



CARDIOLOGÍA DEL ADULTO - TRABAJOS LIBRES

Diferencias en la agregación plaquetaria de sangre coronaria y periférica de pacientes con enfermedad coronaria. Implicaciones clínicas.

Differences in platelet aggregation in coronary and peripheral blood of patients with coronary disease.

Clinical implications.

Jaime Cabrales, MD.⁽¹⁾; Darío Echeverri, MD.⁽¹⁾; Orlando Corzo, MD.⁽¹⁾; Mauricio Pineda, MD.⁽¹⁾

Bogotá, Colombia.

INTRODUCCIÓN: los fenómenos trombóticos son más frecuentes en las coronarias y, al parecer, los cambios que produce la enfermedad aterosclerótica en la reología y en la superficie endotelial son los responsables de este fenómeno.

OBJETIVO: cuantificar la diferencia en la agregación plaquetaria de sangre venosa coronaria y sangre venosa periférica en pacientes con enfermedad coronaria severa.

METODOLOGÍA: se seleccionaron pacientes mayores de treinta años, con enfermedad coronaria severa, de quienes se obtuvieron muestras de sangre periférica y del seno coronario, y se realizaron agregaciones plaquetarias por el método de absorbancia con ADP 10 µmol, ácido araquidónico (AA), epinefrina (Epi) 300 µmol y colágeno 10 µg/mL.

RESULTADOS: se incluyeron en total 32 pacientes con edad promedio de 65 ± 10 años, 22 hombres, 10 (31%) pacientes con enfermedad estable y 22 (69%) con inestable. La agregación plaquetaria en sangre del seno coronario fue mayor con todos los agonistas usados, así: ADP 61,8% vs. 53,4% ($p= 0,001$), AA 15,1% vs. 13,8% ($p= 0,48$), colágeno 72,6% vs. 69,2% ($p= 0,048$) y Epi 58% vs. 51,6% ($p= 0,01$). Los pacientes con enfermedad inestable muestran una mayor agregación con ADP en el seno coronario: 58,5% vs. 49,2% ($p= 0,001$) y no hay diferencias en los inestables. La resistencia a la Aspirina fue similar ($p= 1$), sin embargo la resistencia al clopidogrel fue mayor en el seno coronario: 56% vs. 48% ($p= 0,24$).

CONCLUSIÓN: se describe la presencia de mayor agregación plaquetaria en el seno coronario de pacientes con enfermedad aterosclerótica, la cual es significativa para ADP, colágeno y epinefrina. Se sugiere la aparición de factores locales asociados con la enfermedad coronaria que aumentan la agregación plaquetaria. La agregación plaquetaria periférica no refleja el comportamiento local en pacientes con aterosclerosis coronaria.

PALABRAS CLAVE: agregometría plaquetaria, clopidogrel, antiagregantes, seno coronario, enfermedad coronaria.

(1) Fundación Cardioinfantil- Instituto de Cardiología, Bogotá, Colombia.

Correspondencia: Dr. Jaime Cabrales. Calle 163A # 13B - 60, Fundacion Cardioinfantil, primer piso, Hemodinamia, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: jcabrales@cardioinfantil.org.

INTRODUCTION: thrombotic events are more frequent in the coronary arteries and apparently the changes in rheology and endothelial surface produced by atherosclerotic disease are responsible for this phenomenon.

OBJECTIVE: quantify the difference in platelet aggregation of coronary venous blood and peripheral venous blood in patients with severe coronary disease.

METHODOLOGY: we selected patients older than 30 years with severe coronary disease and obtained samples of peripheral and coronary sinus blood. Platelet aggregation was realized by the absorbance method with ADP 10 µmol, arachidonic acid (AA), epinephrine (Epi) 300 µmol and collagen 10 ug/mL.

RESULTS: we included a total of 32 patients with mean age 65 ± 10 years. 22 were men; 10 patients (31%) had stable disease and 22 (69%) unstable disease. Platelet aggregation in coronary sinus blood was higher with all agonists used as follows: ADP 61.8% vs. 53.4% ($p = 0.001$), AA 15.1% vs. 13.8% ($p = 0.48$), collagen 72.6% vs. 69.2% ($p = 0.048$) and Epi 58% vs. 51.6% ($p = 0.01$). Patients with unstable disease show increased aggregation with ADP in the coronary sinus 58.5% vs. 49.2% ($p = 0.001$) and there are no differences in the unstable. Aspirin resistance was similar ($p = 1$); however, clopidogrel resistance was higher in the coronary sinus 56% vs. 48% ($p = 0.24$).

CONCLUSION: we describe the presence of higher platelet aggregation in the coronary sinus of patients with atherosclerotic disease that is significant for ADP, collagen and epinephrine, and suggest the appearance of local factors associated with the coronary disease that increase platelet aggregation. Peripheral platelet aggregation doesn't reflect the local behavior in patients with coronary atherosclerosis.

KEY WORDS: platelet aggregometry, clopidogrel, coronary sinus, coronary disease.

(Rev Colomb Cardiol 2010; 17: 255-264)

Introducción

Los fenómenos aterotrombóticos son el resultado de una compleja interacción de factores sistémicos y locales (1). Durante un estudio angiográfico temprano se logra documentar la presencia de trombos en 90% de los infartos con elevación del segmento ST y hasta en 75% de los infartos sin elevación del mismo segmento (2). Este fenómeno trombótico puede originarse en lesiones ateroscleróticas no obstructivas o placas vulnerables, las cuales poseen una cápsula fibrosa pequeña y un núcleo lipídico con gran actividad inflamatoria que favorece la expresión de factores protrombóticos y moléculas de adhesión en la superficie endotelial (3). Si bien el punto de partida para el fenómeno trombótico es la disrupción endotelial, se requieren plaquetas activadas para continuar con la formación y expansión del trombo(4). Los fármacos antiagregantes plaquetarios están encaminados, en su mayoría, a inhibir el proceso de activación plaquetario, y así prevenir los cambios estructurales necesarios para la formación de agregados plaquetarios.

