estructura de una plaqueta (Rodak, 2010)

6.2.2.2. FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS

Las plaquetas poseen principalmente cinco funciones importantes:

- 1) Formación del trombo hemostático por adhesión agregación y liberación de sus gránulos.
- 2) Función procoagulante derivado de sus fosfolípidos o FIII
- 3) Contracción vascular por transporte y liberación de serotonina y otras aminas presoras.
- 4) Retracción del coagulo mediante la acción de la trombostetina
- 5) Función fagocítica de partículas y bacterias.

De tal manera que las plaquetas preservan la integridad y continuidad de los vasos sanguíneos rellenando pequeños orificios cuando se separan las células endoteliales, las plaquetas reaccionan formando un agregado conocido como tapón hemostático primario.

6.2.2.3. REACTIVIDAD PLAQUETARIA

En condiciones normales, el interior de los vasos sanguíneos está cubierto con una monocapa continua de células endoteliales que es la principal responsable del mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos y de la reología sanguínea. Si se produce una solución de continuidad en el endotelio, con exposición del colágeno subendotelial, se inician los procesos de hemostasia primaria, con la interacción entre la plaqueta y la superficie vascular dañada. (Mckenzie, 1998) Esta interacción plaqueta-endotelio juega un papel crítico en el desarrollo de los procesos trombóticos. (Marcus, 1993)

Las plaquetas se activan en una secuencia específica:

A. Adhesión

La adhesión de las plaquetas al vaso constituye la primera etapa en la hemostasia primaria. Las plaquetas tienen la capacidad para adherirse a varios componentes subendoteliales, como al factor de von Willebrand a través del complejo glicoproteico Ib/IX, el colágeno mediante la interacción de las glicoproteínas IV y el complejo GP Ia/IIa, la trombospondina, la Fibronectina o la Laminina y en estos procesos de adhesión participan también varios receptores de la membrana plasmática. (Boffinge, 1989). De todas estas sustancias al factor de von Willebrand y al colágeno se les atribuye el papel más importante en los procesos adhesivos.

Otro complejo lipoproteico, el IIb/IIIa que se expone en la superficie de las plaquetas activadas, podría participar también en el proceso adhesivo, por su capacidad para interactuar con varias proteínas adhesivas y con el colágeno. (Kessler, 1984)

B. Activación

Las plaquetas cambian de forma discoidea a espicular con proyecciones dendríticas estos pseudópodos aumentan la posibilidad de contacto entre plaqueta y plaqueta para que se adhieran entre sí

Sintetizan receptores de superficie y cambio en la orientación de los fosfolípidos de membrana; actuando como receptores para diversos estímulos conocidos como inductores o agonista, como receptores para la trombina, colágeno, ADP y adrenalina. Cuando se adhieren a sus respectivos receptores los mensajes se transmiten al interior de la plaqueta incrementando principalmente la concentración del calcio que inhibe la adenilciclase y disminuye el AMPc plaquetario

incrementando mas calcio iónico lo que estimula al cambio en su forma, agregación, separación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana, secreción de los gránulos alfa y densos.. (Mckenzie, 1998)

C. Agregación primaria

La agregación plaquetaria, es un fenómeno que se inicia con la interacción entre un inductor y un receptor específico en la membrana de la plaqueta, esto conduce a una serie de cambios morfológicos y bioquímicos rápidos, que tendrán como consecuencia la formación de un agregado de plaquetas activadas, unidas entre sí bioquímicamente.

Para que la agregación plaquetaria tenga lugar es necesario que el inductor exponga el receptor del fibrinógeno en la plaqueta que es el complejo glicoproteicoIIb/IIIa, y que esta proteína se una al mismo en presencia de concentraciones micro moles de calcio formando puentes de unión plaqueta. (Leung, 1986)

El proceso de agregación es la respuesta plaquetaria más estudiada en los últimos 30 años desde que Born describió la técnica conocida como agregometría óptica, ampliamente usada para estudios funcionales, bioquímicos y farmacológicos relacionados a la hemostasia y la trombosis. (García, 2000)

Seguidamente se produce el reclutamiento plaquetario que es una etapa también importante en la secuencia de formación del trombo. En esta etapa las plaquetas activadas por un inductor primario, por ejemplo el colágeno subendotelial, liberan productos granulares o compuestos metabólicos que interaccionan con otras plaquetas y células del entorno favoreciendo el crecimiento del trombo

6.3.HEMOSTASIA SECUNDARIA

En el capítulo anterior se describe la formación del tapón plaquetario que proporciona una hemostasia inicial en respuesta a la lesión de un vaso sanguíneo, posterior a este tapón plaquetario se forma un coágulo de fibrina que permite una hemostasia más duradera.

La coagulación es una modificación del estado físico de la sangre que consiste en el paso de un estado líquido a un estado de gel debido a una modificación de una proteína plasmática soluble, fibrinógeno, a una red de fibrina insoluble encerrando en sus mallas elementos formes de la sangre reforzando al trombo plaquetario para detener en forma definitiva la hemorragia. (Vives, 1982)

6.3.1. COAGULACIÓN PLASMÁTICA

La secuencia de los mecanismos que terminan en la formación de fibrina puede producirse a través de dos vías:

La *Vía Intrínseca*, todos los componentes de esta vía circulan en el torrente sanguíneo es iniciada con la exposición de los factores de contacto a las estructuras vasculares subendoteliales como el colágeno y membrana basal. Estos factores de contacto son XII, XI, pre calicreina y cininógeno de peso molecular elevado (HMWK). Cuando se exponen a superficies de carga negativa estos factores se unen a ellos, los iones calcio no son necesarios para esta unión. Estos factores también pueden adsorberse in vitro a superficies de carga negativa como el vidrio, caolín, ceolita, acidoelágico y patológicamente a lipopolisacáridos de las bacterias. (Mckenzie, 1998)

Los primeros factores adsorbidos al vaso dañado son el XII y la precalicreina que se activan de forma recíproca, La unión de los grupos con carga positiva del factor XII a los grupos de carga negativa del subendotelio dañado divide por proteólisis a la precalicreina para formar la calicreina que está unida al factor HMWK como cofactor activando en forma proteolítica y dividiendo al factor XII que está unido a la superficie subendotelial liberando el XIIa. Este factor XIIa activa al factor XI en XIa cuyo sustrato es el factor IX activándose a IXa en presencia de iones calcio el cual en presencia de el fosfolípido plaquetario es capaz de activar el factor X y transformarlo en factor Xa reacción favorecida por el factor VIII ingresando a la vía común. (Mckenzie, 1998)

La Vía Extrínseca, la activación de esta vía comprende al factor VII y a un cofactor la tromboplastina tisular, factor III o factor tisular. Esta vía adquiere su nombre por el hecho que la activación requiere un factor que en un principio se pensó que solo existía fuera de la sangre.

El Factor VIIa y el factor tisular forman un complejo que se une a la superficie fosfolipídica por puentes de calcio, la conversión del factor VII en VIIa se produce gracias al factor Xa principalmente, la actividad del factor VIIa requiere como cofactor al factor tisular que deriva de la tromboplastina de los tejidos, este factor no circula normalmente en la sangre, excepto dentro de los monocitos, pero se une a las membranas subendoteliales se libera y se hace accesible cuando el vaso se lesiona. (Mckenzie, 1998; Vives, 1982)

El factor VII se distribuye en numerosos tejidos especialmente en el cerebro pulmón y placenta, lesiones muy extensas pueden producir activación patológica de la vía extrínseca cuando grandes cantidades de factor tisular ingresa a la circulación.

6.4. CONTROL DE LA HEMOSTASIA

Los mecanismos fisiológicos para el control de la hemostasia son:

6.4.1. CIRCULACIÓN SANGUÍNEA

El flujo de la sangre limita la coagulación al diluir los factores de la coagulación activados. Si bien en una primera etapa la vasoconstricción reduce el flujo sanguíneo para la formación del coagulo esto no es permanente ya que posteriormente se produce una vasodilatación y la fuerza de la presión sanguínea en algunos lugares disuelve los coágulos formados.(Mckenzie, 1998)

6.4.2. DEPURACIÓN HEPÁTICA

Los hepatocitos retiran los factores activados cuando pasan por el hígado, de tal manera que enfermedades hepáticas pueden conducir a estados fibrinolíticos o de trombosis.

6.4.3. INHIBICIÓN POR RETROALIMENTACIÓN

Algunos factores activados tienden a destruir a otros de la cascada de la coagulación por ejemplo la trombina activa temporalmente al factor V y VIII pero cuando su concentración aumenta destruye a estos mismos factores, vale decir que los factores limitan su propia producción.(Mckenzie, 1998)

6.4.4. INHIBIDORES BIOQUÍMICOS

Son proteínas plasmáticas solubles que regulan las reacciones de las proteínas de la cascada estas son:

A. Antitrombina III, se produce en el hígado, células endoteliales y megacariocitos es el inhibidor más importante de la coagulación actúa formando un complejo estequiométrico relación uno a uno con la trombina provocando la pérdida de su actividad.

La heparina actúa como un cofactor de la antitrombina III acelerando la formación de dicho complejo, luego del proceso de la inhibición la heparina queda libre para iniciar un nuevo ciclo.

B. Macroglobulina alfa 2, forma complejos con las proteasas incluso la trombina plasmática, calicreina tiene un mecanismo de acción de depuración de las serinoproteasas más que de inhibición

C. Antitripsina alfa, inactiva a cierto número de proteasas, su acción es más importante a nivel tisular

D. Inactivador CI, Actúa como inhibidor de los factores de contacto en la vía intrínseca

E. Proteína C y Proteína S, Son cofactores de la vitamina K inhibe las funciones de los factores Va y VIIIa. La proteína S favorece la fijación de la proteína C a la superficie de la plaqueta y células endoteliales. (Mckenzie, 1998)

6.4.5. SISTEMA FIBRINOLÍTICO

Se activa en respuesta al inicio de la cascada es producida por una proteína llamada Plasmina que digiere la fibrina o el fibrinógeno y a otros factores produciendo los llamados PDF (productos de degradación de fibrina) que perturban la formación de fibrina catalizada por la trombina.

Deriva del plasminógeno que se sintetiza en el hígado la Plasmina puede digerir los factores V y VIII la fibrina y el fibrinógeno. Los activadores del plasminógeno pueden ser:

- **Intrínsecos,** que circulan en la sangre como el factor XIIa que activa a la calicreina
- **Extrínsecos,** un activador tisular que tiene actividad por la fibrina y factor Xa, tienden a liberarlo la trombina factor activante de las plaquetas, la bradicina, proteína C.
- **Activadores exógenos** como la Urocinasa y la estreptosinasa producida por los estreptococos beta hemolíticos. (Mckenzie, 1998);(Vives, 1982)

6.5. TROMBOSIS

Se denomina trombosis a la presencia intravascular de material fibrino plaquetario con variable contenido de elementos formes de la sangre. (Allant, 1993; Coller, 1992)

El trombo puede ser el resultado de la respuesta fisiológica a la injuria producida en la pared del vaso (trombo hemostático) o ser la consecuencia de una activación patológica e inapropiada del sistema de coagulación. (Farreras, 1988)

Los trombos pueden formarse en cualquier localización del sistema cardiovascular, incluyendo las venas arterias, el corazón y la micro circulación. (Jimenez, 2002)

El trombo patológico puede ser por su tamaño totalmente oclusivo, cerrando por completo la luz del vaso o estar ocluyendo parcialmente sobre una de las paredes del vaso (trombo mural), éste por la presencia de trombina asociada a la fibrina puede crecer en forma intraluminal o propagarse en sentido de la corriente sanguínea, participando además del reclutamiento de varias células nuevas en el proceso de reparación tisular que puede conllevar a la oclusión total del vaso. (Fernández, 1999)

Las complicaciones de la trombosis están ocasionadas por los efectos de la obstrucción del paso por embolización a distancia de material trombótico y con menor frecuencia por consumo de factores hemostáticos. Normalmente los trombos venosos aparecen en las extremidades inferiores y con frecuencia son silentes, pero pueden producir síntomas agudos si causan inflamación de la pared venosa, obstrucción al flujo o si embolizan en la circulación pulmonar, tardíamente se producen lesiones en las válvulas venosas de las extremidades inferiores. (Jiménez, 2002; Marcus, 1993)

La trombosis arterial normalmente se asocia a patología vascular previa, fundamentalmente la aterosclerosis. Produce manifestaciones clínicas causadas por la isquemia tisular, por obstrucción o por embolización en la micro circulación distal. Los trombos intracardiacos se forman sobre las válvulas lesionadas o inflamadas, en el endocardio adyacente a una zona de infarto de miocardio, en una cavidad cardiaca dilatada o en válvulas protésicas o dispositivos endovasculares suelen ser sintomáticos si permanecen en el corazón pero pueden causar importantes y desastrosas complicaciones si embolizan en la circulación sistémica. (Marcus, 1993)

6.5.1. PATOGENIA DE LA TROMBOSIS

En 1856 Virchow plantea su tríada en la formación del trombo, hipótesis que actualmente se la sigue manteniendo la que indica que la aparición de un trombo se produce por la alteración de los siguientes factores:

- Alteraciones a nivel de la pared de los vasos
- Modificaciones en el flujo sanguíneo
- Constituyentes sanguíneos

6.5.1.1. PARED DEL VASO

El endotelio normal actúa como una barrera y además tienen propiedades antitrombóticas y no activa ni a las plaquetas ni los factores de la coagulación.

