

### Respuesta variable a la inhibición biológica de las plaquetas por abciximab en pacientes sometidos a revascularización coronaria percutánea

Guillermo Galeote, Ángela López Pastor\*, Cristina Cárcamo\*, Nicolás Sobrino, Luis Calvo, Soledad García Muñoz\*, Monzer Hussein, José L. Fernández-Chacón\* y José A. Sobrino

Laboratorio de Cardiología Intervencionista y \*Servicio de Hematología analítica.  
Hospital Universitario La Paz. Madrid.

**Introducción y objetivo.** La utilización de abciximab ha demostrado reducir el riesgo de complicaciones trombóticas en el contexto de la angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP). Sin embargo, todavía quedan aspectos por resolver. Se han estudiado varios aspectos biológicos de la acción del abciximab sobre las plaquetas en la ACTP.

**Métodos.** Se determinó el grado de inhibición plaquetaria con adenosín difosfato (ADP) a concentraciones de 5 y 20  $\mu\text{mol/l}$ , el tiempo de obturación que mide la capacidad hemostática de las plaquetas (PFA-100) y los marcadores de activación plaquetaria en 15 pacientes sometidos a angioplastia coronaria basalmente, a los 15 min, al finalizar la intervención y a las 24 h de ser tratados con abciximab.

**Resultados.** Un total de 13 pacientes tuvieron más de un 80% de inhibición de la agregación plaquetaria durante el procedimiento, pero sólo dos la mantenían a las 24 h ( $p < 0,05$ ). El tiempo de obturación fue  $>$  de 300 s en 13 pacientes durante el procedimiento, normalizándose a las 24 h en seis ( $p < 0,05$ ). Hubo buena correlación ( $p = 0,02$ ) entre estos 2 parámetros durante la intervención, pero no se mantuvo a las 24 h. En 2 pacientes no se produjo ningún grado de inhibición ni de cambios en el tiempo de obturación a lo largo del estudio. La expresión de P-selectina aumentó significativamente durante la intervención ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** La variabilidad en la inhibición de la función plaquetaria y la existencia de activación circulante durante la intervención hace considerar la necesidad de realizar un control analítico precoz tras la administración de abciximab, con objeto de poder modificar su pauta para optimizar su acción o asociarlo a otro agente anti-trombótico.

**Palabras clave:** Angioplastia coronaria. Inhibidores agregación plaquetaria. Plaquetas.

(Rev Esp Cardiol 2001; 54: 1256-1263)

### Variable Response to the Biological Inhibition of Platelets by Abciximab in Patients Subjected to Percutaneous Coronary Angioplasty

**Introduction and objectives.** Abciximab has been shown to reduce the risk of thrombotic complications during coronary angioplasty, however there are still many aspects to be resolved. The aim of this study was to investigate the various biological effects of abciximab on platelets during coronary angioplasty.

**Methods.** The degree of platelet inhibition (with 5 and 20  $\mu\text{mol/l}$  concentrations of ADP), occlusion time (measurement of platelet haemostatic capacity, PFA-100), and the platelet activation markers were determined in 15 patients who underwent basal coronary angioplasty and abciximab treatment. Determinations were obtained before, 15 minutes after procedure initiation, at procedure termination, and 24 hours after procedure termination.

**Results.** More than 80% platelet aggregation inhibition was observed in 13 patients during the procedure, but after 24 hours ( $p < 0.05$ ) was only detected in two. The occlusion time during the procedure was  $>$  300 sec. in 13 patients, 6 of whom evolved to normal values after 24 hours ( $p < 0.05$ ). A high correlation ( $p = 0.02$ ) was found between these two parameters during the intervention, but not after 24 hours. No platelet inhibition or occlusion time changes were observed in 2 patients during the study. The expression of p-selectin increased significantly during the procedure ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** The variability of platelet function inhibition and existence of circulating activation during coronary angioplasty following the administration of abciximab support the use of early analytical controls with the objective of modifying guidelines for use in order to optimize its effect or to combine it with other antithrombotic agents.

**Key words:** Coronary angioplasty. Platelet inhibition aggregation. Platelet.

(Rev Esp Cardiol 2001; 54: 1256-1263)

Correspondencia: Dra. A. López Pastor.  
Servicio de Hematología analítica.  
Hospital Universitario la Paz.  
P.º de la Castellana, 261. 28046 Madrid.  
Correo electrónico: guigaleote@teleline.es

VER EDITORIAL PÁGS. 1251-1253

Recibido el 3 de enero de 2001.  
Aceptado para su publicación el 27 de marzo de 2001.

**ABREVIATURAS**

ADP: adenosín difosfato.  
 TO: tiempo de oclusión.  
 TO Col-E: tiempo de oclusión con bitartrato de adrenalina.  
 TO Col-ADP: tiempo de oclusión con ADP.  
 PRP: plasma rico en plaqueta.  
 PPP: propio plasma pobre.  
 AcMo: anticuerpos monoclonales.

**INTRODUCCIÓN**

La utilización de antagonistas del receptor GP IIb/IIIa es actualmente frecuente en el laboratorio de cateterismo, ya que han conseguido reducir de forma muy importante las complicaciones isquémicas tras revascularización coronaria percutánea<sup>1-5</sup>. La posibilidad de valorar la función de las plaquetas en el laboratorio de cateterismo contribuiría a optimizar la terapia antiplaquetaria para cada paciente con objeto de obtener el máximo beneficio con el mínimo riesgo. Por distintos mecanismos según su naturaleza, estos agentes bloquean la unión del fibrinógeno plasmático al receptor de las plaquetas, activado por el contacto con las sustancias trombogénicas subendoteliales que se exponen a la circulación tras la rotura mecánica de la placa de aterosclerosis y la introducción de material exógeno durante el procedimiento<sup>6-8</sup>. Esto impide que se establezcan puentes de fibrinógeno entre las plaquetas y, por tanto, que se formen agregados, que son la base estructural y bioquímica para el desarrollo de un trombo, el cual puede ocluir total o parcialmente la luz del vaso y microembolizar distalmente, comprometiendo los resultados de la intervención<sup>9-11</sup>.