El proceso de interacción local entre las plaquetas y la pared arterial mantiene un perfecto equilibrio para evitar los fenómenos trombóticos. Sin embargo, en presencia

de disfunción endotelial y alteraciones en el flujo coronario este equilibrio se ve alterado por factores locales como la dinámica del fluido (fuerzas físicas y reológicas) (5), la exposición al sustrato (ej: factor tisular, colágeno, proteoglicanos), y la presencia de factores de riesgo trombogénicos sistémicos (6), lo cual genera un riesgo de trombosis local. Es claro que las características anatómicas, fisiológicas y de flujo en las coronarias, les confieren un perfil de riesgo diferente al de otras arterias. Estas diferencias son evidentes en la práctica clínica y en estudios clínicos; tal es el caso de los estudios CURE (7), CREDO (8) y CHARISMA (9) donde para lograr una disminución significativa en el número de eventos trombóticos en pacientes de alto riesgo fue necesario el uso de doble antiagregación. Por el contrario, en el MATCH (10) sólo con la utilización de antiagregación simple con clopidogrel se logró una disminución de los eventos trombóticos en el sistema nervioso central, con lo cual se sugiere la presencia de condiciones especiales en la circulación coronaria que favorece la activación plaquearia y una respuesta insuficiente a la simple medicación. De manera que el estudio de la agregación y coagulación a nivel de sangre periférica, podría no reflejar las condiciones locales del microambiente que existe dentro de la circulación coronaria.

Todo procedimiento de intervención mecánica por vía percutánea en las coronarias, induce un trauma vascular que expone de manera inmediata la matriz de colágeno al contacto con la sangre y favorece la liberación de sustancias protrombóticas como el factor tisular, una glicoproteína de membrana presente en los fibroblastos de la pared de los vasos sanguíneos. El contacto de dicho factor con la sangre, es el suceso que desencadena la cascada de coagulación por la vía extrínseca y sustancias vasoactivas como la endotelina-1 (ET-1), un potente vasoconstrictor y estimulante del crecimiento del músculo liso y las prostaglandinas eicosanoides, derivados de lípidos de membrana que intervienen en los procesos inflamatorios y en la agregación plaquetaria; de este modo todas estas sustancias desatan fenómenos de trombosis local (11). En la actualidad este fenómeno de trombosis aguda se previene mediante la utilización rutinaria de doble terapia antiagregante con Aspirina y clopidogrel (12), a pesar de lo cual continúan los eventos trombóticos. Así, surgen estudios que demuestran la relación existente entre una respuesta inadecuada o resistencia a los medicamentos como factor asociado a la presencia de eventos cardiovasculares mayores, incluyendo trombosis del stent posterior a una intervención coronaria (13,14); tales estudios evalúan la antiagregación en sangre periférica. Sin embargo, la trombosis en pacientes con respuesta periférica adecuada, también puede sugerir la existencia de factores locales que generan resistencia a los antiagregantes en la circulación coronaria, confirmando nuevamente el concepto expresado anteriormente: «el estudio de la agregación y coagulación a nivel de sangre periférica, podría no reflejar las condiciones locales del microambiente que existe dentro de la circulación coronaria».

Objetivo

Cuantificar la diferencia en la agregación plaquetaria de sangre venosa coronaria y sangre venosa periférica en pacientes con enfermedad coronaria severa.

Materiales y métodos

Previa autorización por el Comité de Investigaciones y Comité de Ética en Investigación Clínica de la Institución, se llevó a cabo un estudio de cohorte en el que se seleccionaron por conveniencia pacientes que consultaron al servicio entre mayo de 2008 y mayo de 2009.

Al estudio ingresaron sujetos de ambos sexos, mayores de treinta años, con diagnóstico clínico de enfermedad coronaria, sometidos a coronariografía diagnóstica

en la cual se halló enfermedad coronaria severa ($> 70\%$ de obstrucción diametral) al menos en un vaso principal. Se consideraron criterios de exclusión: pacientes que recibieran infusión de inhibidores de la GpIIb/IIIa en el momento del estudio, recuento plaquetario menor de $100.000/mm^3$, hematocrito $<35\%$ ó $>50\%$ o en quienes fuese imposible obtener muestras sanguíneas por dificultades técnicas en la canulación selectiva del seno coronario. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado. Durante la entrevista realizada por uno de los investigadores se completó un formato de recolección de datos en el cual se consignaron: identificación, información demográfica, factores de riesgo y datos de la historia clínica que se definieron como relevantes para la investigación.

Al finalizar el cateterismo diagnóstico antes de cualquier intervención terapéutica sobre el árbol coronario o la administración de anticoagulantes, se realizó una punción venosa femoral y utilizando un catéter coronario diagnóstico (JR4, MP2 o AL2) se canuló de forma selectiva el seno coronario. Se confirmó la posición del catéter mediante guía fluoroscópica y con la administración de medio de contraste endovenoso al 50% en solución salina (Figura 1) se realizó lavado del catéter mediante aspiración de 10 mL de sangre y posteriormente la toma de muestras de sangre venosa del miocardio con una jeringa de 10 mL estéril; el volumen de sangre extraído fue de 20 mL el cual se repartió en cuatro tubos de 3,8 mL al vacío con citrato de sodio, los mismos que se agitaron suavemente invirtiéndolos durante cinco oportunidades para facilitar la mezcla completa del anticoagulante con la sangre. Al finalizar la toma de la muestra sanguínea en el seno coronario, se retiró el catéter hasta la vena femoral, lugar donde se realizó nuevamente lavado mediante la extracción de 10 mL de sangre y se obtuvieron otros 20 mL de sangre, los cuales se repartieron también de forma similar en cuatro tubos al vacío con citrato de sodio y se agitaron de igual manera. El volumen en cada tubo mantiene una proporción mínima de nueve partes de sangre total por una de anticoagulante (citrato de sodio al 3,2%) y la mezcla por inversión se realiza de forma suave a fin de evitar hemólisis de la muestra. Las muestras fueron rotuladas con el nombre del paciente y marcadas de forma aleatoria con números 0 ó 1 sin informar al laboratorio a qué lugar de toma correspondía cada muestra para impedir que se procesaran en el mismo orden. El retiro del catéter coronario diagnóstico y del introductor vascular se realizó según el protocolo establecido para este procedimiento en nuestro servicio.