Además el endotelio contiene y elabora componentes que neutralizan los factores de la coagulación activados como los glicosaminoglicanos de su superficie y la Trombomodulina; la generación endotelial de prostaciclina, óxido nítrico y activadores de la fibrinólisis inhiben la agregación de las plaquetas y a la adhesión

además de proporcionar una superficie para la activación de la fibrinólisis, estas propiedades se pierden o modifican cuando el endotelio es estimulado o lesionado.(Cinnes, 1987)

La trombina generada se une a la Trombomodulina y pierde su actividad procoagulante, de activar a los factores V, VIII, XIII y fibrinógeno, el complejo formado activa a la proteína C, cuya principal misión es inactivar los factores VIIa y Va, bloqueando la generación de Xa y IIa.(Esmont1996)

La trombina también se une al Heparan-sulfato de la superficie endotelial, que incrementa la eficiencia de la antitrombina en la neutralización de la trombina.

La pérdida endotelial puede aparecer de maneras sutiles en lesiones por inmunocomplejos, anoxia, infecciones víricas, bacterianas, situaciones de compromiso hemodinámico, tóxicos, sustancias procedentes del tabaco, niveles elevados de colesterol, o enzimas liberados de las plaquetas y leucocitos en estados inflamatorios.(Cinnes, 1987) (Cinnes, 1998)

6.5.1.2. ALTERACIONES EN EL FLUJO SANGUÍNEO

Determina el tamaño la localización y la estructura del trombo. En los vasos normales el flujo sanguíneo sigue un patrón laminar, con los glóbulos rojos que tienden a localizarse en el centro de la luz y las plaquetas en la zona mas periférica, y factores de la coagulación. En las bifurcaciones de los vasos y en las zonas en las que las paredes están alteradas principalmente con placas ateromatosas, se producen flujos turbulentos que favorecen la deposición de las plaquetas contribuyendo a las trombosis arteriales

La éstasis por el contrario contribuye a la génesis de la trombosis venosa principalmente a nivel de los miembros inferiores a nivel del fondo de los sacos de válvulas venosas.(Marcus, 1993)

6.5.1.3. CONSTITUYENTES SANGUÍNEOS

Su función aun no es del todo clara pero se sabe que puedan llegar a influir en la activación plaquetaria, de la coagulación o inhibición de la fibrinólisis.

6.5.2. TIPOS DE TROMBOSIS

6.5.2.1 TROMBOSIS VENOSA

Su aparición es condicionada por la estasis circulatoria que predispone su aparición es más frecuente en el área de las extremidades inferiores, sobre todo a nivel del fondo de las válvulas venosas. (Allant, 1993)

Juega un papel muy importante la coagulación sanguínea y se consideran cuatro estadios en el desarrollo de trombosis venosa:

- Estasis en el territorio o sistema valvular con el depósito de hematíes, plaquetas y leucocitos
- Generación de trombina que induce la agregación de las plaquetas y formación de fibrina con aparición de un nido de plaquetas y fibrina.
- Depósito de capas secundarias de plaquetas y fibrina sobre el nido primario.
- Cuando el crecimiento es suficientemente grande se produce el bloqueo del flujo venoso por oclusión de la luz venosa. (Allant,1993)

Este tipo de trombos están formados por hematíes y fibrina denominándose por lo tanto Trombos Rojos. Se ha aceptado como desencadenantes de su desarrollo disminución en la velocidad de flujo sanguíneo como en las inmobilizaciones por yesos, incapacidad motora de origen neurológico, viajes prolongados; cambios en la capacidad de activación del sistema de la coagulación y fibrinólisis. (Martinez, 1996)

Para el diagnóstico de este tipo de trombosis se recurre además de la anamnesis a la ultrasonografía con efecto Doppler, flebografía y tomografía. Dentro de las pruebas de laboratorio se encuentran la demostración de niveles elevados de dímero D. El tratamiento se basa principalmente a la anticoagulación con heparinas de bajo peso molecular y en etapas crónicas con dicumarínicos. (Martínez, 1996)

6.5.2.2 TROMBOSIS ARTERIAL

Los trombos se producen en zonas donde existe un flujo normal de corriente sanguínea y están formados principalmente de agregados plaquetarios y leucocitos denominándose Trombo Blanco. Las alteraciones a nivel vascular son la causa más importante para su formación, la trombogénesis es promovida por la pérdida del endotelio que puede ser causada por el estrés hemodinámico o por productos derivados del tabaco, aumento del colesterol y enzimas liberadas por las plaquetas y los leucocitos; este tipo de trombosis ocurre casi siempre como una complicación de la aterosclerosis. (Coller, 1992)

La trombosis arterial tiene lugar por la ocurrencia de varios factores un endotelio disfuncionante, alteración en el flujo sanguíneo y la activación del sistema de la coagulación sanguínea mediado por exposición del factor tisular, de tal forma que para iniciar la trombosis son necesarias una superficie adecuada donde se ensamble el complejo activador extrínseco del factor X, pudiendo estar formado por membranas de las células apoptóticas de los macrófagos o linfocitos que exponen fosfolípidos; membranas de las plaquetas activadas primero adheridas y luego

agregadas sobre la matriz de la placa que exponen fosfatidilserina o la misma matriz extracelular (Fernandez,1999)

Los factores de riesgo para la trombosis arterial son las hiperlipidemia, hipertensión arterial, tabaquismo mayor a 10 cigarrillos por día, diabetes mellitus, obesidad con mayor al 30 % de sobrepeso.

La demostración de isquemia suele efectuarse mediante tomografía computarizada o resonancia nuclear. El tratamiento se procederá con heparina y posteriormente con anticoagulación oral y 75 Mg de aspirina como prevención de futuros episodios. (Martínez, 1996)

6.5.3. FACTORES DE RIESGO DE TROMBOSIS

Las situaciones de riesgo se pueden considerar similares tanto en territorio venoso como arterial, con la fundamental diferencia que en la trombosis arterial son muy importantes los factores de riesgo de aterotrombóticos, que no afectan al riesgo de trombosis venosa.

De tal manera se distinguen dos grupos de factores de riesgo, los denominados primarios que actualmente se designan con el denominativo de *trombofilia* como la deficiencia de antitrombina III, deficiencia de proteína C y S, deficiencia y anormalidad del plasminógeno, etc. (Arranz, 2002)

Los secundarios que suelen ocurrir asociados a diversas situaciones clínicas en las que existe un riesgo de trombosis en dichas situaciones existen cambios biológicos relacionados con la inflamación y las respuestas inflamatorias de fase aguda que producen un desequilibrio entre los mecanismos antitrombóticos y los protrombóticos. La liberación de factor tisular durante el trauma la cirugía, la liberación de citocinas pro inflamatorias (IL-1 y TNF) durante la infección, las alteraciones vasomotoras en los ictus isquémicos, etc., hacen que se estimulen las reacciones pro coagulantes. El fibrinógeno aumenta en las enfermedades crónicas inflamatorias, neoplasia, el potencial fibrinolítico disminuye por disminución del plasminógeno y de la proteína S. (Vermylen, 1986)

Durante el embarazo también se producen cambios que si bien están encaminados a la protección de la hemorragia post parto, es un buen terreno para la producción de trombosis, existiendo un incremento del factor VIII, fibrinógeno, de la resistencia a la proteína C activada y una disminución de la proteína S, además tomar muy en cuenta que la placenta es rica en factor tisular, factor XIII. (Arranz, 2002)

Dentro de estas situaciones podemos mencionar a las siguientes:

- Neoplasias
- Embarazo y puerperio
- Anticonceptivos orales
- Diabetes mellitus
- Trombocitopenia inducida por la heparina
- Prótesis vasculares y valvulares artificiales
- Vasculitis
- Inmovilización
- Infecciones

- Estados inflamatorios
- Enfermedades crónicas
- Cirugía ortopédica, general, ginecológica, urológica. Oncológica.
- Obesidad

6.6. MEDICACIÓN ANTIAGREGANTE

Las plaquetas establecen el tapón hemostático inicial en sitios de lesión vascular, también participan en reacciones que culminan en aterosclerosis y trombosis patológicas, para ello se han utilizado antagonistas de la función plaquetaria con la finalidad de prevenir la trombosis y alterar la evolución natural de la vasculopatía aterosclerótica. (Goodman, 1996)

Este tipo de medicación puede ser por:

- Inhibidores del ácido Araquidónico
- Inhibidores de la vía del Tromboxano TXA₂
- Fármacos que actúan a nivel de la membrana
- Fármacos que aumentan el AMP cíclico

6.6.1. INHIBIDORES DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

Los procesos que incluyen trombosis, inflamación, cicatrización y alergia están regulados por metabolitos oxigenados del araquidonato y ácidos grasos poliinsaturados relacionados, que en conjunto se denominan **eicosanoides**. La inhibición de la síntesis de estos metabolitos es la base de los efectos de muchos fármacos terapéuticos entre ellos analgésicos, anti inflamatorios y antitrombóticos.(Goodman, 1996)

6.6.2. INHIBIDORES DE LA VIA DEL TROMBOXANO

6.2.2.1 ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO (ASA)

En las plaquetas, el principal producto de la ciclooxigenasa es el tromboxano A₂ inductor de la agregación plaquetaria y potente vasoconstrictor.

La aspirina actúa inhibiendo la reacción de liberación plaquetaria a través del bloqueo de la síntesis del TXA₂, mediante la acetilación irreversible la ciclooxigenasa plaquetaria, enzima que produce el precursor endoperoxido cíclico del tromboxano A₂.

El objetivo de evitar la reacción de liberación es dificultar la formación del trombo y el paso al plasma de sustancias contenidas en los gránulos plaquetarios, como el factor de crecimiento derivado de la plaqueta, todo lo cual contribuiría a reducir la progresión y complicaciones del proceso aterogénico.

Debido a que las plaquetas no sintetizan proteínas el efecto de la aspirinas es permanente de tal manera que dosis repetidas tienen un efecto acumulativo en al función plaquetaria.

Sus principales efectos secundarios son las gastralgias y hemorragias digestivas. Dado que cualquier dosis a partir de 75 mg/día parece capaz de inhibir la ciclooxigenasa plaquetaria y que los efectos gástricos son menos frecuentes cuanto menor es la dosis, los estudios recientes han empleado dosis bajas, entre 75 y 300 mg/día, con éxito.(Goodman, 1996)

Otros inhibidores de la vía del TXA₂son el triflusal, la sulfinpirazona, los ácidos grasos omega-3, los inhibidores de la tromboxanosintetasa y los bloqueadores del

receptor del tromboxano. Estos productos poseen un respaldo bibliográfico mucho menor que el del AAS o se hallan en fase experimental

6.6.3. FÁRMACOS QUE ACTÚAN EN LA MEMBRANA

6.6.3.1 TICLOPIDINA Y CLOPIDOGREL

La ticlopidina es un derivado de la tienopiridina que bloquea de forma irreversible el receptor para el ADP (P_2Y_2) y da lugar a respuestas agregantes débiles y reversibles frente a éste.