Estudios realizados con muestras reducidas de pacientes basándose en el bloqueo del receptor GP IIb/IIIa, la inhibición de la agregación plaquetaria, el desarrollo de trombos y las características farmacológicas de cada antagonista, han establecido pautas estandarizadas de tratamiento para cada uno de ellos<sup>12-16</sup>.

No obstante, a pesar de los buenos resultados generales conseguidos como grupo terapéutico se ha observado que existen no sólo diferencias farmacológicas entre ellos, sino variaciones interindividuales en su acción biológica sobre las plaquetas, cuya repercusión clínica no se conoce con exactitud<sup>17-19</sup>.

Por otro lado, la utilización actual de los antagonistas del receptor GP IIb/IIIa en períodos de tiempo más largos que el de la angioplastia, como es el síndrome coronario agudo, y su empleo por vía oral o transdermal en la prevención secundaria de las complicaciones isquémicas a largo plazo en la enfermedad aterosclerótica, actualmente en ensayos en fase III y IV, ha hecho plantearse si estas variaciones interindividuales en la inhibición funcional de las plaquetas pueden hacer ne-

cesario un control analítico para establecer un nivel óptimo de eficacia y seguridad con estos agentes<sup>20-22</sup>.

El objetivo de este trabajo ha sido valorar, en pacientes sometidos a procedimientos de revascularización percutánea y tratados con fragmento quimérico del anticuerpo monoclonal 7E3 contra el receptor GPIIb/IIIa (abciximab)<sup>23</sup>, su acción sobre algunos aspectos biológicos de las plaquetas. Por un lado, la reactividad de éstas a la acción de distintos agonistas y, por otro, el estado de activación de las plaquetas circulantes para así poder tener un mejor conocimiento en la utilización de estos nuevos agentes antiplaquetarios.

**PACIENTES Y MÉTODOS****Pacientes**

Diseñamos entre el laboratorio de cateterismo y el servicio de hematología de nuestro hospital un estudio biológico, prospectivo, en el que se incluyeron 15 pacientes, 14 varones y una mujer, con una edad media de 67 años (rango, 40-77). La indicación de angioplastia fue angina inestable en ocho, IAM sin onda Q en dos e IAM con onda Q en cinco. Todos los pacientes antes del procedimiento estaban en tratamiento habitual con ácido acetilsalicílico (AAS), excepto uno que estaba siendo tratado con ticlopidina por intolerancia a la aspirina. Ningún paciente había sido tratado previamente con inhibidores GP IIb/IIIa o con heparina. Se excluyeron del estudio aquellos pacientes que tenían antecedentes de sangrado o intervención quirúrgica reciente.

El procedimiento consistió en angioplastia con *stent* y se realizó de manera estándar por punción percutánea femoral derecha. Todos los pacientes, antes de comenzar el procedimiento recibieron 500 mg de AAS intravenoso, 70 U/kg de heparina sódica intravenosa y abciximab en bolo de 0,25 mg/kg seguido de infusión de 0,125 mg/kg/min durante 12 h. Todos los pacientes, al finalizar el procedimiento, recibieron ticlopidina, 500 mg vía oral, que se continuó durante un mes, junto a AAS, 200 mg. Los introductores fueron retirados a las 5 h previa comprobación de normalización del tiempo de cefalina.

**Métodos**

Se recogieron muestras de sangre arterial basalmente antes de administrar la medicación, a los 15 min de administrada la heparina y el bolo de abciximab y al finalizar el procedimiento. Por último se realizó la última extracción de sangre venosa a las 24 h del procedimiento.

De cada muestra se recogieron 10 ml de sangre en tubos con citrato sódico 0,129 mol/l, equivalente a 3,8% de citrato sódico (Vacutainer, Becton-Dickinson) para la agregación plaquetaria y el análisis de la capa-

cidad hemostática global de las plaquetas (analizador PFA-100®). Otros 4 ml de sangre recogidos en tubos con EDTA tripotásico se destinaron al hemograma y, finalmente, 2 ml de sangre recogida sobre citrato sódico 0,129 mol/l fueron inmediatamente mezclados con un volumen equivalente de paraformaldehído al 1% para el estudio de citometría de flujo<sup>24</sup>.

En cada muestra de sangre se analizaron los siguientes parámetros:

1. Recuento de plaquetas, leucocitos y hemoglobina en un autoanalizador hematológico CellDynn-4000 (Abbott Diagnósticos).

2. Para valorar la función de las plaquetas y estudiar su capacidad hemostática global se utilizó el analizador PFA-100® (Dade-Boehring). Este sistema está diseñado para medir la adhesión y la agregación plaquetaria en sangre total con unas condiciones determinadas de flujo. Se basa en la medida del tiempo que tarda en ocluirse (TO), por la acción de 10 µg de bitartrato de adrenalina (TO Col-E) o 50 µg de ADP (TO Col-ADP), un poro de 150 µm de diámetro que se ha practicado en una membrana impregnada con 2 µg de colágeno tipo I al pasar a su través sangre total anticoagulada a altas fuerzas de cizallamiento (5.000-6.000 s<sup>-1</sup>)<sup>25,26</sup>. Dado que la membrana con adrenalina está diseñada para ser sensible a los pacientes que toman AAS, mientras que la de ADP no lo está, en este trabajo se empleó sólo la membrana con ADP para no enmascarar los resultados. Esta determinación se realizó en un período de tiempo inferior a 2 h desde la extracción de la sangre.