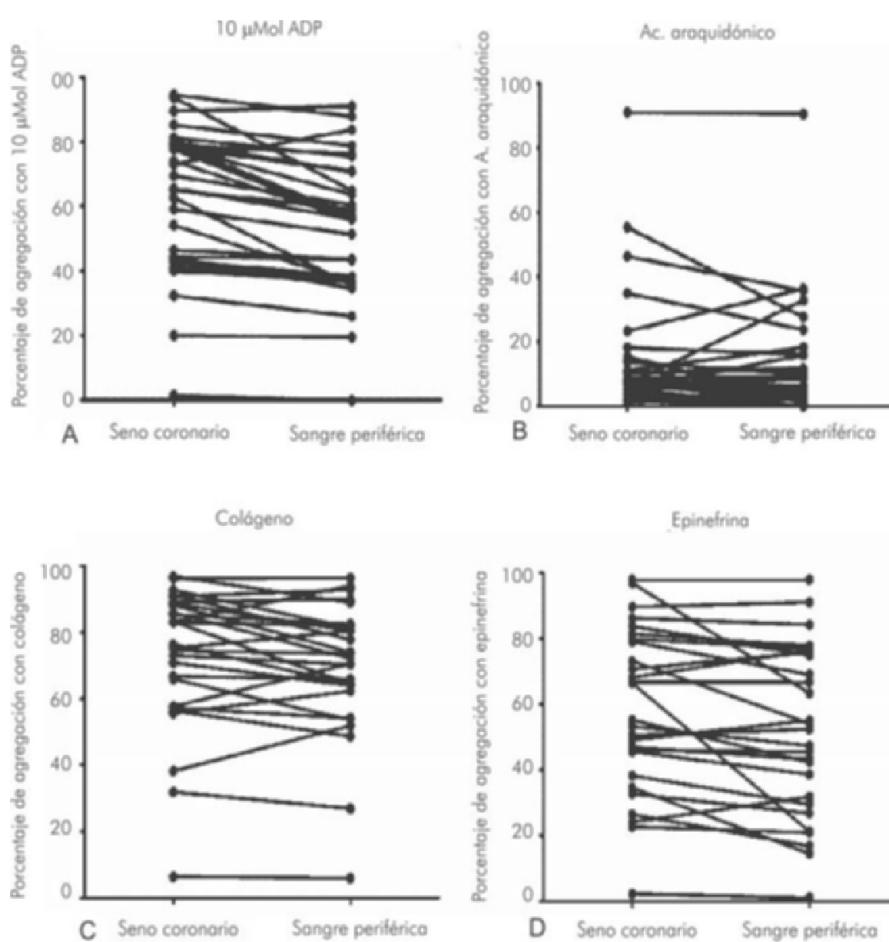


Figura 1. Diferencia en la respuesta entre la sangre del seno coronario y la sangre venosa periférica ante diferentes agonistas, A) 10 µMol de ADP, B) Ácido araquidónico, C) Colágeno, D) Epinefrina.

Especificación del método

La agregación plaquetaria se cuantifica utilizando el equipo Agregómetro Packs-4 (Platelet Aggregation Chromogenic Kinetic System) de Helena Laboratorios, que es un analizador que mide la agregación de plaquetas humanas por el método de absorbancia usando diferentes agonistas, los cuales son leídos en cuatro canales de manera simultánea.

Se obtuvieron dos tipos de plasma:

- Plasma rico en plaquetas: el cual se centrifugó por cinco minutos a 1.000 revoluciones por minuto (rpm).
- Plasma pobre en plaquetas centrifugado a 3.500 rpm durante diez minutos.

El plasma rico en plaquetas simula el 100% de agregabilidad plaquetaria; por el contrario, el plasma

pobre en plaquetas representa el 0% de agregabilidad plaquetaria y es proporcional al número de plaquetas. Así, al suministrar el agonista se produce un cúmulo plaquetario que disminuye la densidad óptica del plasma rico en plaquetas. De la diferencia de dicha absorbancia se establece el porcentaje de agregación plaquetaria.

Las sustancias utilizadas como agonistas de la agregación plaquetaria son: ADP 10 µM, colágeno 10 µg, epinefrina 300 µM, y ácido araquidónico 5 mg; estas sustancias se utilizan como reactivo liofilizado. Los reactivos que se emplearon provienen de Helena Laboratorios; distribuidos por Cethus Lab Ltda. Los kits utilizados correspondieron a un mismo lote durante todo el estudio y se realizó una estandarización inicial de los resultados con plasma rico en plaquetas control.