Ha demostrado una eficacia igual o algo superior que la de la aspirina en la prevención secundaria del ictus isquémico no cardiogénico y del infarto de miocardio, así como de la mortalidad en la angina inestable. Asociada a la aspirina se ha mostrado muy eficaz en la prevención de oclusión coronaria tras la implantación de prótesis metálica (*stent*). Se administra a dosis de 500 mg/día y la principal limitación para su uso son sus efectos secundarios, como diarrea, erupciones cutáneas, plaquetopenia y, especialmente, neutropenias graves (0,9% de casos).

El clopidogrel es otro derivado de la tienopiridina que a dosis de 75 mg/día ha mostrado recientemente ser tan eficaz como la aspirina en la prevención secundaria del infarto de miocardio, ictus isquémico o muerte de causa vascular. Su principal ventaja es no presentar una incidencia de efectos secundarios superior a la de la aspirina. (Goodman, 1996). El Clopidogrel para ser activo debe transformarse en su metabolito activo, para este proceso es mediado por la enzima hepática citocromo p450 (CYP 3A4). El efecto antitrombótico del Clopidogrel se debe a la unión irreversible de dicho metabolito activo al receptor de ADP (P_2Y_{12}) de la superficie plaquetaria. (Gimero, 2010).

6.7. EVENTOS Y RIESGOS CARDIOVASCULARES

Las enfermedades cardiovasculares se constituyen hoy en día la primera causa de muerte, siendo las más representativas la cardiopatía isquémica y el infarto agudo al miocardio; en los últimos años la incidencia de patologías como dislipidemias, hipertensión arterial y enfermedades coronarias ha ido en aumento.

Los eventos cardiovasculares más importantes son el infarto agudo al miocardio, accidente cerebro vascular, vasculopatía periférica (trombosis Arterial), aneurisma de la aorta y cardiopatías isquémicas. (Ferradis, 2006; Dario, 2003)

Un factor de riesgo es un elemento involucrado en la fisiopatología de la enfermedad y que tiene una relación causal con dicha enfermedad.

Un marcador de riesgo es algo que no tiene relación causal con la fisiopatología de la enfermedad pero sí está asociado a un factor que si la tiene, es un indicador indirecto de la actividad inflamatoria de la placa. Los factores de riesgo son predictores ya que su presencia está fuertemente relacionadas con la aparición de daño vascular.(Dario, 2003; Arbelaez, 2003)

Existen factores propios a cada individuo que no se pueden intervenir como la edad, sexo y el perfil genético. Pero también existen los factores ambientales que pueden ser objeto de intervención y control como son la obesidad, sedentarismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, valores elevados de colesterol y síndrome metabólico. Estos factores se caracterizan porque el individuo los puede modificar y si son controlados pueden disminuir el riesgo de presentar una enfermedad cardiovascular.

Estos factores de riesgo cardiovascular constituyen un vínculo para el endotelio vascular. Así las partículas de LDL, modificadas por oxidación, glucosilación o unión a anticuerpos son capaces de generar disfunción endotelial y activar varias respuestas que favorecen la migración de células inflamatorias al espacio subintimal.(Dario, 2003)

La hiperglicemia, incrementa la generación de radicales libres de oxígeno, que también son nocivos para el endotelio, y genera procesos de glucosilación no enzimática que conducen a alteraciones en la expresión de proteínas de adhesión por parte del endotelio.

El tabaquismo es otro de los factores más significativos, introduce en la circulación decenas de moléculas tóxicas para el endotelio, ocasionando disminución de la síntesis y actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa, menor producción de óxido nítrico y aumento en el tono vasoconstrictor, además de numerosas alteraciones en el patrón de moléculas de adhesión celular en el endotelio.

La hipertensión arterial incrementa el trabajo a que se expone el corazón y también aumenta el riesgo de accidente vascular encefálico, ataque cardíaco o fallo renal. Cuando además se acompaña a la obesidad, tabaquismo, hipercolesterolemia y diabetes el riesgo es mucho mayor. Se acompaña habitualmente de mayores niveles de angiotensina II que tiene actividad mitógena sobre las células musculares lisas generando engrosamiento arterial y mayor síntesis de matriz extracelular en la placa.(Arbelaez, 2003)

Estos son los denominados factores mayores cuyos parámetros son: (Arbelaez, 2003)

- Tabaquismo cualquier número de cigarrillos en el último mes
- Hipertensión arterial mayores o iguales a 140/90 mmHg o estar en tratamiento hipertensivo
- Historia familiar de enfermedad coronaria prematura
- Edad hombres mayores de 45 años y mujeres mayores de 55 años
- HDL menor de 40 mg/dl.

6.7.1. GRUPOS DE RIESGO CARDIOVASCULARES.

Según el último reporte de la National Cholesterol Education Program (NCEP) sobre la detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos ATP III (Adult Treatment Panel III) en mayo del 2001, establece a los pacientes en uno de los 4 grandes grupos de riesgo con base en el riesgo, en los próximos diez años a desarrollar un evento cardiovascular, según las tablas de Framingham (Anexo 2) la determinación incluye la presencia o no de enfermedad coronaria o de otros equivalentes y de los factores de riesgo que se han denominado: Riesgos Mayores. (Arbelaez, 2003)

6.7.1.1. MAYOR RIESGO

Son las personas que tienen 20 % o más de probabilidad de sufrir un evento coronario en los siguientes 10 años. Esta categoría incluye a pacientes con eventos cardiovasculares establecidos o pacientes con un equivalente coronario, también a pacientes con múltiples factores de riesgo que suman más de 20%. (Arbelaez, 2003)

6.7.1. 2. RIESGO INTERMEDIO

Personas que tienen entre un 10 a 20 % de probabilidad de sufrir un evento coronario en los siguientes 10 años, esta categoría incluye a pacientes con dos factores de riesgo que según las tablas de Framingham suman un riesgo menor del 20 % a 10 años.(Arbelaez, 2003)

6.7.1.3. RIESGO BAJO

Personas con menos del 10 % de probabilidad de sufrir un evento coronario en los siguientes diez años en esta categoría se incluyen a pacientes sin factores de riesgo o como máximo un factor de riesgo y no requiere hacer el puntaje de riesgo Framingham. Sin embargo si el paciente presenta un LDL muy elevado se puede requerir de intervención farmacológica para evitar riesgo a largo plazo. (Arbelaez, 2003)

LA ATP III demarca también la importancia actual al Síndrome metabólico ya que los pacientes con este síndrome aumentan su riesgo coronario a cualquier nivel de LDL y se caracterizan por tener por lo menos tres de las siguientes condiciones, todas relacionadas con grados de resistencia a la insulina:

- Circunferencia de la cintura a nivel de la cresta iliaca, mayor a 102 cm en hombres y mayor a 88 cm en mujeres

- Dislipidemia aterogénica con HDL menor a 40 mg/dl en hombres y de 50 mg/dl en mujeres, triglicéridos mayores a 150 mg/dl, y lipoproteínas de LDL pequeñas y densas.
- Tensión arterial sistólica mayor a 135 mmHg y diastólica mayor de 85 mmHg
- Glicemia en ayunas entre 110 – 125 mg/dl

El síndrome metabólico se constituye en el segundo blanco de tratamiento y su manejo se basa principalmente en la modificación de los hábitos principalmente con el ejercicio, dieta y reducción de peso. (Jaúregui, 1999; Prat, 2003)

6.7.2. PREVENCIÓN PRIMARIA Y SECUNDARIA

En la prevención primaria el objetivo es reducir el riesgo a largo plazo (> 10 años), así como el riesgo a corto plazo (10 años). Los objetivos sobre las LDLs en la prevención primaria dependen del riesgo absoluto de una persona para la enfermedad coronaria (es decir la probabilidad de padecer un evento coronario a corto o largo plazo) siendo los valores a conseguir tanto más bajos cuanto mayor es el riesgo. La prevención primaria está fundada en sobre los cambios terapéuticos en el estilo de vida. Sin embargo, en algunas personas con alto riesgo debido a unos valores altos o muy altos de las LDLs o porque tengan múltiples factores de riesgo son candidatas a un tratamiento con fármacos reductores de las LDLs. (Jaúregui, 1999)

La prevención secundaria se la realiza en personas con enfermedad coronaria establecida o con otra condición de riesgo equivalente, el objetivo es alcanzar unos valores de las LDLs de <100 mg/dl. El tratamiento con hipolipemiantes demuestran que su uso apropiado logra una reducción de la mortalidad a corto y largo plazo. (Jaúregui, 1999)

6.8. TECNICAS ANALITICAS PARA LA DETERMINACION DE AGREGADOS PLAQUETARIOS EN SANGRE.

La presencia de microagregados plaquetarios se han detectado en situaciones donde existe hiperactividad plaquetaria su presencia puede ser demostrada a través de varias técnicas que emplean filtros de sangre, detección por ultrasonido, medición de la agregación plaquetaria inducida por agonistas plaquetarios y la fijación de los microagregados durante la venopunción.

6.8.1. FILTROS DE SANGRE

Son filtros para microagregados que poseen un diámetro de poro entre 20-40 u



Figura 5 Filtro para microagregados
SQ40SE BloodTransfusionFilter (PALL Medical)

Esta técnica fue empleada por Roy L. Swank, John G. Roth, Jerold Jansen en 1963, la cual emplea, membranas con un diámetro de poro de 20 u deteniendo partículas agregadas de mayor diámetro, el recuento de plaquetas por defecto se realizó en un contador de células automático, la técnica es sensible a los rasgos

estructurales y de funcionamiento de las plaquetas Pero no se la estandarizado y por lo tanto los resultados en laboratorio son inciertos.

6.8.2. DETECCION POR ULTRASONIDO

Los ultrasonidos son ondas mecánicas del mismo tipo que las del sonido, pero con frecuencias superiores a los 16000 hercios (Hz), por lo que son inaudibles al oído humano.

Las ondas mecánicas se propagan por un medio determinado, aprovechando sus características elásticas, y son capaces de transmitir energía de un punto a otro a través del medio, las partículas de este medio oscilan transmitiendo esta vibración a la partícula inmediata, estas vibraciones dan lugar a variaciones de presión en cada punto, que se transmiten acompañando a la propagación del movimiento de las partículas en forma de ondas de presión.

Por lo tanto los ultrasonidos son ondas mecánicas que desde un foco emisor e propagan por las partículas de un medio, como un movimiento ondulatorio y a una velocidad determinada

Desde la primera propuesta en 1965 por Austen y Howry, en el empleo de ultrasonido para la detección de partículas en la sangre se han descrito tres maneras de emplear el ultrasonido el primero es el Pulsar-eco pero fue un método pobre para la determinación de material adherido en las paredes del vaso. En el método Doppler tiene más exactitud para la determinación de placas ateromatosas pero no es muy sensible para la determinación de microagregados circulantes o micropartículas.

6.8.3. MÉTODOS ÓPTICOS AGREGOMETRIA PLAQUETARIA

La agregometría plaquetaria es una técnica utilizada para estudiar la cinética de la agregación de las plaquetas por métodos de turbidimetría (medición de turbidez o densidad óptica).

Mide el tiempo real la agregación de las plaquetas en un plasma rico en plaquetas mediante el aclaramiento óptico. En el transcurso de este proceso la luz pasa a través de la cubeta conteniendo el plasma rico en plaquetas y se captura por el detector o fotocelda en el lado opuesto conforme las plaquetas se agregan en respuesta al agonista usado, el plasma rico en plaquetas se aclara y se transmite mayor cantidad de luz esta transmisión de luz se mide en tiempo real y se grafica el porcentaje del aclaramiento de la muestra. La transmisión de luz es directamente proporcional a la agregación plaquetaria. Los agonistas más empleados son el ácido araquidónico, colágeno, adrenalina, ADP y proteína activadora del receptor de la trombina. (Córdova, 2011)

Con este método actualmente puede medirse la resistencia a cualquier antiagregante, la correlación con los eventos clínicos es buena y se considera la técnica estándar Gold. (Gimeno, 2010).

6.8.4 CITOMETRIA DE FLUJO

La citometria de flujo comenzó a desarrollarse en la década de los 60 exclusivamente para el recuento y medida del tamaño de las partículas. Su aplicación para el estudio de las plaquetas se realizó a finales de la década de los ochenta gracias a los estudios de Shattil y col, que la adaptaron para el estudio de sangre total.