3. La agregación plaquetaria se realizó en plasma rico en plaquetas (PRP) según el método clásico de Born<sup>27</sup> en un agregómetro Bio Dade PAP4. El PRP se preparó centrifugando sangre total citratada a 200 g durante 10 min a temperatura ambiente. El número de plaquetas se ajustó entre 200-300 × 10<sup>9</sup> l con su propio plasma pobre (PPP) obtenido al centrifugar parte del plasma a 2.000 g durante 15 min. Como agente activador se utilizó ADP a las concentraciones finales de 5 y 20 µmol/l porque la relación de su receptor en la membrana de las plaquetas con el complejo IIb/IIIa<sup>28,29</sup> ha hecho que sea el agente activador predominantemente empleado en los estudios para valorar la acción antiagregante de los antagonistas de este complejo. Se registró el porcentaje máximo de agregación a los 4 min de añadir el agonista. Los cambios en las distintas determinaciones se expresaron como porcentajes de inhibición según la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = (\%A_0 - \%A_{1,2,3}) / \%A_0 \times 100$$

en donde A<sub>0</sub> es la agregación basal y A<sub>1,2,3</sub> es la agregación realizada en cada determinación. Con el fin de eliminar en la expresión de los resultados los efectos de la toma habitual de cualquier medicación antiagregante se consideró arbitrariamente que la inhibición en la determinación basal era 0; de esta manera, los incre-

mentos de inhibición de la agregación que se produjesen serían debidos exclusivamente a los agentes antiplaquetarios que se utilizasen en la intervención.

4. Para el estudio de la activación plaquetaria por citometría de flujo se emplearon anticuerpos monoclonales (AcMo) comerciales de ratón con especificidad contra las plaquetas humanas, conjugados con fluorocromos adecuados. Los AcMo usados fueron glucoforina (marcador eritrocitario), CD45 (marcador panleucocitario), CD61 (marcador panplaquetario) y CD62-p (P-selectina). Como controles negativos se usaron AcMo irrelevantes específicos de isotipo (todos los AcMo usados fueron suministrados por Becton & Dickinson). Se utilizó el citómetro de flujo FACScan® (Becton-Dickinson) para medir las plaquetas marcadas con los AcMo, utilizando amplificación logarítmica y una velocidad lenta de adquisición. Antes de las medidas de citometría, el aparato fue alineado ópticamente con el programa de calibración Cafibrite® (Becton-Dickinson). La velocidad de adquisición fue de 1.300 partículas/s y se registraron 15.000 acontecimientos para cada marcaje. Las plaquetas se identificaron como las partículas marcadas glucoforina/CD45/CD61<sup>30</sup>.

## Método estadístico

Debido a que los datos analizados no seguían una distribución normal se emplearon ensayos no paramétricos como el test de Friedman para medidas repetidas y la U de Mann Whitney para las comparaciones entre grupos, mientras que las correlaciones se establecieron con el test de Spearman. Los valores de TO Col-ADP superiores a 300 s y que el sistema PFA-100® no determinaba cuantitativamente por estar fuera de su escala se consideraron de manera arbitraria como iguales a 301 s para su manejo estadístico. Se consideraron como significativos los valores con una p < 0,05.

## RESULTADOS

En la determinación basal, el tiempo de oclusión con ADP (TO Col-ADP) de los pacientes estaba dentro de los límites de la normalidad (mediana, 91; rango, 52-118 s) aunque todos ellos llevaban un tratamiento antiagregante de forma habitual. En las determinaciones a los 15 min de administrado el bolo de abciximab y al finalizar la intervención, 13 de los 15 pacientes presentaron valores de TO Col-ADP por encima de 300 s (mediana, 301 s; rango, 67-301 s y mediana, 301 s; rango, 91-301 s, respectivamente). A las 24 h, 6 pacientes tenían ya valores dentro de los rangos normales y la mediana del grupo estaba en 155 s (rango, 64-301 s). En 2 pacientes los valores de TO Col-ADP se mantuvieron dentro del rango normal a lo largo de todo el estudio. Los cambios de este parámetro en el tiempo fueron significativos (p < 0,05) (fig. 1).

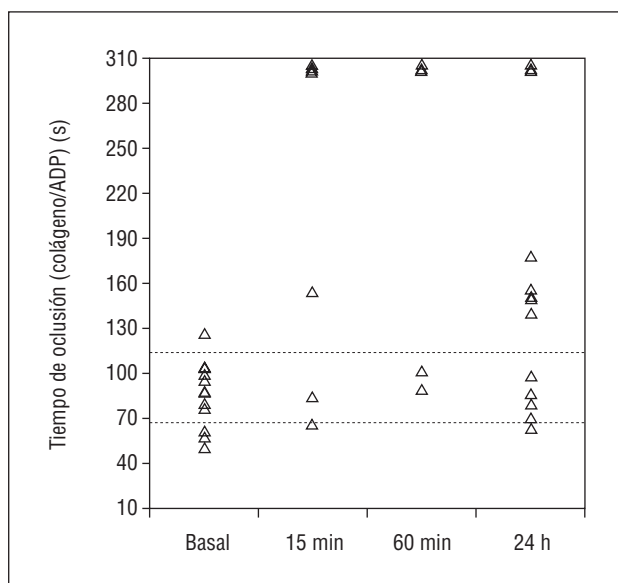


Fig. 1. Tiempo de oclusión colágeno/ADP en segundos en las 4 determinaciones del estudio.