Los resultados finales se reportaron en una gráfica tiempo vs. porcentaje de agregación plaquetaria.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó con base en estudios publicados previamente, con una mínima diferencia clínicamente significativa en la agregación plaquetaria de 20% y con una reproducibilidad de la muestra de $\pm 5\%$ para las muestras (si existía diferencia) y con un análisis de dos colas en caso de que la diferencia fuera contraria. Fue propuesto con un poder de 0,8, y un error alfa (falsos positivos) de 0,05. El estimado para el tamaño de muestra mínimo fue de treinta pacientes, cada uno de los cuales aportará resultados de agregación en sangre periférica y de la circulación coronaria.

Análisis de los datos

Se realizó una descripción de las características generales de la población mediante estadística descriptiva para variables cualitativas con proporciones y para variables cuantitativas mediante promedios con sus correspondientes intervalos de confianza para el 95%. Se hizo un análisis de correlación mediante regresión lineal entre la agregación en sangre periférica y sangre del seno coronario para la población general y con cada uno de los agonistas estudiados, con el fin de establecer el coeficiente de correlación entre las muestras. Se compararon las diferencias entre promedios de agregación plaquetaria para sangre del seno coronario y sangre periférica para cada agonista mediante la prueba T de Student pareada o Mann-Withney de acuerdo con la distribución de la variable. Se utilizó la prueba T de Student pareada en la población de pacientes con enfermedad estable y síndrome coronario agudo para establecer diferencias en la agregación para los principales agonistas. Para los cálculos de sensibilidad y especificidad se tomó como patrón de oro el resultado de la agregación plaquetaria en el seno coronario.

Resultados

La población total estudiada fue de 32 pacientes, de los cuales 22 (69%) fueron hombres. La edad promedio para este grupo fue 64 ± 10 años y para las mujeres 67 ± 12 años. El motivo del estudio fue enfermedad coronaria estable en 10 (31%) de los pacientes, síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (se incluye angina inestable e infarto sin elevación del segmento ST) en 14 (44%) e infarto con elevación del segmento ST en 8 (25%). En la tabla 1 se resumen las características de la población al igual que los factores de riesgo cardiovascular. Es importante resaltar una prevalencia alta de dislipidemia –30 (93%)- e hipertensión arterial –29 (90%)-.

Resultados angiográficos

Durante el cateterismo diagnóstico se documentó la presencia de enfermedad coronaria de uno, dos y tres vasos en 7 (22%), 10 (31%) y 15 (47%) pacientes, respectivamente. Hubo ectasia coronaria de al menos un vaso principal en 2 (6%) de los pacientes. La arteria comprometida con mayor frecuencia fue la descendente anterior en 22 (70%), seguido por la coronaria derecha en 21 (67%) y con menor frecuencia se encontró enfermedad en la arteria circunfleja en 16 (50%) de los casos.

Tabla 1

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

Característica	n	Porcentaje
n	32	
Edad	65 ± 10 años	
Género masculino	22	69
Diagnóstico		
Síndrome coronario agudo sin elevación del ST	14	44
Infarto agudo del miocardio con elevación del ST	8	25
Angina estable	10	31
Vasos comprometidos		
Uno	7	22
Dos	10	31
Tres	15	47
Ectasias	2	6
Factores de riesgo		
Hipertensión arterial	29	90
Dislipidemia	30	93
Diabetes mellitus	2	6
Previo infarto agudo del miocardio	17	53
ACTP previa	6	18
Obesidad (IMC > 30)	7	22
Falla renal ($\text{Cr} > 2,5$)	1	3
Fracción de eyeción	$50 \pm 10\%$	

ACTP (angioplastia transluminal percutánea), IMC (índice de masa corporal), Cr (creatinina sérica).

Resultados farmacológicos

El uso de medicación durante los días previos al estudio se describe en la tabla 2. En 29 (90%) de los pacientes se usaron y inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y en 24 (75%) beta-bloqueadores. Se evidenció el consumo de otros medicamentos que pueden generar interacción con el clopidogrel; éstos fueron: estatinas en 28 de los casos (88%), omeprazol en 22 (72%) y otros recientemente relacionados como anticálcicos en 1 paciente (3%).

Ninguno de los individuos recibió heparina no fraccionada antes de la toma de muestras. Respecto al uso previo de antiagregantes plaquetarios se encontró que en el momento de la toma de muestras 30 pacientes (93%) recibieron Aspirina durante las últimas 24 horas, y 24 (75%) la recibieron de forma continua al menos durante los últimos siete días. 25 pacientes (78%) recibieron clopidogrel durante las 24 horas previas a la toma de la muestra con una dosis de carga entre 300 y 600 mg, seguida por 75 mg cada día. Siete pacientes (22%) tomaron clopidogrel en dosis de 75 mg cada día al menos los siete días previos a la toma de las muestras; en éstos no se administró dosis de carga de clopidogrel.

Tabla 2
MEDICAMENTOS RECIBIDOS POR LA POBLACIÓN
DE ESTUDIO

Medicamento	n	Porcentaje
Aspirina	30	93
> 24 h	24	75
Clopidogrel	25	78
> 24 h	7	22
Aspirina + clopidogrel	25	78
> 24 h	6	19
IECA	29	90
Beta-bloqueadores	24	75
Estatinas	28	88
Anticálcicos	1	3
LWHP	25	78
HUF	0	0
Omeprazol	23	72

> 24 h = consumo de la medicación durante más de 24 horas. IECA (inhibidor de la enzima conversora de angiotensina), LWHP (heparina de bajo peso molecular), HUF (heparina no fraccionada).