Se fundamenta en que a cada célula a ser estudiada se acopla un fluorocromo a través de un anticuerpo monoclonal, luego estas células son suspendidas en el centro de un flujo de líquido isotónico impulsado a gran velocidad por un orificio estrecho que al pasar por un laser se produce una señal además el fluorocromo cambia de longitud de onda y es registrado por un detector. (Salgado, 2002)

Esta técnica es susceptible a activaciones espurias, requiere además de la preparación de la muestra y de personal altamente capacitado.

6.8.5. FIJACION DE LOS MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS O RATIO DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA

EN 1974 Kenneth HU y John Hoak elaboran una técnica para la determinación de microagregados plaquetarios circulantes en sangre venosa empleando solución formalina-éter para fijarlos empleando EDTA como anticoagulante, y otra solución solo con EDTA para un recuento absoluto de plaquetas. La relación de plaquetas contadas de ambas muestras se expresan en un cociente cuyos rangos de referencia oscilan entre 0.8-1.0 (Wu-Hoak, 1975)

La técnica se basa donde la solución de formol éter fija los agregados plaquetarios mientras que las muestras colectadas solo con EDTA son disueltas, al centrifugar y los agregados por tener mayor peso que las plaquetas no agregadas se eliminan del sobrenadante; de tal manera que el recuento de plaquetas en la solución con formalina será menor que en el que tiene solo EDTA, el resultado se expresa en una relación o un cociente entre ambos, y este será mayor cuanto mayor número de agregados plaquetarios estén presentes en la muestra.

$$\text{Agregados plaquetarios ratio} = \frac{\text{plaquetas contadas (formalina-EDTA PRP)}}{\text{Plaquetas contadas (EDTA PRP)}}$$

6.8.3.1. PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA

Se empleó un torniquete. Se recolectó 1ml de sangre de la vena ante cubital con aguja 19 G en jeringas preparadas que contenían 4 ml de solución tamponada de EDTA-formalina que fijaba los agregados. Y otra jeringuilla con 4 ml de solución tamponada de EDTA.

Las muestra fueron tomadas por triplicado y luego fueron transferidas a tubos de centrifuga para su posterior centrifugación a 22 °C 8 minutos a 220 gravedades para obtener el plasma rico en plaquetas y se llevo al contador de células CLAY ADAN ULTRAFO 100 .

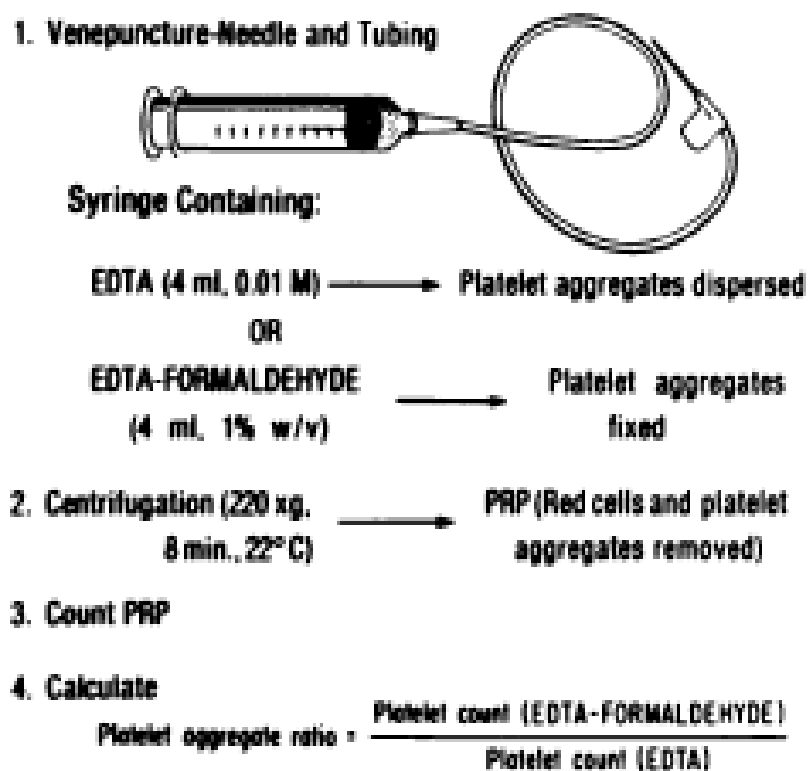


Figura 6 Esquema de la técnica original DE HU-HOAK

6.8.3.2. MODIFICACIÓN DE LA TECNICA ORIGINAL DE HU-HOAK

En 1985 Fred H. Kohanna, Marianne H. Smith, and Edwin W. Salzman modifican la técnica si bien la recolección de sangre es del mismo sitio con aguja 19 G se emplean tubos colectores con 4 ml de EDTA tamponada y EDTA-formalina tamponada eliminando así el error de volumen correcto de muestra. (Kohanna, 1984)

Se validó la técnica in vitro empleando sangre de un individuo normal. La sangre se obtuvo por punción venosa con aguja 19 G colocando a tubos con citrato de sodio (0.013 mol/L) se obtuvo por centrifugación el plasma rico en plaquetas.

La agregación fue medida en dos agregómetro de doble canal Fisher Recodall 5000 y SIenco empleando la muestra pura como control y concentraciones de ADP

de 0.5 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 5.0 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$ por 2 minutos, se estudiaron a los 30,60,90,120 y 180 seg.

Luego se tomaron alícuotas de 1.6 ml del control en 1.6 ml EDTA frente a 1.6 ml de EDTA –formalina para realizar un recuento de plaquetas remanentes empleando el contador de células ULTRAFLO 100 antes y después de centrifugar a 120 gravedades por 4 minutos.

Los resultados emitieron un claro descenso de la cantidad de plaquetas a las diferentes concentraciones de ADP frente al control negativo de $5 \times 10^7 \text{ M}$ a 10^5 M

Dentro del trabajo su vez se estudiaron 12 controles negativos y 37 pacientes con desordenes tromboembólicos. Los resultados de los sujetos normales oscilaban en el rango de 0.93 ± 0.09 dentro de los valores normales postulados por la técnica original y el promedio de los cocientes de los pacientes con desordenes tromboembólicos menor a 0.8. (Kohanna, 1984)

7. DISEÑO METODOLOGICO

7.1. DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO

1. Se estudiaron veinte personas voluntarias, con edad promedio de 26 años todos ellos aparentemente sanos, sin ningún riesgo cardiovascular asociado, que en un estudio preliminar sus coeficientes de agregación se mantuvieron dentro de los rangos normales. De los cuales se tomo al azar solo 10 muestras, para tener un número manejable e impedir agregaciones espontáneas debido al tiempo en que éstas se procesan; que en adelante se referirá a este grupo como *grupo control negativo sano*. Este grupo será empleado para la optimización de la técnica en lo referente a:

- Evaluación de la dilución optima de trabajo del plasma rico en plaquetas (PRP)
- Determinación de estabilidad del PRP

2. El grupo de aplicación de la técnica estará constituido por 96 individuos de ambos sexos con edades por encima de los 40 años que ingresen a la consulta externa del servicio de cardiología del Hospital Militar COSSMIL entre los meses de enero a junio 2006, con elevado riesgo cardiovascular según los criterios de la ATP III empleando las tablas de Framingham(Arbelaez,2003) que recibieron tratamiento antiagregante llamado *grupo de estudio con terapia* o sin el denominado *grupo de estudio sin terapia*.

7.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Grupo control negativo sano

- Personas de ambos sexos cuyas edades oscilaron entre los 20 a 35 años
- Personas que no sufrían ninguna enfermedad bacteriana o viral
- No presentaron ningún evento ni riesgo cardiovascular
- Sin hábitos tabáquicos

Grupos de estudio

Se incluyeron aquellos pacientes que presentaron las siguientes características:

- Pacientes de ambos sexos con edades superiores a los cuarenta años
- Pacientes con riesgo cardiovascular elevado según la ATP III (diabetes, hipertensión arterial, tabaquismo, dislipidemias, etc.)
- Pacientes que sufrieron eventos cardiovasculares anteriormente al estudio
- Pacientes con terapia antiagregante

7.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes con quimioterapia, debido a la depleción medular
- Pacientes menores de 40 años debido a que a partir de esa edad se asigna un valor considerable de puntuación en las tablas de Framingham para la evaluación de riesgo cardiovascular.(ANEXO 2).
- Mujeres embarazadas, por tratarse de un grupo en constante cambio hormonal.

7.4. SISTEMÁTICA DE CONTROL DE TRABAJO

A todos los pacientes a los que se aplicó la técnica de fijación de microagregados plaquetarios circulantes se realizó un protocolo de recogida de datos el cual contempla (Anexo 1):

- a) Datos generales como nombre edad, sexo, número de carnet de asegurado, fecha de consulta al médico, dirección, procedencia.
- b) Datos clínicos, como diagnóstico con el cual fueron derivados y la administración de terapia antiagregante

7.5. ASPECTOS ÉTICOS

Se trabajó con el previo consentimiento de los pacientes o de la autorización de algún familiar cercano en caso que el paciente este incapacitado de dar su consentimiento

7.6. DISEÑO DE ESTUDIO

7.6.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente es un estudio de tipo experimental, descriptivo.

7.6.2. TAMAÑO MUESTRAL

Para el grupo de estudio se tomó en cuenta que asisten normalmente un promedio de 2600 pacientes por año al servicio de cardiología del Hospital COSSMIL. Se realizó el cálculo de efectivos según población finita, con una precisión del 3%. Cuyo resultado son 188 pacientes anualmente y 94 pacientes en seis meses de estudio.

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N-1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

- N = Total de la población
- $Z_{\alpha}^2 = 1.96^2$ (si la seguridad es del 95%)
- p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)
- q = 1 – p (en este caso 1-0.05 = 0.95)
- d = precisión (en este caso deseamos un 3%).

7.7. MATERIAL

7.7.1. EQUIPOS

- Cámara de Neubauer de retículo brillante
- Microscópio óptico Olympus N°. 9N0518
- Centrifuga ALC 4227
- VórtexQuimis 986

7.7.2. MATERIALES

- Tubos cónicos nuevos de plástico capacidad mínima de 10 ml
- Jeringas descartables de 5cc
- Algodón
- Tips
- Pipetas de 5 ml
- Micropipetas de 100 ul, 1000 ul, 20 ul.
- Cubrecámaras
- Tubos colectores de plástico
- Cámara húmeda
- Probetas de diferente graduación.
- Papel filtro
- Cronómetros
- Gradillas
- Guantes de látex

7.7.3 REACTIVOS

7.7.3.1. SOLUCIONES MADRES:

- EDTA disódico 0.077M
- P-formaldehído al 4 % en agua destilada
- PBS (buffer Salino fosfato)
 - KCL.....2 g
 - KPO_4H_23 g
 - NaCl.....80 g
 - Agua destilada csp.....1000 ml

7.7.3.2.SOLUCIONES DE TRABAJO

- SOLUCION DE FORMALINA-EDTA (SOLUCION I)

- EDTA disódico 0.077 M.....30 ml
- Formol al 4 %.....50 ml
- PBS.....20 ml
- Agua destilada.....100 ml
- pH 7.36

- SOLUCION DE BUFFER-EDTA(SOLUCIÓN II)

- EDTA disódico 0.077 M.....30 ml
- PBS.....50 ml
- Agua destilada.....120 ml
- pH 7.36

7.8. MÉTODO

7.8.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA

Se obtuvo sangre venosa, mediante punción con jeringa hipodérmica. No se consideraron válidas a las provenientes de sangre arterial porque presenta una mayor activación plaquetaria en sangre arterial respecto a la venosa.

El ayuno no ha sido un factor importante, ya que se ha demostrado por estudios que la lipemia post prandial eleva la expresión en la membrana de p-selectina aunque no afecta a otros marcadores que intervengan en la agregación plaquetaria. (Cnatero, 1998) No obstante se procedió a la toma de muestra en condiciones basales con un ayuno mínimo de 12 horas.

Debido a que existe una elevada inestabilidad plaquetaria la recogida de la sangre para el estudio se realizó de forma cuidadosa. Se debió evitar la éstasis venosa, empleando el menor tiempo posible en el empleo del torniquete ya que tiempos prolongados del mismo inducen a la agregación plaquetaria.