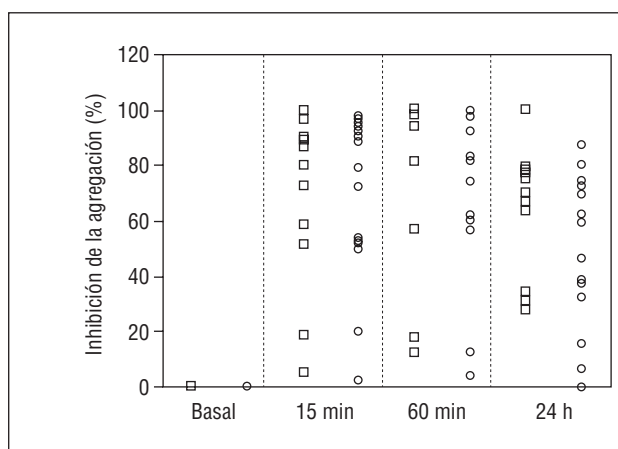


Fig. 2. Porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria. Los cuadrados representan el porcentaje de inhibición usando como agonista ADP 5 µmol/l y los círculos ADP 20 µmol/l.

Los resultados de la agregación plaquetaria inducida por ADP 5 y 20 µmol/l ponen de manifiesto también cambios significativos en el grupo total de pacientes ( $p < 0,05$ ). A los 15 min de administrado el bolo de abciximab y al finalizar la intervención, la inhibición de la agregación inducida por ADP 5 µmol/l presentó una mediana del 88% (rango, 5-100%) y de 100% (rango, 12-100%), respectivamente, disminuyendo a las 24 h hasta una mediana del 75% (rango, 27-100%) (fig. 2). Cuando se utilizó ADP 20 µmol/l, los valores de la mediana fueron de 84% (2-97%), 83% (4-100%) y 59% (0-87%) a los 15 min, al finalizar la intervención y a las 24 h, respectivamente (fig. 2). Los 2 pacientes cuyo tiempo de oclusión se mantuvo siempre dentro de valores normales no mostraron

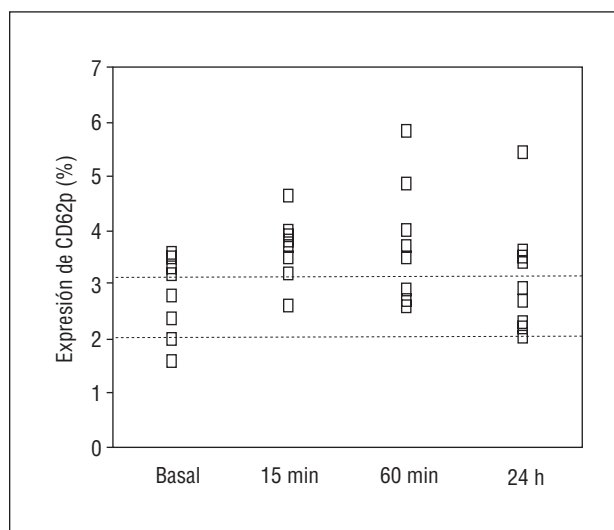


Fig. 3. Porcentaje de expresión del marcador de activación plaquetaria P-selectina.

TABLA 1. Valores de la mediana y rangos de los distintos parámetros

Parámetro	Mediana	Mínimo	Máximo
TO Col-ADP basal (s)	91	52	128
TO Col-ADP 15 min (s)	301	67	301
TO Col-ADP 60 min (s)	301	91	301
TO Col-ADP 24 h (s)	155	64	301
Inhibición agregación ADP µM 15 min (%)	88	5	100
Inhibición agregación ADP µM 60 min (%)	100	12	100
Inhibición agregación ADP µM 24 h (%)	75	27	100
Inhibición agregación ADP µM 15 min (%)	84	2	97
Inhibición agregación ADP µM 60 min (%)	83	4	100
Inhibición agregación ADP µM 24 h (%)	59	0	87
CD62-P basal (%)	2,80	1,6	3,6
CD62-P 15 min (%)	3,75	2,6	4,6
CD62-P 60 min (%)	3,50	2,6	5,8
CD62-P 24 h (%)	2,90	2,0	5,4

TO-Col ADP (tiempo de oclusión colágeno/ADP. CD62-P (P-selectina).

ron cambios significativos en la agregación plaquetaria. El TO Col-ADP y la inhibición de la agregación plaquetaria inducida por ADP 5 y 20 µmol/l presentaron una correlación significativa ( $p = 0,02$ ) en las muestras extraídas a los 15 min tras el bolo de abciximab, pero no se correlacionaron ( $p = 0,092$ ) al finalizar la intervención. A las 24 h tampoco había correlación entre estos dos parámetros.

Los valores basales de P-selectina aumentaron a los 15 min de administrado el bolo de abciximab y al finalizar el procedimiento, para descender a valores casi normales a las 24 h. Estos cambios presentaron significación estadística ( $p < 0,05$ ) (fig. 3).

Los valores numéricos de estos parámetros se exponen en la tabla 1.



En el hemograma no se detectaron cambios significativos después del tratamiento con abciximab.

En todos los pacientes la angioplastia se completó con éxito, excepto en uno, que pasó a cirugía urgente de revascularización por quedarse un *stent* no expandido dentro del árbol coronario. Perintervención y antes del alta hospitalaria ninguno de los pacientes presentó episodios hemorrágicos o trombóticos. Uno de los pacientes en los que no se consiguió un adecuado nivel de inhibición de la agregación plaquetaria continuó con episodios de dolor torácico después del procedimiento, decidiéndose heparinización intravenosa y controlándose los síntomas.