Resultados de la agregación plaquetaria

Los resultados basales de las agregaciones plaquetarias de cada uno de los pacientes estudiados ante los diferentes agonistas se describen en la figura 1. En la figura 2 se compara el resultado de la agregación con 10 μ Mol de ADP en cada paciente, en la que se organizan en orden ascendente según el valor de la agregación plaquetaria en el seno coronario. La figura 3 muestra la diferencia en la media de agregación, la cual es de 61,8% en sangre del seno coronario y 53,4% en sangre periférica, con lo cual se estima una diferencia en media de 8,4% con IC 95% de 5,3 a 11,5 ($p=0,001$) y un coeficiente de correlación significativo ($r=0,93$). Los resultados con ácido araquidónico se muestran en la figura 4, sin encontrar diferencias significativas entre el seno coronario y la periferia ($p=0,48$); el promedio de agregación con ácido araquidónico se muestra en la figura 5, el cual fue 15,1% en el seno coronario y 13,8% en sangre periférica con una diferencia en el promedio de 1,3% con IC 95% de -2,5 a 5,1 ($p=0,48$) y un coeficiente de correlación significativo ($r=0,88$). Con la utilización de colágeno como agonista plaquetario (Figura 6), se encontró una agregación media en el seno coronario de 72,6% y en sangre periférica de 69,2% (Figura 7), con una diferencia en el promedio de 3,38%, con IC 95% de 0,03 a 6,7 ($p=0,048$) y un coeficiente de correlación significativo ($r=0,92$). Finalmente, para

epinefrina (Figura 8), los resultados mostraron una diferencia significativa ($p=0,01$), la media de agregación en sangre del seno coronario fue de 58% y en sangre periférica de 51,6%, con una diferencia en el promedio de 6,4%, IC 95% 1,64 a 11,8 ($p=0,01$) y un coeficiente de correlación significativo ($r=0,89$) (Figura 9).

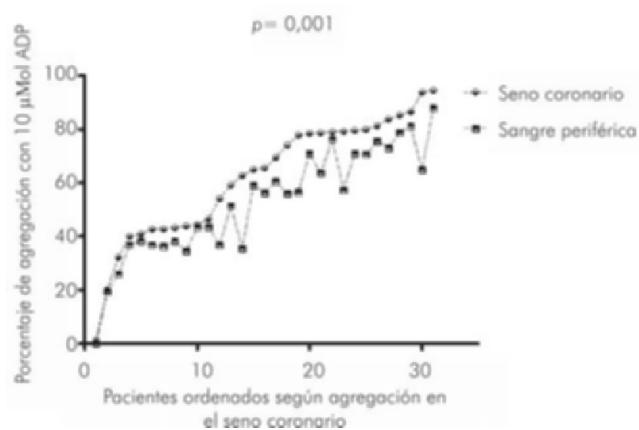


Figura 2. Respuesta ante 10 μ Mol de ADP, evaluados mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica; los pacientes se muestran ordenados según la agregación en el seno coronario.

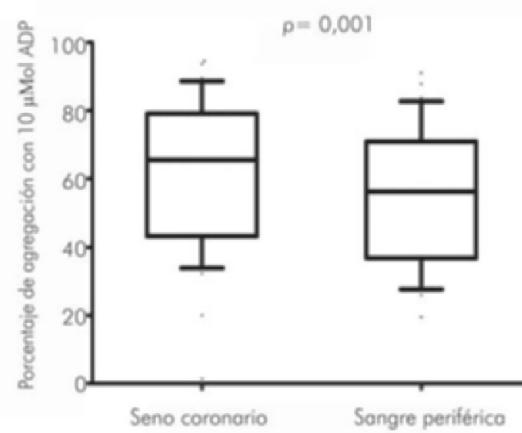


Figura 3. Diferencia en la media de la respuesta ante 10 μ Mol de ADP, evaluados mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica.

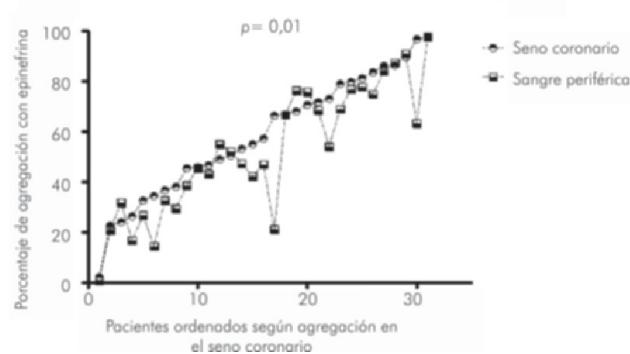
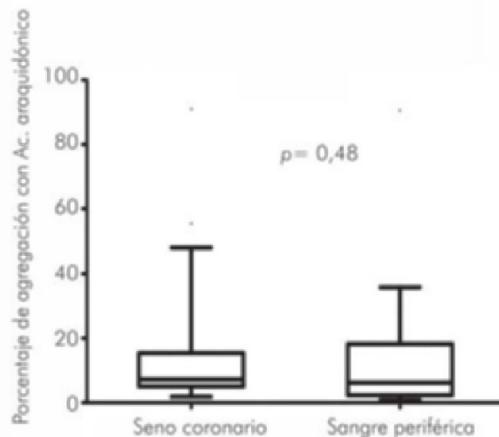
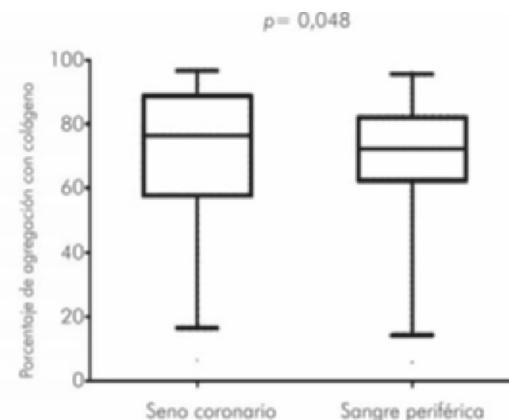
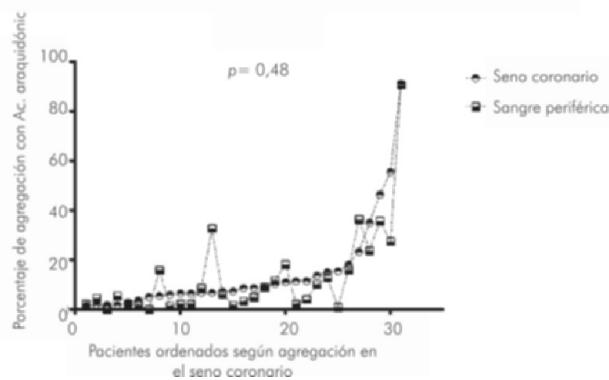


Figura 5. Diferencia en la media de la respuesta ante ácido araquidónico, evaluado mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica.