La jeringa empleada deberá ser de 5 cc y la aguja empleada debe ser de un calibre igual o superior a 21 G, el empleo cuidadoso de los tubos graduados de plástico preferentemente nuevos, respetando volúmenes correctos de sangre y soluciones de trabajo debe ser tomado muy en cuenta

7.8.2. TÉCNICA

El método empleado es el adaptado modificado por Kohanna y col. En 1985 de la técnica original publicada en 1974 por Wu-HOAK, realizando la variación en la toma de muestra y el empleo de tubos de centrifuga graduados con las respectivas soluciones de trabajo

7.8.3. FUNDAMENTO

La técnica se fundamenta, en colocar sangre en buffer de formalina-EDTA, donde los microagregados existentes en la muestra son fijados y preservados, mientras que en buffer-EDTA son disueltos; al centrifugar y por tener mayor peso que las plaquetas no agregadas, se eliminan del sobrenadante; por lo tanto el recuento de plaquetas en los tubos de formalina-EDTA será menor que en los tubos con Buffer-EDTA la relación entre ambos recuentos será menor cuanto mayor sea la cantidad de microagregados presentes en la muestra.

7.8.4. ESQUEMA DE TRABAJO

Se prepararon los tubos de la siguiente forma:

TUBOS	1	2	3	4
Solución I	4 ml	4 ml	-	-
Solución II	-	-	4ml	4ml
Sangre sin anticoagulante	1 ml	1 ml	1ml	1ml

Se deberán mezclar por inversión y se dejarán reposar durante 15 minutos.

Centrifugar a 900 rpm durante 8 minutos, se deberá recoger el sobrenadante en otros tubos de plástico.

Para el control de calidad interno se trabajo por duplicado cada muestra, como así también el recuento realizado.

7.8.5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Se promedian los recuentos de los tubos 1 y 2, y de los tubos 3 y 4.

Se calcula el cociente del recuento de los tubos 1-2 (Recuento I) sobre el recuento de los tubos 3-4 (Recuento II).

$$\text{Microagregados} = \text{Recuento I} / \text{Recuento II}$$

Los resultados se informaron mediante el anterior coeficiente expresándose en valores absolutos. Los resultados por debajo del valor normal requieren confirmarse mediante repetición de la extracción de sangre. Los valores normales oscilan entre 0.8 y 1.0. Se consideran resultados positivos o de riesgo elevado los coeficientes inferiores a 0.8.

7.9. METODOLOGÍA PARA LA OPTIMIZACION DE LA TECNICA DE DETERMINACION DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES

7.9.1. EVALUACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA DE TRABAJO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

Debido a que el recuento directo con el plasma rico en plaquetas (PRP) es arduo por la cantidad de plaquetas presentes se procedió a realizar diluciones de los controles negativos sanos para encontrar la dilución óptima a la cual poder trabajar.

Se realizaron diluciones seriadas ($1 / 2$, $1 / 4$, $1 / 8$, $1 / 16$) del PRP con el buffer PBS 0.15 M y el PRP homogenizando el mismo antes de realizar las determinaciones.

Se realizó el cargado de la cámara de Neubauer con los cuidados necesarios. Se dejó sedimentar como un mínimo de 10 minutos en cámara húmeda.

Para el recuento de plaquetas se empleo la técnica que se encuentra en el manual de Laboratorios de Hematología publicado por el Instituto Nacional de Laboratorios en Salud INLASA(INLASA,2001)

De tal manera que para el trabajo se emplearon solo 5 de los 25 cuadrantes del retículo de rojos, con lente de 40X a baja intensidad lumínica el recuento se realizó por duplicado. Empleando el siguiente esquema:

1 →	2	3	4	5 ↓
10	9	8	7	6
11	12	13	14	15
20	19	18	17	16
21 ↘	22	23	24	25 ←

Esquema de trabajo en el recuento de plaquetas, retículo de rojos

7.9.2. DETERMINACIÓN DE ESTABILIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

Los PRP de los controles negativos sanos se evaluaron el mismo día de la toma de muestra 0 hrs. (Tiempo 1) a las 24 hrs. (Tiempo 2) y a las 48 hrs. (Tiempo 3) conservándose en refrigeración a -4°C. La dilución empleada para recuento fue la de 1 / 2 en buffer PBS 0.15 M.

7.9.3. CONTROL DE REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA

Se empleó la muestra de los controles sanos a dilución 1 / 2 en el mes de enero marzo y junio del 2006 para evaluar si la técnica goza de reproducibilidad a diferentes tiempos.

7.9.4. DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES EN PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR

Se evaluaron 96 pacientes que ingresaron a la consulta externa del servicio de cardiología del Hospital Militar COSSMIL entre los meses de enero a junio 2006, con elevado riesgo cardiovascular según los criterios de la ATP III. Los pacientes fueron programados de lunes a viernes en el horario de 8:00 a 9:00 de la mañana en ayunas y en un número no mayor de tres por día.

Se empleó para el recuento plaquetario la dilución 1 / 2 del plasma rico en plaquetas, empleando la técnica de recuento en cámara de Neubauer y por duplicado.

Se dividió a este grupo en dos subgrupos de estudio uno que empleó terapia antiagregante y otro no, para observar la efectividad del antiagregante.

Además se evaluó la patología de mayor frecuencia en estas personas, y aquella relacionada con la formación de agregados plaquetarios.

8. RESULTADOS

8.1.OPTIMIZACIÓN EN LA TÉCNICA DE DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES

El presente trabajo empleo la técnica modificada de Wu-Hoak para la determinación de microagregados plaquetarios circulantes, para tal fin procedió optimizar y adecuarla al método manual, los resultados obtenidos son:

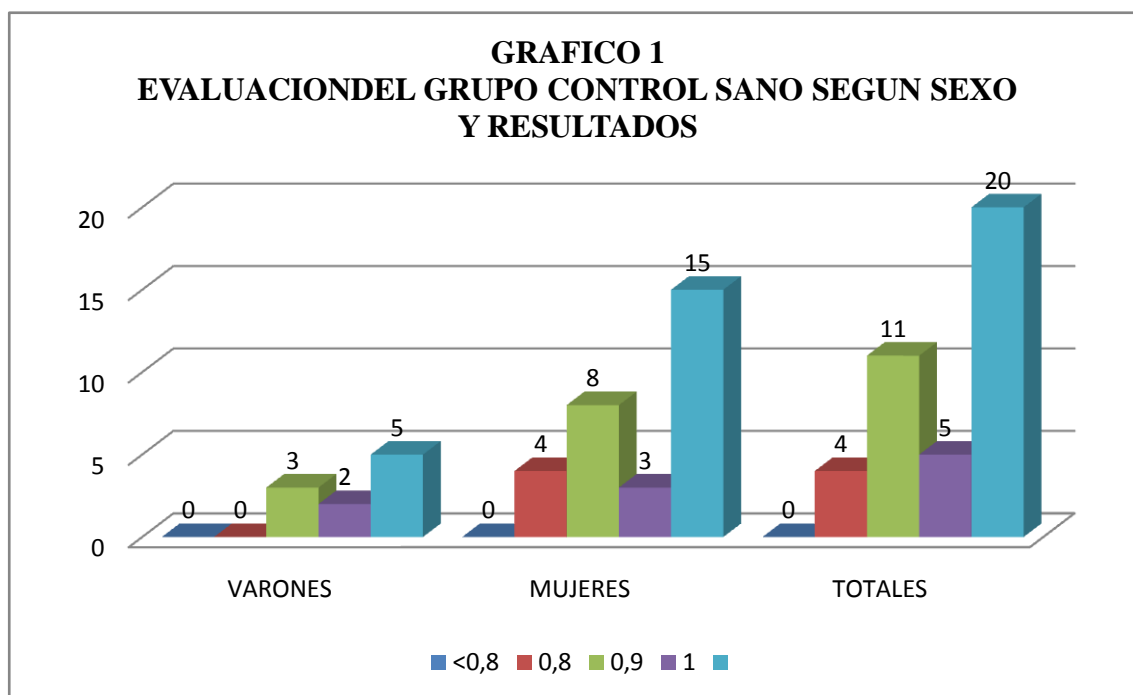
8.1.1. EVALUACIÓN DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO SANO

Se han evaluado 20 controles negativos sanos, la distribución fue de 15 mujeres (75 %) y 5 varones (25%) cuya edad promedio del grupo fue de 26 años. Los resultados han mostrado que la población sana presenta cocientes de agregación expresados en forma de media \pm desviación estándar 0.91 ± 0.06 con un rango de 0.85 a 0.97, pudiendo observarse que no existen valores inferiores a 0.8 considerados de agregabilidad patológica plaquetaria TABLA N° 1, GRAFICO N° 1

**TABLA N° 1
EVALUACION DEL GRUPO CONTROL SANO SEGÚN SEXO Y
RESULTADOS**

SEXO	RANGOS				TOTALES
	<0.8	0.8	0.9	1.0	
VARONES	0	0	3	2	5
MUJERES	0	4	8	3	15
TOTALES	0	4	11	5	20

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

8.1.2.EVALUACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA DE TRABAJO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

Una vez obtenido el PRP de los controles negativos sanos se estudiaron las diluciones 1/2,1/4,1/8,1/16 en buffer PBS 0.15 M. de diez muestras tomadas al azar

TABLA 2

**TABLA N° 2
EVALUACION DE LA DILUCION ÓPTIMA DE TRABAJO DEL PRP DEL GRUPO CONTROL SANO**

MUESTRAS	DILUCIONES			
	1/2	1/4	1/8	1/16
M1	0.87	0.86	0.77	1.0
M2	0.89	0.88	0.98	0.66
M3	1.04	1.0	0.89	0.77
M4	0.96	0.89	0.78	0.80
M5	0.84	0.83	0.74	0.71
M6	0.87	0.88	0.98	0.73
M7	0.82	0.81	0.94	1.2
M8	0.93	0.87	0.71	0.87
M9	0.94	1.0	0.89	0.77
M10	0.96	0.98	0.90	1.3

		dil1	dil2	dil3	dil4
N	Válidos	10	10	10	9
	Perdidos	2	2	2	3
Media		,9120	,9000	,8580	,8467
Desv. típ.		,06647	,06896	,09998	,19805
Varianza		,004	,005	,010	,039
Mínimo		,82	,81	,71	,66
Máximo		1,04	1,00	,98	1,30
CV		7.2	7.7	11.5	22.6

Como se puede observar el coeficiente de variación muestra que no existe mucha variación entre el recuento de las diluciones 1/2,1/4, siendo los resultados de la dilución 1/8 y 1/16 más discordante que las anteriores.

8.1.3. DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

Los PRP de las 10 muestras elegidas al azar de los controles negativos sanos se evaluaron a Tiempo 1 (0 hrs.), Tiempo 2 (24 hrs.) y a Tiempo 3 (48 hrs.) conservadas a 4 °C.

Se pudo observar una disminución del coeficiente de agregación de un promedio de 0.91 a Tiempo 1, llegando a un valor promedio de 0.69 a las 48 hrs.

TABLA N°3

**TABLA N° 3
DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DEL PRP DEL GRUPO
CONTROL SANO**

MUESTRAS	TIEMPOS		
	Tiempo 1 (Ohrs).	Tiempo 2 (24 hrs).	Tiempo 3 (48 hrs).
M1	0.87	0.79	0.63
M2	0.89	0.81	0.74
M3	1.04	0.72	0.68
M4	0.96	0.75	0.66
M5	0.84	0.79	0.55
M6	0.87	0.82	0.68
M7	0.82	0.68	0.69
M8	0.93	0.71	0.76
M9	0.94	0.91	0.70
M10	0.96	0.80	0.85

		TIEMPO1	TIEMPO2	TIEMPO3
N	Válidos	10	10	10
	Perdidos	1	1	1
Media		,9120	,7780	,6940
Desv. típ.		,06647	,06613	,07975
Varianza		,004	,004	,006
Mínimo		,82	,68	,55
Máximo		1,04	,91	,85
C.V.		7.2	8.5	11.5

Se puede observar claramente que al comparar los resultados a las cero horas, vale decir el mismo día de la toma de muestra, con 24 y 48 horas después, el coeficiente de variación aumenta de 7.2 a 11.5

8.1.4 CONTROL DE REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA

Se evaluó el PRP de los 10 controles sanos y se compararon los resultados obtenidos del enero, marzo y junio del 2006 Realizando el análisis de los datos, la media de los mismos es 0.91, 0.9 y 0.80 con un CV que va de 7.2 a 7.6 % implicando poca variabilidad en los resultados. TABLA N° 4.