## DISCUSIÓN

La introducción de antagonistas GP IIb/IIIa como agentes terapéuticos en el laboratorio de cateterismo y en el tratamiento de síndromes coronarios agudos ha demostrado un claro beneficio clínico. Sin embargo, hay varias cuestiones que todavía no están bien aclaradas. Entre otras, si hay variabilidad interindividual en respuesta a las dosis estandarizadas de estos agentes o si esta variabilidad persiste a lo largo del tiempo de infusión. Respecto a los controles biológicos, todavía hay dudas respecto al parámetro que mejor nos indicaría la efectividad de estos tratamientos (concentraciones del fármaco en plasma, número de receptores IIb/IIIa ocupados, porcentaje de receptores bloqueados), cuál sería el mejor agonista (colágeno, ADP, otros) para la valoración de la agregación plaquetaria y a qué concentración (5 o 20  $\mu\text{mol/l}$ ) y si en el futuro se pudiese monitorizar estos tratamientos en el laboratorio de hemodinámica o en la unidad coronaria de una manera rápida, barata y sencilla. En este trabajo hemos estudiado algunos aspectos biológicos de la acción del abciximab sobre las plaquetas en pacientes sometidos a intervención coronaria.

Abciximab (C7E3 Fab) es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra el receptor GP IIb/IIIa y es el primer antagonista de dicho receptor desarrollado y utilizado en clínica<sup>23,31</sup>. Se trata de una molécula grande (50 kDa) que bloquea de manera no específica, quizá por impedimento estérico, pero con gran afinidad<sup>32,33</sup>, la unión del fibrinógeno al receptor GP IIb/IIIa y también la de otros ligandos, como la fibronectina, la vitronectina y el factor von Willebrand (vW)<sup>34</sup>.

Se ha demostrado la existencia de una importante correlación entre el bloqueo de los receptores GP IIb/IIIa por parte de este agente y la inhibición de la agregación de las plaquetas<sup>35</sup>, estableciéndose que la eficacia anti-trombótica en los procedimientos de revascularización coronaria percutánea se consigue cuando se alcanza más del 80% de bloqueo de los receptores GP IIb/IIIa por el antagonista<sup>29,36-39</sup>.

El análisis de nuestros resultados demuestra que la mayoría de los pacientes tratados tienen una inhibición

del 80% de la agregación de las plaquetas después del bolo de abciximab y al finalizar la intervención, tanto cuando se induce con ADP 5 o 20  $\mu\text{mol/l}$ . Sin embargo, a las 24 h sólo el 20 y el 15%, respectivamente, de los pacientes presentaron este grado de inhibición y dos de ellos (13%) no presentaron ninguna a lo largo de todo el estudio. Esta importante variabilidad interindividual indicaría que en un determinado número de pacientes no habríamos conseguido el objetivo biológico de inhibir la agregación plaquetaria a concentraciones eficaces a las 24 h y en dos en ningún momento. La variación en la respuesta al bloqueo de los receptores por parte de los antagonistas del complejo GP IIb/IIIa ha sido atribuida a diferencias en el número de plaquetas, densidad de receptores, competencia intrínseca funcional, valores de cofactores plasmáticos y características de la propia intervención coronaria<sup>40-43</sup>, sin que todavía esté definida la importancia de cada uno de estos factores. Aunque ninguno de ellos ha sido estudiado en este trabajo, dada la complejidad técnica de algunos, sí consideramos que deben ser el objetivo de otros en el futuro.

En cuanto a la acción de abciximab sobre la interacción de las plaquetas en el sistema PFA-100®, encontramos que se produce una gran prolongación del TO Col-ADP mayor de 300 s a los 15 min y al finalizar la intervención en el 86% de nuestros pacientes, y a las 24 h todavía el 66% tenía valores anormales de este parámetro. Los 2 pacientes que no presentaron cambios en la agregación plaquetaria mantuvieron valores normales del TO Col-ADP en todo el estudio.

Estos resultados reflejan la inhibición que produce abciximab no sólo sobre la activación de las plaquetas por el colágeno y el ADP de la membrana, sino por las altas fuerzas de cizalla del sistema PFA-100®. De algún modo se reproducen las condiciones de flujo de una arteria estenosada, siendo por sí solas potentes agonistas de la agregación plaquetaria<sup>44,45</sup>. En estas condiciones hemodinámicas, el factor vW se une al receptor GP IIb/IIIa y es el que establece los puentes interplaquetarios<sup>46,47</sup>, a diferencia del fibrinógeno, que los establece con fuerzas de cizalla bajas<sup>48</sup>. Por tanto, las variaciones encontradas en este parámetro en nuestros pacientes tratados con abciximab pueden deberse no sólo a factores plaquetarios, sino al factor vW plasmático que está considerado como un factor de riesgo trombótico<sup>49</sup>. Aunque es necesario estudiar un mayor número de pacientes para establecer conclusiones prácticas, estos resultados podrían justificar la necesidad de monitorización intraoperatoria en el laboratorio de hemodinámica para conocer el grado de efectividad biológica del tratamiento. Además, la posibilidad de saber el grado de inhibición de la agregación de las plaquetas una vez terminada la infusión de abciximab ayudaría a determinar el riesgo hemorrágico sabiendo que por debajo del 50% de inhibición éste es bajo. En nuestro grupo de pacientes todavía el 20% tenía más

del 80% de inhibición 12 h después de suspendida la infusión.