Figura 8. Respuesta con epinefrina, evaluada mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica; los pacientes se muestran ordenados según la agregación en el seno coronario.

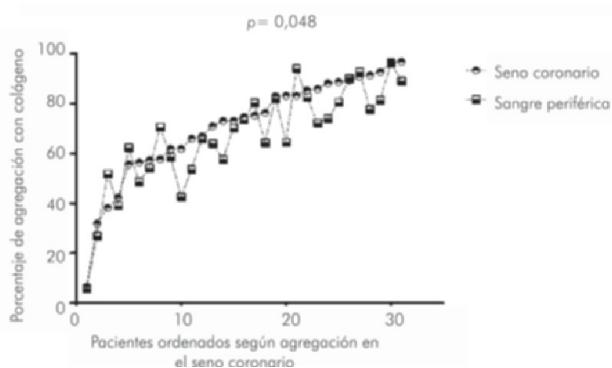


Figura 6. Respuesta con colágeno, evaluada mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica; los pacientes se muestran ordenados según la agregación en el seno coronario.

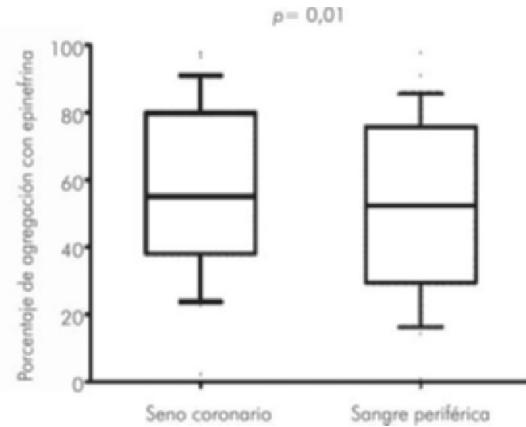


Figura 9. Diferencia en la media de la respuesta ante epinefrina, evaluada mediante LTA en sangre del seno coronario y sangre periférica.

La población general del estudio se dividió en dos grupos en relación con el diagnóstico clínico que motivó el cateterismo de la siguiente manera: 10 pacientes en el grupo de enfermedad estable (angina estable) y 22 en el grupo de enfermedad inestable (síndrome coronario agudo con o sin elevación del segmento ST); los resultados de la agregación plaquetaria en pacientes con enfermedad coronaria estable mostraron un promedio de agregación en el seno coronario con ADP de $69,8\% \pm 21\%$ y en sangre periférica de $63,6\% \pm 22\%$, una diferencia promedio de $6,3\%$ IC 95% de -1,8% a 14,3% ($p = 0,11$, $r = 0,89$), mientras que en enfermedad inestable la agregación con ADP en el seno coronario fue de $58,5\% \pm 22,7\%$ y en sangre periférica de $49,2\% \pm 20\%$, con una diferencia en el promedio de $9,3\%$ con IC 95% de 5,9% a 12,6% ($p = 0,001$, $r = 0,95$) documentándose diferencias significativas para la agregación con ADP (Figura 10). Los resultados con ácido araquidónico en enfermedad estable y enfermedad inestable no mostraron diferencias significativas (Figura 11), diferencia en la media de agregación de 2,3% con IC 95% de -7,3% a 11,9% ($p = 0,59$, $r = 0,90$) en pacientes estables y de 1,72% con IC 95% de -1,65% a 5,1% ($p = 0,29$, $r = 0,75$), lo cual sustenta la presencia de mecanismos biológicos en pacientes con placas inestables y síndrome coronario agudo como otro de los responsables de la variabilidad de la respuesta al clopidogrel de forma local.

En la población de pacientes que recibían Aspirina en el momento de su inclusión en el estudio, se documentó 10% de resistencia tanto en sangre periférica como en sangre del seno coronario. Se evidenció resistencia al

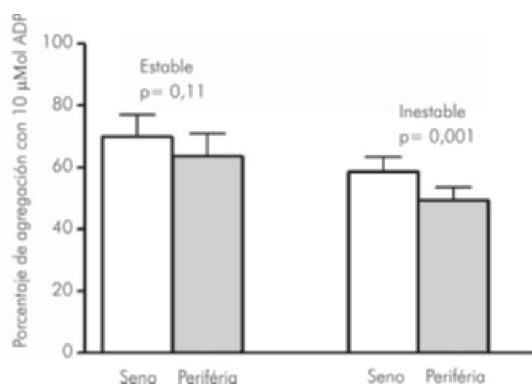


Figura 10. Diferencia en la respuesta ante ADP 10 μ Mol entre el seno coronario y la sangre periférica en pacientes con enfermedad coronaria estable y enfermedad coronaria inestable.