TABLA N° 4
CONTROL DE REPRODUCIBILIDAD DE LA TÉCNICA DE
MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES

MUESTRAS	FECHAS DE TRABAJO		
	12/ENERO/2006	01/MARZO/2006	7/JUNIO/2006
M1	0.87	0.86	0.87
M2	0.89	0.88	0.86
M3	1.04	1.0	0.95
M4	0.96	0.89	0.96
M5	0.84	0.83	0.84
M6	0.87	0.88	0.87
M7	0.82	0.81	0.94
M8	0.93	0.87	1.04
M9	0.94	1.0	0.87
M10	0.96	0.98	1.02
PROMEDIO	0.91	0.9	0.80

		ENERO	MARZO	JUNIO
N	Válidos	10	10	10
	Perdidos	2	2	2
Media		,9120	,9000	,9220
Desv. típ.		,06647	,06896	,07052
Varianza		,004	,005	,005
Mínimo		,82	,81	,84
Máximo		1,04	1,00	1,04
C.V.		7.2	7.5	7.6

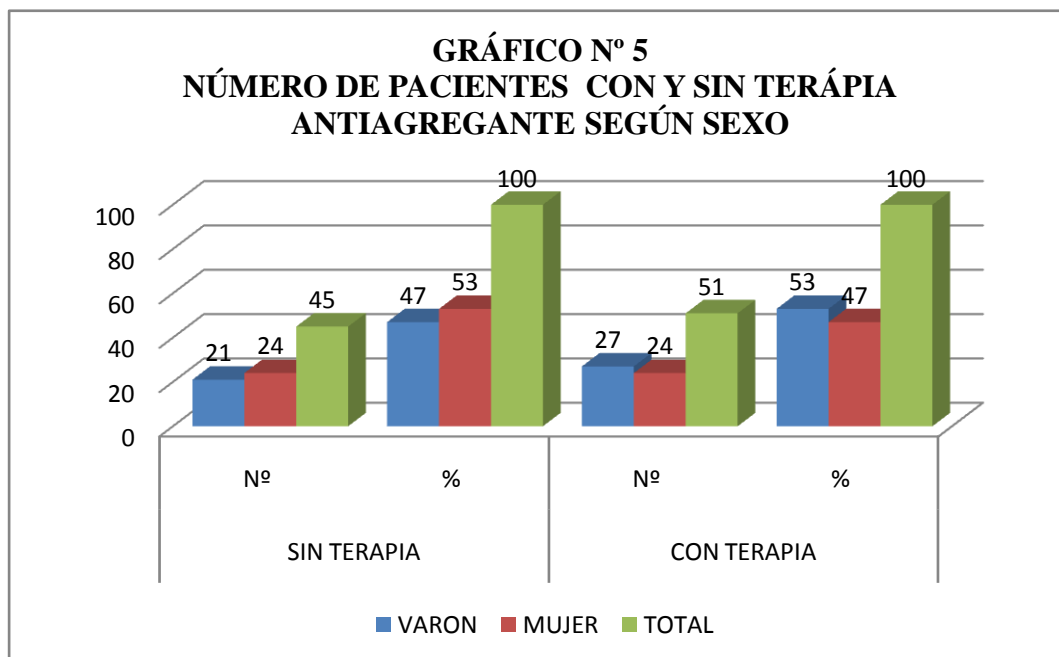
8.2 DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES A PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR.

Se evaluaron a 96 pacientes estudiados, formado por 45 pacientes de ambos sexos sin terapia antiagregante cuya edad promedio fue de 61 años ± 1.6 la distribución fue con predominio del sexo femenino 24 (53%) frente a 21 varones (47 %). En un segundo grupo que estuvo formado 51 pacientes cuya edad promedio fue de 63 años ± 0.7 que recibía terapia antiagregante de 100 mg de aspirina diaria de los cuales 27 (53%) fueron mujeres y 24 (47%) varones .TABLA N°5 .GRAFICO N°5

TABLA N° 5
NUMERO DE PACIENTES CON Y SIN TERAPIA ANTIAGREGANTE
SEGÚN SEXO

SEXO	SIN TERAPIA		CON TERAPIA	
	N°	%	N°	%
VARON	21	47	27	53
MUJER	24	53	24	47
TOTAL	45	100	51	100

Fuente: Elaboración propia



8.3. DETERMINACIÓN DE MICROAGREGADOS CIRCULANTES SEGÚN GRUPOS DE ESTUDIO EN RANGOS DE AGREGACIÓN

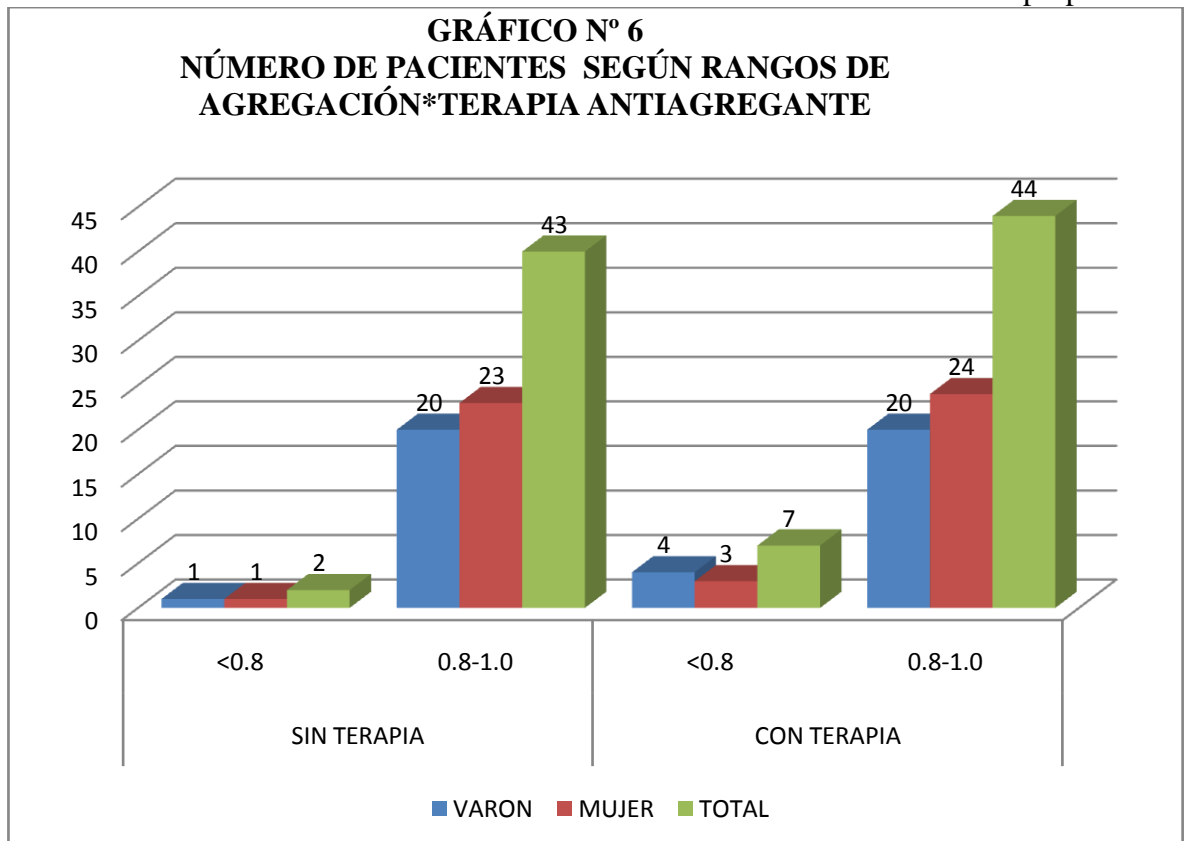
En el grupo de estudio sin terapia se pudo observar que solo dos casos que entran dentro del rango de riesgo <0.8 , a diferencia del grupo que recibe terapia antiagregante donde se observaron 7 casos de los cuales con cociente inferior al normal considerado de riesgo trombótico. TABLA N° 6, GRÁFICO N° 6

Analizando los datos generales sin tomar en cuenta la variable sexo con el Chi cuadrado tenemos que con g.d.l. =1, para $X^2 = 2.42$ la probabilidad de $\alpha = 0.30$ donde $p > 0.05$

TABLA N° 6
NUMERO DE PACIENTES SEGUN RANGOS DE
AGREGACION*TERAPIA ANTIAGREGANTE

SEXO	SIN TERAPIA		CON TERAPIA	
	<0.8	0.8-1.0	<0.8	0.8-1.0
VARON	1	20	4	20
MUJER	1	23	3	24
TOTAL	2	43	7	44

Fuente:Elaboración propia



Fuente:Elaboración propia

Se puede observar que dentro del grupo de estudio con terapia antiagregante (100 mg diarios de aspirina) se tiene un mayor número de personas con valores por debajo de 0.8 considerado de agregabilidad plaquetaria; 4 varones y 3 mujeres de un total de 51 personas, en cambio en el grupo de estudio sin terapia antiagregante solo 1 varón y 1 mujer de un total de 45.

8.4. DETERMINACIÓN DE LA PATOLOGÍA DE MAYOR FRECUENCIA EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Se pudo observar que cada paciente que asistió a la consulta externa en el servicio de cardiología del hospital COSSMIL presentaba más de una patología, se agrupo las patologías en trastornos cardiovasculares como hipertensión arterial, cardiopatía aterosclerótica cardiopatía isquémica, eritrocitosis secundaria; metabólicos como diabetes mellitus, obesidad y sobre peso, dislipidemias y síndrome metabólico. Respiratorios como la enfermedad obstructiva crónica (EPOC).

TABLA N° 7

TABLA N°7
FRECUENCIA DE PATOLOGÍAS EN PACIENTES DE ELEVADO RIESGO
CARDIOVASCULAR, HOSPITAL COSSMIL

PATOLOGÍAS	N° DE PACIENTES AFECTADOS <i>TOTAL</i> <i>96</i>	PORCENTAJE
TRANSTORNOS CARDIOVASCULARES		
Hipertensión arterial	71	74 %
Cardiopatía Aterosclerótica	25	26 %
Eritrocitosis secundaria	25	26 %
Cardiopatía isquémica	18	19 %
TRANSTORNOS METABÓLICOS		
Diabetes Mellitus 2	13	13.5 %
Obesidad y sobrepeso	21	22 %
Dislipidemias	12	12.5 %
Síndrome Metabólico	4	4 %
TRANSTORNOS RESPIRATORIOS		
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	27	29 %

Fuente: Elaboración propia

Un análisis de la TABLA 7 demuestra que la patología de mayor frecuencia es la Hipertensión arterial sistólica 74 % del total de observaciones, seguidamente se halla la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) con un 29 %, la cardiopatía aterosclerosa con un 26 %, la eritrocitosis secundaria con 26 %, la obesidad y sobrepeso 22 % , cardiopatía isquémica 19%

8.5. DETERMINACIÓN DE LA PATOLOGÍA DE MAYOR FRECUENCIA EN LOS GRUPOS CON INDICE DE HIPERAGREGABILIDAD

El siguiente problema a ser resuelto fue de evaluar la relación que existe entre los pacientes observados con un índice menor a 0.8 considerados de hiperagregación plaquetaria y las patologías que estos presentaban TABLA N° 8

TABLA N°8
TABLA DE CORRELACION PATOLOGIAS-RESULTADOS EN
PACIENTES CON ELEVADO RIESGO CARDIOVASCULAR

PATOLOGIA	COCIENTE DE AGREGACIÓN MENOR A 0.8	
	N° DE PACIENTES AFECTADOS TOTAL 9	PORCENTAJE
Aterosclerosis	3	33%
Cardiopatía isquémica	5	55 %
Diabetes mellitus tipo 2	2	22%
Dislipidemias	1	11 %
EPOC	2	22 %
Eritrocitosis	3	33%
Hipertensión arterial	5	55 %
Obesidad y sobrepeso	2	22 %

Fuente: Elaboración propia

Al analizar los anteriores datos podemos observar que en los 9 pacientes con un índice menor a 0.8 considerado de hiperagregabilidad plaquetaria las dos patologías de mayor predominio fueron la hipertensión arterial sistémica junto a la cardiopatía isquémica con un 55 % del total de observaciones, siguiendo en orden de importancia la aterosclerosis y la eritrocitosis con 33 % del total de observaciones y por último la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad y el sobrepeso con 22 %.

9. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El principal objetivo de este estudio ha sido el de optimizar y adecuar al recuento manual la técnica validada de Wu-Hoak, y aplicarla a pacientes con elevado riesgo cardiovascular.

Como ya se había mencionado el primer estudio fue realizado en 1975 por Kenneth Wu y John Hoak en el que se estudiaron 66 pacientes con ataques transitorios isquémicos de los cuales 22 pacientes tenían desordenes tromboembólicos. Se contó además con 30 sujetos normales con valores normales comprendidos entre 0.8-1.0 ($p < 0.01$).

En los 20 controles negativos sanos evaluados en esta tesis, presentan valores de agregación 0.91 ± 0.06 comprendidos dentro de rangos normales 0.8-1.0

Al evaluar la dilución del plasma rico en plaquetas (RPR) para realizar el recuento manual de plaquetas; el coeficiente de variación nos muestra que no existe mucha diferencia entre la dilución 1/2 C.V 7.2 %, 1/4 C.V. 7.7% mientras que aumenta significativamente a la dilución 1/8 C.V. 11.5% y 1/16 C.V. 22.6%. Siendo estas dos últimas más discordante que las anteriores.

En lo referente a la estabilidad del plasma rico en plaquetas (RPR) se debe destacar que es inestable aún cuando se lo guarde refrigerado por más de 12 horas a -4°C , induciéndose la agregación plaquetaria con una disminución de los valores reales encontrados, observando un C.V de 7.2 % el primer día de toma de muestra considerado como tiempo 1 o a las cero horas, incrementándose a C.V de 8.5% para el tiempo dos vale decir a las 24 hrs de toma de muestra y por último un C.V de 11.5 % a las 48hrs de toma de muestra o tiempo 3. De tal forma que los análisis deben ser realizados el mismo día de toma de muestra para evitar falsos positivos.

Se evaluaron los plasmas ricos en plaquetas de las 10 muestras tomadas al azar de los 20 controles sanos y se fueron evaluando durante los meses de enero, marzo y junio de 2006 se puede observar que los coeficientes de variación se

mantienen similares siendo los valores enero C.V. 7.2%, Marzo C.V. 7.5 y junio C.V 7.6 %.

Se ha podido observar que la presencia de microagregados plaquetarios en pacientes que han cursado un evento cardiovascular aun cuando se encontraban recibiendo terapia antiagregante como también en aquellos pacientes que tienen patologías diferentes a las cardiovasculares pero relacionadas al riesgo cardiaco.

El número de casos observados es similar en ambos grupos de estudio, con y sin terapia antiagregante, en el variante sexo tampoco existe diferencia significativa. De un total de 96 personas estudiadas que ingresaron al servicio de cardiología, 9 de ellas se encuentran con un resultado por debajo de los valores normales; 2 con un valor promedio de $X=0.74$ en el grupo sin terapia y 7 con valor promedio de $X=0.65$ en el grupo con terapia de 100 mg diarios de aspirina. Pudiendo observarse un número mayor de personas en el grupo con terapia en relación al otro.

La patología de mayor frecuencia en su diagnostico es la hipertensión arterial que se observa en un 74% de un total de 96 casos observados, estando en relación con las investigaciones realizadas en Bolivia siendo su frecuencia de un 20 a 30% siendo además de una de las principales causas de riesgo cardiovascular y que cada día va más en aumento y por ser además un factor de riesgo para el infarto agudo del miocardio.

Seguidamente y en orden de frecuencia se encuentra la cardiopatía aterosclerótica y la eritrocitosis secundaria con 26% de 96 pacientes estudiados, la obesidad y sobrepeso 22 % , cardiopatía isquémica 19%

Si se correlacionan el número de pacientes con índice de agregabilidad inferior a 0.8 con la patología de base, podemos observar que la hipertensión arterial y cardiopatía isquémica se encuentran en un 55 % de las personas estudiadas,

confirmando que la hipertensión incrementa el trabajo que se expone el corazón, además se correlaciona con los hallazgos realizados durante la estandarización de la técnica de fijación de agregados realizados por Kenneth Wu y John Hoak en 1975, donde pacientes con ataques isquémicos presentan rangos inferiores a 0.8. Sin dejar de lado otras patologías de igual importancia como la aterosclerosis, eritrocitosis, diabetes mellitus, obesidad y sobre peso que también son patologías que van en aumento y son motivo de consultas frecuentes en los diferentes establecimientos de salud.

La hipertensión es el principal factor de riesgo en que la mayoría de los pacientes cardiovasculares fallecen de las complicaciones que provoca la hipertensión en sí, incrementando el trabajo a que se expone el corazón y también aumenta el riesgo de accidente vascular encefálico, ataque cardiaco o fallo renal. Cuando además se acompaña a la obesidad, tabaquismo, hipercolesterolemia y diabetes el riesgo es mucho mayor. Se acompaña habitualmente de mayores niveles de angiotensina II que tiene actividad mitógena sobre las células musculares lisas generando engrosamiento arterial y mayor síntesis de matriz extracelular en la placa.(Arbelaez, 2003)

10. CONCLUSIONES

En el estudio realizado que se refleja en esta tesis, ha investigado diversos aspectos para la optimización de la técnica empleada y adecuarla al trabajo manual de laboratorio.

- La dilución óptima de trabajo es 1/2 por hacer más fácil y manejable el recuento plaquetario en la cámara de Neubauer, también pudiendo emplear la dilución 1/4 debiendo tomar muy en cuenta la limpieza de la cámara antes de su cargado para evitar interferencias como polvo, talco, etc., que ocasionen falsos positivos.

- El plasma rico en plaquetas (PRP) es inestable en refrigeración durante 24 y 48 horas a -4°C produciéndose agregaciones espontáneas, de tal manera deberá ser procesado el mismo día de la toma de muestra.

- Los resultados obtenidos son reproducibles en el tiempo con mínimas variaciones, sin que intervengan factores predisponentes a la agregación

En la aplicación de la técnica a los grupos de estudio podemos concluir:

- Es posible la presencia de microagregados plaquetarios circulantes en personas sanas dentro de valores normales, también son detectables en personas que hayan cursado un evento cardiovascular o con elevado riesgo cardiaco; aún cuando se encuentren recibiendo terapia antiagregante de aspirina 100 mg diarios. Lo que nos lleva a concluir que la eficacia de la aspirina como antiagregante, si bien ha sido bien documentada, siempre existe la posibilidad que no actúe de igual manera de una persona a otra o es necesario un cambio de antiagregante como prevención primaria.
- La patología de mayor frecuencia es la hipertensión arterial junto a la cardiopatía isquémica dentro del grupo de personas con valores de agregación por debajo de lo normal, siguiendo en orden de importancia la eritrocitosis secundaria y la aterosclerosis y finalmente la diabetes mellitus junto a la obesidad y sobrepeso.

11. RECOMENDACIONES

El presente trabajo deja opciones abiertas para continuar con otras investigaciones entre ellas se puede seguir mejorando la técnica empleando sangre entera eliminando el paso de la centrifugación y el empleo de contadores automáticos para el recuento de plaquetas.

Se recomienda realizar un estudio en la pesquisa de microagregados plaquetarios al inicio del tratamiento con aspirina en aquellos pacientes que sean catalogados dentro de los niveles de riesgo cardiovascular. Así evaluamos la eficacia del tratamiento.

Atendiendo a las recomendaciones de la ATP III se puede también incluir un estudio con pacientes por encima de los 20 años con un perfil lipídico alterado, y observar la frecuencia en la presencia de microagregados plaquetarios circulantes en gente joven quienes también empiezan a ser considerados grupos de riesgo por los hábitos de vida actuales.

Se podrá también delimitar patologías específicas a eventos cardiovasculares como son cardiopatía isquémica, el infarto agudo al miocardio, accidente cerebro vascular, vasculopatía periférica (trombosis Arterial), aneurisma de la aorta para la determinación de microagregados plaquetarios circulantes, como predictores de eventos trombóticos.

GLOSARIO

ACTINA: Sustancia proteica que con la miosina y tropomiosina estructuran el tejido muscular.

ADRENALINA: o Epinefrina, importante hormona de la medula suprarrenal incluida en el grupo de las catecolaminas, es el transmisor más importante del sistema Simpático

AGREGACIÓN conjunción de las plaquetas en pequeñas masas irregulares que pueden ocluir capilares o pequeñas soluciones de continuidad en los vasos sanguíneos.

AGREGOMETRO: instrumento que mide en tiempo real la agregación de las plaquetas mediante el aclaramiento óptico al someter un plasma rico en plaquetas a la acción de sustancias agonistas.

ANAMNESIS: Recopilación hecha por el médico de los antecedentes en relación con el paciente, que puedan aclarar sobre la enfermedad del mismo.

ANTICUERPO: Son las proteínas elaboradas por el organismo que se producen tras la penetración de sustancias extrañas denominadas antígenos.

ANTÍGENO: Se denomina a sí a las sustancias que introducidas en el organismo son capaces de provocar la formación de otras denominadas anticuerpos, con los que reaccionan específicamente.

APOPTOSIS: Muerte celular programada que se lleva a cabo dentro del organismo.

ARTERIAS: Conductos de paredes blandas y elásticas que tienen su origen en el corazón, transportan la sangre oxigenada.

ATEROSCLEROSIS: Arterioesclerosis. Restricción o reducción del calibre de las arterias. El calibre está reducido por ejemplo en el estado preobliterativo de la tromboangiítis .

CITOCINAS: proteínas solubles que regulan las respuestas inmunes celulares. Pueden actuar de forma endocrina estimulando células a cierta distancia, o actuar sobre las propias células que las originaron.

COAGULO: Resultado de la coagulación de la sangre; el coagulo es una masa de fibrina, glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y mallas de fibrina.

COLAGENO: Proteína del tejido conectivo que forma parte de las estructuras orgánicas de soporte y de conexión; como los tendones, cartílagos, los ligamentos, la matriz orgánica de los huesos, en los vasos sanguíneos, etc.

DIABETES MELLITUS: Enfermedad producida por la alteración del metabolismo de los hidratos de carbono y su relación con el páncreas.

EDTA: Siglas con las que se designa al ácido etilen-diamino-tetracético. Sustancia quelante usado en forma de sales potásicas como anticoagulante para hematología.

EICOSANOIDES: Amplio grupo de compuestos, heterogéneos en su estructura y con variados efectos biológicos, en su mayoría derivan de ácidos grasos de 20 átomos de carbono en su cadena, principalmente del ácido araquidónico

EPOC: Enfermedad Obstructiva Crónica Síndrome por inflamación crónica de vías aéreas y parénquima pulmonar asociada a partículas o gases tóxicos

FIBRINÓLISIS Mecanismo fisiológico que conduce a la disolución del coagulo de fibrina, permitiendo la recanalización de un vaso sanguíneo previamente obstruido por un coágulo.

FIBROBLASTOS: Célula perteneciente al tejido conectivo responsable de la producción de la sustancia intersticial y de los precursores del colágeno, las fibras elásticas y las fibras reticulares.

FLUOROCROMO: Sustancia que tiene la propiedad de mostrarse luminoso mientras recibe la excitación de cierta radiación a una determinada longitud de onda.

FOSFOLIPIDOS: Lípidos que contienen un grupo fosfato formando parte de su molécula. Forman parte de todos los tejidos y órganos especialmente del cerebro se sintetizan en el hígado. Son las lecitinas, los plasmalógenos y las fosfatidilserinas.

GLICOCALIX: Carbohidrato que forma parte de las membranas plasmáticas

GLUCOPROTEINAS Proteínas conjugadas con un azúcar monosacárido como la glucosa; un amino azúcar como la glucosamina.

HEMORRAGIA Pérdida de sangre por rotura de un punto del sistema circulatorio que la contiene.

HEPARINA Anticoagulante natural utilizada en el tratamiento de las trombosis intravasculares y para prevenir su aparición

HIPERLIPIDEMIA Es el estado que cursa con el incremento de uno o varios lípidos plasmáticos.