La inhibición de la agregación de las plaquetas y el aumento del TO Col-ADP se correlacionan en los momentos del procedimiento donde hay la mayor concentración de abciximab en sangre, indicando que, aunque explorando distintos aspectos del funcionalismo de las plaquetas, ambas técnicas pueden valorar la acción de este antagonista cuando se produce un bloqueo importante de los receptores IIb/IIIa<sup>50</sup>. A las 24 h se encontró una recuperación menor en el tiempo de oclusión que en la inhibición de la agregación plaquetaria, con pérdida de la correlación entre ambas técnicas. Esto podría explicarse por el diferente tipo de muestra utilizado, sangre total o PRP, y su manipulación<sup>51</sup> y/o por la poca capacidad discriminativa del sistema PFA-100<sup>®</sup> cuando se reduce el bloqueo de receptores por debajo del 60%<sup>52</sup>.

Otro aspecto estudiado en nuestros pacientes ha sido la activación de las plaquetas circulantes reflejada por la expresión de P-selectina, glucoproteína de 140 kDa localizada en los gránulos de las plaquetas que tiene la propiedad de translocarse a la membrana plasmática celular cuando la plaqueta se activa<sup>53</sup>. Se han encontrado concentraciones elevadas de expresión de P-selectina de las plaquetas en diversas situaciones clínicas asociadas a trombosis arterial<sup>54-58</sup>. Su acción, además de indicar activación, es la de mediar en la interacción de las plaquetas activadas con las células endoteliales asimismo activadas, los neutrófilos y los monocitos, contribuyendo a la relación de las células hemáticas con la pared del vaso<sup>59</sup>. Recientemente se ha señalado el papel que tendría la P-selectina en la agregación de las plaquetas producida por grandes fuerzas de cizalla<sup>60</sup>, que es independiente de la agregación asociada a cambios en el receptor IIb/IIIa. Nuestros pacientes no tenían basalmente aumentada la expresión de la P-selectina, como refieren otros investigadores<sup>57</sup>, lo que podría deberse al escaso número de pacientes diagnosticados de IAM con onda Q en nuestro grupo (5/15), a diferencia de lo que ocurre con dichos autores. Sin embargo, a los 15 min de la intervención y al final de ésta se produjo un aumento significativo de este marcador de activación plaquetario que descendió a las 24 h pero sin alcanzar los valores iniciales. Esto parece indicar que el tratamiento con abciximab no inhibe completamente el funcionalismo plaquetario en este tipo de intervención y, como refieren Gawaz et al<sup>43</sup>, en algunos pacientes la rotura de la placa y la colocación de los *stents* endovasculares pueden ser muy trombogénicos y la acción de la trombina liberada sobre las plaquetas puede sobrepasar la de los antagonistas del receptor GP IIb/IIIa.

## LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Aunque este estudio no fue diseñado para evaluar las consecuencias clínicas de no alcanzar un 80% de

inhibición de la agregación plaquetaria, entre otras razones por el limitado número de pacientes, otros estudios<sup>17</sup> han señalado el aumento de acontecimientos coronarios en estos enfermos.

## CONCLUSIONES

Existe una importante variabilidad interindividual en la respuesta a la inhibición plaquetaria de nuestros pacientes tratados con abciximab, tanto expresada como inhibición de la agregación residual como por el aumento del tiempo de obturación medido por el analizador PFA-100<sup>®</sup> y, como se indica en el estudio GOLD<sup>61</sup>, esta variabilidad plantea la necesidad de establecer e identificar por algún método el límite inferior efectivo de inhibición plaquetaria en cada individuo, para optimizar su uso en las intervenciones de revascularización coronaria. El sistema PFA-100<sup>®</sup> detecta de una manera sencilla y rápida las concentraciones elevadas de inhibición funcional de las plaquetas por abciximab, así como las «resistencias» biológicas a este agente antiplaquetario.

El aumento en la expresión de la P-selectina durante el procedimiento hace pensar que en algunas de estas intervenciones, en las que se presuponga un riesgo trombotico sobreañadido (IAM con fibrinólisis, dificultad y prolongación de la intervención, factores protrombóticos en el paciente, etc.), habría que considerar la utilización, junto con los antagonistas del receptor GPIIb/IIIa, de otros agentes antitrombóticos, como los inhibidores directos de la trombina y los antagonistas de la P-selectina<sup>57</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The EPIC investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high risk coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 30: 956-961.
2. The EPILOG investigators. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade in low -dose heparin during percutaneous coronary revascularization. *N Engl J Med* 1997; 336: 1689-1696.
3. Tcheng JE, Harrington RA, Kottke-Marchant K, Kleima NS, Ellis SG, Kereiakes DJ et al. Multicenter, randomized, double-blind placebo controlled trial of the platelet integrin glycoprotein IIb/IIIa blocker integrilin in elective coronary intervention. *Circulation* 1995; 91: 2151-2157.
4. The IMPACT-II investigators. Randomized placebo-controlled trial of eptifibatid on complications of percutaneous coronary intervention. *Impact-II. Lancet* 1998; 349: 1422-1428.
5. The RESTORE investigators. Effects of platelet glycoprotein blockade with tirofiban on adverse cardiac events in patients with unstable angina or acute myocardial infarction undergoing angioplasty. *Circulation* 1997; 96: 1445-1453.
6. Phillips DR, Charro IF, Parise LV, Fitzgerald IA. The platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa complex. *Blood* 1988; 71: 831-843.