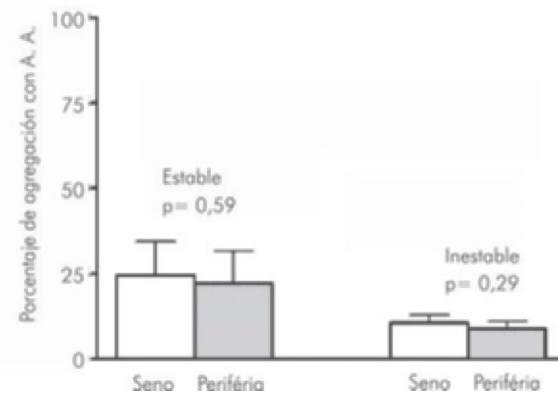


Figura 11. Diferencia en la respuesta ante ácido araquidónico entre el seno coronario y la sangre periférica en pacientes con enfermedad coronaria estable e inestable.

clopidogrel en sangre periférica en 12 (48%) de los 25 pacientes que lo recibían antes del estudio, y en sangre coronaria en 14 (56%) ($p = 0,57$) lo cual permite estimar un rendimiento diagnóstico para la detección de resistencia al clopidogrel con muestras de sangre periférica tomando como patrón de oro el resultado en el seno coronario así: sensibilidad 85%, especificidad 100% y valores predictivos positivo y negativo de 100% y 84%, respectivamente. Sin embargo, es importante destacar que esta aproximación está limitada por el tamaño de la muestra, puesto que el estudio original no se diseñó con el objetivo de resolver esta pregunta de investigación de forma primaria.

Discusión

Por primera vez en la literatura conocida, en este estudio se demostraron diferencias significativas en el resultado de la agregación plaquetaria ante el estímulo con diferentes agonistas plaquetarios medido con LTA en sangre proveniente del seno coronario y sangre extraída de forma simultánea de la circulación periférica en pacientes con enfermedad coronaria severa, diferencia que es significativa en presencia de 10 μ Mol de ADP, epinefrina y colágeno, conservando esta tendencia frente al ácido araquidónico, sin ser estadísticamente significativa. Este resultado prueba la importancia de las placas ateoscleróticas en el fenómeno de activación plaquetaria facilitando el proceso de trombosis coronaria con un estado local de hiperagregabilidad plaquetaria

y disminuyendo la respuesta local a los diferentes antiagregantes utilizados en la práctica clínica. Esta característica descrita en el micro-ambiente coronario de pacientes con enfermedad coronaria severa, resalta la necesidad de enfocarse en lograr una adecuada inhibición en la agregación plaquetaria a nivel local y no sistémico, en especial en aquellos que estén cursando con un síndrome coronario agudo.

Los resultados de la agregación plaquetaria obtenidos en muestras de sangre periférica no reflejan en su totalidad lo que está ocurriendo a nivel coronario. Es claro que la toma directa de sangre en el seno coronario es un procedimiento dispendioso, que requiere habilidades técnicas especiales para su canulación selectiva, aumentando los tiempos de fluoroscopia, sala y volumen de medio de contraste empleado durante el procedimiento diagnóstico, con riesgos inherentes a la manipulación del mismo, por lo cual no se considera un procedimiento rutinario; sin embargo, con base en los resultados obtenidos surge la necesidad de realizar estudios adicionales con el fin de reevaluar el valor de referencia empleado en la actualidad para definir cuál es la respuesta adecuada a los antiagregantes.

Las diferencias en la agregación plaquetaria en las dos muestras tiene la influencia de múltiples factores, los cuales están dados por factores mecánicos derivados de la presencia de obstrucciones coronarias que alteran el flujo laminar en las arterias epicárdicas, derivando en la activación de las plaquetas. No obstante, esta teoría no puede profundizarse con el diseño de este estudio, en consideración a que no se tomó una población control con pacientes sin enfermedad coronaria obstructiva. Otra de las teorías que sustenta este resultado está dada por los niveles elevados de catecolaminas en sangre del seno coronario como se ha documentado previamente (15) y la importancia que éstos tienen en la activación plaquetaria (16), surgiendo esta posibilidad biológica como otro de los factores que explican los resultados obtenidos. La importancia de la superficie de la placa aterosclerótica y su activa interacción con las plaquetas, es un concepto fundamental que sustenta estos resultados. El análisis realizado a los pacientes con enfermedad coronaria estable y a aquellos con enfermedad inestable, demostró diferencias significativas en la respuesta al ADP para pacientes con síndrome coronario agudo, quienes tienen mayor agregación y por consiguiente una respuesta menor a los antiagregantes plaquetarios, lo cual facilita la expansión del fenómeno trombótico dentro de la

arteria comprometida o la extensión a otros territorios vasculares, aumentando así la cantidad de miocardio en riesgo y la posibilidad de eventos fatales. Estos resultados, además, se sustentan en las observaciones previas hechas en diferentes experimentos clínicos como el CURE (7), PCI CURE (8) y CHARISMA (9), en los que el beneficio con el uso de clopidogrel fue mayor en pacientes con síndrome coronario agudo con enfermedad inestable, en pacientes con enfermedad estable es limítrofe y en prevención primaria no se evidencia.

Los resultados descritos hacen énfasis en la importancia de usar en forma temprana la doble antiagregación, en especial para pacientes con síndrome coronario agudo, con el fin de contrarrestar los factores pro-trombóticos que ocurren en las arterias coronarias y limitar el daño, tal como se ha establecido en estudios previos; mantener una adecuada antiagregación plaquetaria es un marcador pronóstico en pacientes con enfermedad coronaria (17). Esta misma observación plantea la necesidad de instaurar terapias antiagregantes locales y sistémicas, tal como se ha propuesto en los estudios previos (18) donde se demostró el beneficio de utilizar terapias antiagregantes como abciximab administrado directamente en el interior de la coronaria durante el cateterismo, para disminuir el tamaño del infarto y resolver la elevación del segmento ST, garantizando el rápido inicio de acción y manteniendo una adecuada antiagregación antes de iniciar la manipulación del endotelio con los diferentes dispositivos endovasculares empleados para la realización de intervenciones percutáneas coronarias (19).