ICTUS: Apoplejía cerebral Cuadro clínico que se produce por extravación hemática masiva de una arteria encefálica también se incluyen los accidentes vasculocerebral (AVC) por trombosis embolias y hemorragias.

INFARTO Infiltración de sangre venosa en la estructura íntima de un órgano a consecuencia de la oclusión por un trombo de arteria terminal que lo irriga.

INFLAMACIÓN Es el conjunto de modificaciones locales denominadas también flogosis mediante las cuales el organismo reacciona frente a la acción de múltiples agentes nocivos de naturaleza diversa, capaces de provocar esta reacción sin originar la destrucción de estos tejidos.

INHIBIDOR Sustancia capaz de evitar o atenuar la velocidad de una reacción, que impide o retarda la acción de otra.

ISQUEMIA: Disminución o supresión del flujo sanguíneo en una zona u órgano del cuerpo; las causas pueden muchas la principal la aterosclerosis, trombos oclusivos. Si no se restablece la normal circulación en el aérea puede conllevar a la necrosis del tejido isquémico.

KITS REACTIVOS: Los diferentes reactivos necesarios dentro de un laboratorio para su normal funcionamiento.

MEGACARIOCITOS: Células precursoras de las plaquetas contenidas en la médula roja de los huesos

MORBILIDAD: El índice de morbilidad es el número de casos de una enfermedad que se produce en una determinada población que generalmente se expresa como los casos que se producen por 100.000 o por millón de habitantes.

MORTALIDAD: Es el números de los casos mortales que se producen en una determinada población. El índice de mortalidad es la relación entre el número de muertes que se producen en un determinado territorio durante un determinado intervalo de tiempo, generalmente un año y la población media durante dicho intervalo.

PROSTAGLANDINAS: Sustancias de naturaleza lipídica originalmente aisladas del semen y después se han encontrado en diferentes tejidos y fluidos biológicos. Tienen diversas funciones.

PROTEOLISIS: Es la desintegración de la compleja molécula proteica en varias moléculas menos complejas por acción de enzimas, ácidos o álcalis.

SINDROME METABÓLICO. Asociación de múltiples factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares asociado la mayoría a la resistencia a la insulina.

TROMBO: Masa sólida que se forma en el interior de los vasos sanguíneos o de las cavidades cardíacas.

TROMBOEMBOLISMO: Estado en el que un coagulo sanguíneo formado en un punto de la circulación, se desprende y se ubica en otro punto. Este término suele aplicarse a la embolia pulmonar

VASOCONSTRICCIÓN: Disminución del calibre de los vasos sanguíneos.

VENAS Son conductos de paredes elásticas y membranosas que se originan en la estructura íntima de los tejidos por la confluencia de numerosos capilares venosos, conducen al corazón sangre venosa que carece de oxígeno y de nutrientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALLANT CF, POORT GF, ROSENDAAL FR.1993. Increased Risk Of Venous Thrombosis In Carriers Of Hereditary Protein C. Lancet 341:134-8.
2. ARBELAEZ PATRICIA.2003 Análisis Del Programa Nacional De Educación Sobre El Colesterol. Colombia. Fundación Santa Fe De Bogotá.
3. ARRANZ JOSÉ. 2002 Prevalencia De Las Alteraciones Biológicas Causantes De Trombofilia En La Población Española. Barcelona
4. BERGER JS, Et A. 12006. Aspirin For The Primary Prevention Of Cardiovascular Events In Women And Men. A Sex-Specific Meta-Analysis Of Randomized Controlled Trials. Jama.; 295: 306-313
5. BEUTLER, ERNEST “et all”. 2005. Hematología de Williams.6° ed. Madrid. Marban.1424 p
6. BEVERS E,ZWAAL R.1983 Actividad Procoagulante De Las Plaquetas. Biomech; 736:57-66.
7. BOFFINGE R. 1989 Marcadores Y Propiedades Antitrombóticas Del Endotelio Vascular. Am Med; 21:31-38.
8. CINES BB, POLLAK Et All. 1998 Endothelial Cell In Physiology And In The Patho Physiology Al Vascular Disorders. Blood;91-8
9. CINNES BB, TOMASKY. 1987 Inmune Endothelial-Cell, Injury In Heparin-Associated Thrombocytopenia. New England Journal Med; 316:581-9.

10. CNATERO M, CONEJO JR, PARRA T. 1998 Interferencia De Los Quilomicrones En El Análisis De Plaquetas En La Citometría De Flujo. *Thromb Res*;91:49-52
11. CORDOVA V, VARGAS P, et al. 2011. Agregometría plaquetaria. El estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Medicina Interna México*; 27 (1):58-74
12. COLLER B. 1992 Plaquetas En Trombosis Cardiovascular y Trombosis. *Frozzard*; 2:219-73.
13. DARIO SIERRA I, OLIMPO C “et all”. 2003. Hacia El Manejo Práctico De Las Dislipidemias. Universidad Nacional De Colombia .Facultad De Medicina
14. ESMONT C. 1996. Proteína C, Proteína S y Trombomodulina. *Hemostasiay Trombosis. Blood*; 335-54.
15. FARRERAS ROZMA.1988. Tratado De Medicina Interna. 11ªed .Doyma: 1569
16. FERNANDEZ BRITO. 1999 Génesis De La Aterosclerosis *Revista Cubana De Investigación BioMed*; 18(3)169-75.
17. FERRADIS SANDRA, PEREZ POL. 2006 Enfermedades Cardiovasculares. *Offarm.*; 25:92-5.
18. GARCIA JOSÉ LUIS.2000. Estudio De Los Marcadores De Actividad Plaquetaria En Pacientes Con Sepsis Grave Y Síndrome De Disfunción Multifactorial, Papel De Las Interacciones Celulares. Barcelona.

19. GIMENO GARZA J, DEL RIO LIGORIT A, FERNADEZ DEL PRADO et al. 2010 Resistencia a la Aspirina y Clopidogrel Causas y Consecuencias. Revista de la sociedad Aragonesa de Cardiología. 38(1): 113
20. GONZALES X, NOTARIO M, GUZMAN A.2001. Las Plaquetas en la Diabetes Mellitus. Revista cubana de hematología e inmunología.17(1):19-24
21. GOODMAN GILMAN.1996. Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica. 9º ed. México. McGraw-Hill. Tomo III.1423p.
22. GRUPO COOPERATIVO ARGENTINO DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS. CATH. 1998 Fundamentos Para El Manejo Práctico En El Laboratorio De Hemostasia. Argentina 124p.
23. INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD.INLASA.2001.Procedimientos Técnicos de la Red Nacional De Hematología. Bolivia.35 p.
24. JAÚREGUI P. “et all”. 1999 Morbimortalidad En El Departamento De Cardiología Del Instituto Nacional De Tórax. Bolivia Publicación Técnica Bolivia No 1.
25. JIMÉNEZ RAFAEL. 2002. Genética De Las Alteraciones Trombóticas. Gaceta Medica México. Vol 138(1)
26. KESSLER CM. 1984 Colágeno y Factores VIII/ Von Willebrad y Proteínas De Interacción. Blood; 63:129.
27. KOHANNA H., SMITH M. AND SATZMAN E. 1984. Do Patients With Thromboembolic Disease Have Circulating Platelet Aggregates. Blood, Vol 64, N°1; 250-209.

28. LEUNG L, NACHMAN R. 1986. Mecanismos Moleculares En La Agregación Plaquetaria. *AnnuRevMed.* 37:179-86
29. MARCUS AJ. 1993 Trombo Modulación Multicelular Y Modulación Plaquetaria, Reactividad In Hemostasia Y Trombosis. *Fosed.*7:516-32
30. MARTÍNEZ MURILLO C, 1996 Quintana Gonzales. Manual De Hemostasis y Trombosis. Bases Fisiopatológicas y Clínicas de las Enfermedades Hemorrágicas y Trombóticas. México. Prado
31. MCKENZIE, SHIRLYN B. 1998 Hematología Clínica. 3º ed. México El Manual Moderno.367p.
32. PRAT HERNÁN, ZARATE LUÍS. 2003 Viscosidad Sanguínea como Factor de Riesgo Cardiovascular. *Revista Chilena de Cardiología.*23:12-13.
33. RODAK BERNARDETTE. 2010 Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas.2º ed. Argentina. Panamericana.613p
34. VERMYLEN J, VERSTRAETE M; FUSTER V. 1986 Rol De Las Plaquetas En La Activación Y Formación De Fibrina En La Trombo Génesis. *JournalCardiol;* 8:79-81.
35. VIVES CORRONS L, AGUILAR BASCOPE J.1982. Hematología Clínica. 2ºed. Doyma
36. WU KENNETH K., HOAK JOHN C. 1975 Increased Platelet Aggregates InPatients With Transient Ischemic Attacks. *Stroke;* 521-524.
37. RUIZ RAFAEL, SEGATORE LUIGI,1988. Nuevo Diccionario Médico.2º ed. Teide

38. SALGADO M.2002. Citometría de flujo fluorescence-activatedcellSorting. Curso de métodos de Biotecnología. México

ANEXOS

ANEXO 1

NOMBRE :	SEXO:
EDAD:	CARNET ASEGURADO:
DIRECCION:	
PROCEDENCIA:	
TELEFONO:	

PLANILLA DE SOLICITUD DE EXAMEN Y FUENTE DE DATOS DE CADA PACIENTE

DETERMINACION DE MICROAGREGADOS PLAQUETARIOS CIRCULANTES

1. DATOS GENERALES

FECHA

:

2. DIAGNOSTICO

--

3. MEDICACION EMPLEADA

ANTIAGREGANTES PLAQUETARIOS, DOSIS

ASPIRINA	
CLOPIDOGREL	
TRIFUSAL	
DITAZOL	
DIPIRIDAMOL	
TICLOPIDINA	
PICOTAMINA	
OTROS	

ANTICOAGULANTES, DOSIS

WARFARINA	
HEPARINA	
BAJO PESO MOLECULAR.....	
OTROS	

ANEXO 2
TABLAS DE FRAMINGHAM PARA LA EVALUACION DEL RIESGO
CARDIOVASCULAR

TABLA 1. Tabla de Anderson (1991)											
Mujeres (edad)	Puntos	Varones (edad)	Puntos	cHDL (mg/dl)	Puntos	Colesterol (mg/dl)	Puntos	PAS (mmHg)	Puntos	Otros factores	Puntos
30	-12	30	-2	25-26	7	139-151	-3	98-104	-2	Tabaquismo	4
31	-11	31	-1	27-29	6	152-166	-2	105-112	-1	Diabetes	
32	-9	32-33	0	30-32	5	167-182	-1	113-120	0	Varones	3
33	-8	34	1	33-35	4	183-199	0	121-129	1	Mujeres	6
34	-6	35-36	2	36-38	3	200-219	1	130-139	2	HVI	9
35	-5	37-38	3	39-42	2	220-239	2	140-149	3		
36	-4	39	4	43-46	1	240-262	3	150-160	4		
37	-3	40-41	5	47-50	0	263-288	4	161-172	5		
38	-2	42-43	6	51-55	-1	289-315	5	173-185	6		
39	-1	44-45	7	56-60	-2	316-330	6				
40	0	46-47	8	61-66	-3						
41	1	48-49	9	67-73	-4						
42-43	2	50-51	10	74-80	-5						
44	3	52-54	11	81-87	-6						
45-46	4	55-56	12	88-96	-7						
47-48	5	57-59	13								
49-50	6	60-61	14								
51-52	7	62-64	15								
53-55	8	65-67	16								
56-60	9	68-70	17								
61-67	10	71-73	18								
68-74	11	74	19								
Puntos y riesgos coronarios a los 10 años											
Puntos	Riesgo	Puntos	Riesgo	Puntos	Riesgo	Puntos	Riesgo				
1	< 2	9	5	17	13	25	27				
2	2	10	6	18	14	26	29				
3	2	11	6	19	16	27	31				
4	2	12	7	20	18	28	33				
5	3	13	8	21	19	29	36				
6	3	14	9	22	21	30	38				
7	4	15	10	23	23	31	40				
8	4	16	12	24	25	32	42				

PAS: presión arterial sistólica; cHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; HVI: criterios electrocardiográficos de hipertrofia ventricular izquierda (en caso de no disponer electrocardiograma se asumirá como negativo).