7. Topol EJ, Byzova TV, Plow EF. Platelet GpIIb/IIIa blockers. *Lancet* 1999; 353: 227-231.
8. Steele PM, Chesebro JH, Stanson AW, Holins DR, Dewanjee MK, Badimon L et al. Balloon angioplasty: natural history of pathological response to injury in a pig model. *Circ Res* 1985; 57: 105-112.
9. Falk E. Coronary thrombosis: pathogenesis and clinical manifestations. *Am J Cardiol* 1991; 68: 28B-35B.
10. Uren NG, Crake T, Legroy DC, De Silva R, Davies GJ, Maseri A et al. Reduced coronary vasodilator function in infarcted and normal myocardium after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1994; 331: 222-227.
11. Chen LY, Nichols WW, Hendricks JB, Yang BC, Metha JL. Monoclonal antibody to P-Selectin (PB1,3) protects against myocardial reperfusion injury in the dog. *Cardiovas Res* 1994; 28: 1414-1422.
12. Collier BS, Scudder LE, Beer J, Gold HK, Folts JD, Cavagnaro J et al. Monoclonal antibodies to platelet glycoprotein IIb/IIIa as antithrombotic agents. *N Y Acad Sci* 1991; 614: 193-213.
13. Edit Horton MA. Preclinical development of c7E3 Fab, a mouse/human chimeric monoclonal antibody fragment that inhibits platelet function by blockade of GpIIb/IIIa receptors with observations on the immunogenicity of c7E3 Fab in humans. In *Adhesion Receptors as Therapeutic Targets*. Nueva York, Londres, Tokyo: CRC Press, 1998; 281-306.
14. Barret JS, Murphy G, Peerlink K, De Lepelier Y, Gould RJ, Panebianco D et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of MK-383, a selective non-peptide platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist in healthy men. *Clin Pharmacol Ther* 1994; 56: 377-388.
15. Harrington RA, Kleiman NS, Kottke-Marchant K, Lincoff AM, Tchong JE, Sigmon KN et al. Immediate and reversible platelet inhibition after intravenous administration of a peptide glycoprotein IIb/IIIa inhibitor during percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1222-1227.
16. Cook NS, Kottirsch G, Zerwis HG. Platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists. *Drugs of future* 1994; 19: 135-159.
17. Steinhubl SR, Kottke-Marchant K, Moliterno DJ, Rosenthal ML, Gondfrey NK, Collier BS et al. Attainment and Maintenance of platelet inhibition through standard dosing of Abciximab in diabetic and nondiabetic patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Circulation* 1999; 100: 1977-1982.
18. Kleiman NS, Raizner AE, Jordan R, Wang AL, Norton D, Mace KF et al. Differential inhibition of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate or a thrombin receptor-activating peptide in patients treated with bolus chimeric 7E3 Fab: implications for inhibition of internal pool of Gp IIb/IIIa receptors. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1665-1671.
19. Mascelli MA, Worley S, Variabo NJ, Lance ET, Mack S, Schauble T et al. Rapid assessment of platelet function with a modified whole-blood aggregometer in percutaneous transluminal coronary angioplasty patients receiving anti Gp IIb/IIIa therapy. *Circulation* 1997; 96: 3960-3866.
20. Keriakes DJ, Broderick TM, Roth EM, Whang D, Shimshak T, Runyon JP et al. Time course, magnitude, and consistency of platelet inhibition by abciximab, tirofiban, or eptifibatid in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 1999; 84: 391-395.
21. Collier BS. Monitoring platelet GpIIb/IIIa antagonist therapy. *Circulation* 1998; 97: 5-9.
22. Mukherjee D, Moliterno DJ. Applications of antiplatelet monitoring in catheterization laboratory. *J Thrombosis Thrombolysis* 2000; 9: 293-201.
23. Collier BS. A new murine monoclonal antibody reports an activation-dependent change in the conformation and/or microenvironment of the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. *J Clin Invest* 1985; 76: 101-108.
24. Zeller JA, Tshoepe D, Kessler C. Circulating platelets show increased activation in patients with acute cerebral ischemia. *Thromb Haemost* 1999; 81: 373-377.
25. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Ostgaard RA. Characterization of an in vitro platelet function analyzer PFA-100. *Clin Appl Thromb Haemost* 1996; 2: 241-249.
26. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM et al. PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Sem Thromb Haemost* 1998; 24: 195-202.
27. Born CVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; 294: 927-929.
28. Lips JPM, Sixma JJ, Schiphorst ME. The effect of ticlopidine administration to humans on the binding of adenosine diphosphate to blood platelets. *Thromb Res* 1980; 17: 19-27.
29. Panak E, Maffrand JP, Picard-Fraire C, Vallee E, Blanchard J, Roncucci R. Ticlopidine: a promise for the prevention and treatment of thrombosis and its complications. *Hemostasis* 1983; (Supl 1): 1-54.
30. Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL III, Furman MI. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Methods* 2000; 21: 259-270.
31. Collier BS, Scudder LE, Beer J, Gold HK, Folts JD, Cavagnaro J et al. Monoclonal antibodies to platelet GPIIb/IIIa as antithrombotic agents. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 614: 193-213.
32. Tchong JE, Ellis SG, George BS, Keriakes DJ, Kleiman NS, Talley JD et al. Pharmacodynamics of chimeric glycoprotein IIb/IIIa integrin antiplatelet antibody Fab 7E3 in high-risk coronary angioplasty. *Circulation* 1994; 90: 1757-1764.
33. Simoons ML, de Boer MJ, van den Brand MJ, van Mittenburg AJ, Hoornstje JC, Heindrickx GR et al. The European Cooperative Study Group. Randomized trial of a GPIIb/IIIa platelet receptor blocker in refractory unstable angina. *Circulation* 1994; 89: 596-603.
34. Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA. The platelet membrane glycoprotein IIb/IIa complex. *Blood* 1988; 71: 831-843.
35. Foster RH, Wiseman LR. Abciximab: an update review of its use in ischemic heart disease. *Drugs* 1998; 56: 629-665.
36. Collier BS. Inhibitors of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor as adjunctive therapy for coronary thrombolysis. *Coron Art Dis* 1992; 3: 1016-1029.
37. Yasuda T, Gold HK, Fallon JT, Leinbach RC, Guerrero JL, Scudder LE et al. Monoclonal antibody against the platelet glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor prevents coronary artery reocclusion after reperfusion with recombinant tissue type plasminogen activator. *J Clin Invest* 1988; 81: 1284-1291.
38. Gold HK, Collier BS, Yasuda T, Saito T, Fallon JT, Guerrero JL et al. Rapid and sustained coronary artery recanalization with recombinant tissue type plasminogen activator and monoclonal anti-platelet GPIIb/IIIa antibody in a dog model. *Circulation* 1988; 77: 670-677.
39. Chong PH. Glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists in the management of cardiovascular diseases. *Am J Health Syst Pharm* 1998; 55: 2363-2386.
40. Wencel Drake J, Plow E, Zimmerman T, Painter R, Ginsberg M. Immunofluorescent localization of adhesive glycoprotein in resting and thrombin-stimulated platelet. *Am J Pathol* 1984; 115: 156-164.
41. Kleiman NS, Raizner AE, Jordan R, Wagner AL, Norton A, Mace KF et al. Differential inhibition of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate or a thrombin receptor activating peptide in patients treated with bolus chimeric 7E3 fab: implications for inhibition of the internal pool of GPIIb/IIIa receptors. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1665-1671.
42. González-Fernández F, Rodríguez-Feo JA, Farre J, Guerra J, Romero J, Gómez J et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in the carotid of rats after endothelial skinning: the effects of platelets and treatment with abciximab. *Rev Esp Cardiol* 1999; 6: 422-428.
43. Gawaz M, Ruf A, Pogatsa-Murray G, Dicfeld T, Rudiger S, Taubitz W et al. Incomplete inhibition of platelet aggregation and glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade by abciximab. Importance of internal pool of glycoprotein IIb/IIIa receptors. *Thromb Haemost* 2000; 83: 915-922.