La resistencia al clopidogrel de 48% en sangre periférica y de 56% en sangre del seno coronario, es muy superior al 28% que se reporta en la literatura (20, 21); sin embargo, es importante recordar que se trata de una población seleccionada con enfermedad coronaria severa, de la cual casi 70% cursa con síndrome coronario agudo y de forma simultánea recibe medicamentos como estatinas (22), omeprazol (23) y anticálcicos (24) con capacidad teórica de interactuar con el clopidogrel disminuyendo su actividad antiagregante. Vale recordar que las guías para el tratamiento del síndrome coronario agudo recomiendan que además de mantener una terapia antiagregante doble, todos los pacientes debe recibir estatinas, betabloqueadores y, en algunos casos, anticálcicos, como terapia concomitante por lo cual suspender esta medición para realizar este estudio resulta imposible; igual ocurre con el omeprazol que se encuentra incluido en el

protocolo institucional como protector gástrico de uso rutinario. Estos resultados sólo pueden extrapolarse a poblaciones de alto riesgo y su impacto real en la práctica clínica requiere estudios adicionales en los cuales se evalúe la presencia de desenlaces clínicos y no parámetros para-clínicos como en este estudio.

Limitaciones del estudio

Podría considerarse que la ausencia de un grupo control sin enfermedad coronaria o grupo sano es una limitante del estudio. Pese a ello, la obtención de pacientes control para fines de este estudio, que consuman antiagregantes plaquetarios en ausencia de enfermedad coronaria y sean sometidos a coronariografía y canulación selectiva del seno coronario, no sería una práctica rutinaria ni ética.

Conclusiones

- Ante los diferentes agonistas plaquetarios la agregación plaquetaria es mayor en la sangre obtenida del seno coronario que en la periférica.

- Es mucho mayor la diferencia en la agregación plaquetaria en pacientes con enfermedad coronaria inestable.

- El contacto de las plaquetas con placas ateroscleróticas inestables favorece la activación plaquetaria y genera mayor posibilidad de trombosis coronaria.

- En pacientes con enfermedad coronaria multivaso la medición de los niveles de agregación plaquetaria periférica no revela la situación real en el microambiente coronario.

- En pacientes con enfermedad coronaria severa de múltiples vasos los niveles óptimos de antiagregación periférica deben redefinirse.

Sugerencias clínicas

- En pacientes con enfermedad coronaria inestable o con compromiso de múltiples vasos que sean sometidos a intervención percutánea, es necesario lograr un nivel mayor de antiagregación periférica.

- En pacientes con enfermedad coronaria inestable es conveniente evaluar los impactos de la terapia antiagregante de forma local y no sistémica.

- Se plantea la importancia de evaluar la relevancia y el impacto clínico de la administración de antiagregantes de forma local en el microambiente coronario de pacientes sometidos a intervencionismo.

- Se requieren estudios adicionales en los cuales se evalúe el impacto clínico de estos resultados.

Bibliografía

1. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008; 359: 938-49.
2. Boersma E, Mercado N, Poldermans D, et al. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2003; 361: 847-58.
3. Fuster V. Elucidation of the role of plaque instability and rupture in acute coronary events. *Am J Cardiol* 1995; 76: 24C-33C.
4. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-94.
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-95.
6. Wagner DD, Burger PC. Platelets in inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 2131-7.
7. Mehta SR, Yusuf S. The Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) trial programme; rationale, design and baseline characteristics including a meta-analysis of the effects of thienopyridines in vascular disease. *Eur Heart J* 2000; 21: 2033-41.
8. Steinhubl SR, Berger PB, Topol EJ, et al. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 2411-20.
9. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354 (16): 1744-6.
10. Diener HC, Bogousslavsky J, Rupprecht HJ, et al. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364 (94): 331-7.
11. Gasperetti C, Gonias S, Gimple L, Powers E. Platelet activation during coronary angioplasty in humans. *Circulation* 1993; 88: 2728-34.
12. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* 2000; 83: 361-6.
13. Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story. *Circulation* 2004; 109: 3064-7.
14. Ajzenberg N, Aubry P, Huisse MG, et al. Enhanced shear-induced platelet aggregation in patients who experience subacute stent thrombosis: a case-control study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1753-6.
15. Serrano C, Rocha R, Ramírez R, et al. Platelet and leukocyte adhesion and activation in unstable angina and post-PTCA. *Int J Cardiol* 2005; 99: 423-8.
16. Larsson PT, Wallen NH, Hjemdahl P. Norepinephrine-induced human platelet activation in vivo is only partly counteracted by aspirin. *Circulation* 1994; 89: 1951-7.
17. Alfonso F, Angiolillo DJ. Platelet function assessment to predict outcomes after coronary interventions: hype or hope? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1751-4.
18. Thiele H, Friedenberger J, Schuler G, et al. Intracoronary compared with intravenous bolus abciximab application in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: the randomized Leipzig immediate percutaneous coronary intervention abciximab IV versus IC in ST-elevation myocardial infarction trial. *Circulation* 2008; 118 (1): 6-8.
19. Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, et al. Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1742-50.
20. Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story. *Circulation* 2004; 109: 3064-7.
21. Gurbel PA, Bliden KP, Tantry US, et al. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1392-6.
22. Müller I, Besta F, Schulz C, et al. Effects of statins on platelet inhibition by a high loading dose of clopidogrel. *Circulation* 2003; 108: 2195-7.
23. Gurbel PA, Wei LC, Udaya TS. Omeprazole: a possible new candidate influencing the antiplatelet effect of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 261-3.
24. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004; 109: 166-71.