44. Holme PA, Orvim U, Hamers MJ, Solum NO, Brosstad FR, Barsstad RM et al. Shear induced platelet activation and platelet micro-particle formation at blood flow conditions as in arteries with a severe stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 646-653.
45. Konstantopoulos K, Kamat SG, Schafer AI, Bañez E, Jordan R, Kleiman N et al. Shear-induced aggregation is inhibited by in vivo infusion of an anti-glycoprotein IIb/IIIa antibody fragment, c7E3 Fab, in patients undergoing coronary. *Angioplasty* 1995; 91: 1427-1431.
46. Mc Crary JK, Nolasco LH, Hellums JD, Kroll MH, Turner NA, Moake JL. Direct demonstration of radiolabeled von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib and IIb/IIIa in the presence of shear stress. *Ann Biomed Eng* 1995; 23: 787-793.
47. Goto S, Ikeda Y, Saldivar E, Ruggeri ZM. Distinct mechanisms of platelet aggregation as a consequence of different shear flow conditions. *J Clin Invest* 1998; 101: 479-486.
48. Kroll MH, Hellums JD, McIntire LV, Schafer AI, Moake JL. Platelet and Shear Stress. *Blood* 1996; 88: 1525-1540.
49. Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. Von Willebrand factor, tissue plasminogen activator, and dehydroepiandrosterone sulphate predict cardiovascular death in a 10 year follow up of survivors of acute myocardial infarction. *Heart* 1998; 80: 334-337.
50. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD et al. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1998; 135: 170-178.
51. Mascelli MA, Lance ET, Damaraju L, Wagner CL, Weissman HJ. Pharmacodynamic profile of short term abciximab treatment demonstrates prolonged platelet inhibition with gradual recovery from GPIIb/IIIa receptor blockade. *Circulation* 1998; 97: 1680-1688.
52. Hezard N, Metz D, Nazeyrollas P, Droulle J, Potron G. Use of PFA-100 apparatus to assess platelet function in patients undergoing PTCA during and after infusion of c7E3 Fab in the presence of other antiplatelet agents. *Thromb Haemost* 2000; 83: 540-544.
53. McEver RP. Properties of GMP-140, and inducible granule membrane protein of platelets and endothelium. *Blood Cells* 1990; 16: 73-83.
54. O'Connor CM, Gurbel PA, Serebruany VL. Usefulness of soluble and surface bound P-selectin on platelets in detecting heightened platelet activity in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1999; 83: 1345-1349.
55. Blann AD, Neumann FJ, Fijnheer R. Significance of soluble P-selectin, von Willebrand factor, and other adhesion molecules in hypercholesterolemia and peripheral artery disease. *Circulation* 1999; 99: 2478-2479.
56. Tschöepe D, Schultheis HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannel K. Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation* 1993; 88: 37-42.
57. Gawaz M, Neumann F-J, Ott Y, Schiessler A, Schomig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 1996; 93: 229-237.
58. Ault KA, Cannon CP, Mitchell J, McCahan J, Tracy RP, Novotny WF et al. Platelet activation in patients after an acute coronary syndrome: results from the TIMI-12 trial, Thrombolysis in Myocardial Infarction. *J Am Cardiol* 1999; 33: 634-639.
59. McEver RP. Role of selectins in leucocyte adhesion to platelets and endothelium. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 714: 185-189.
60. Merten M, Chow T, Hellums D, Thiagarajan P. A new role for P-selectin in shear-induced platelet aggregation. *Circulation* 2000; 102: 2045-2050.
61. Steinhubl SR. Assessing the optimal level of platelet inhibition with GPIIb/IIIa inhibitors in patients undergoing coronary intervention. Rationale and design of the GOLD study. *J Thrombosis Thrombolysis* 2000; 9: 199-205.