

La Posibilidad de Diferentes Reactivos y kits de Bajo Costo Para la Determinación del Potencial Agregación Plaquetaria

Diego Mendes Ferreira, *Evelin Thayná Barbosa Serpa*, *Jessica Maria Silva Rodrigues* *Cristiany B. Ludwig*, *Vinicius Alexandre Machado*.

mendesdiegoferreira@gmail.com

Laboratório de Transplante e Cirurgia de Fígado da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP.

Resumen

Nuestro grupo de investigación ha examinado a través de los kits pre-suministrado para la determinación de la agregación plaquetaria. La prueba de la agregación plaquetaria evalúa cómo se agregan las plaquetas. Ellos ayudan a formar coágulos sanguíneos agregación entre sí. Las muestras se retiran durante el procedimiento de análisis. Con el fin de promover la agregación plaquetaria en PRP (plasma rico en plaquetas) con la acción de diversos agonistas, ácido araquidónico, ADP, colágeno y EDTA, presentado eficaz. El resultado se midió mediante densidad óptica. El PRP se disminuido como se añadieron plaquetas.

Palabras clave: La agregación Plaquetaria; Plaquetas.

Introducción

Las plaquetas son células con forma de disco que circulan en la sangre y se producen por los megacariocitos de la médula ósea. Estas células participan en la formación de un trombo hemostático que proporciona la primera línea de defensa contra el sangrado. Con posterioridad a la lesión vascular, las plaquetas se adhieren al colágeno que pudieran quedar expuestas por la interrupción del endotelio y están involucrados en algunos eventos trombóticos¹. La agregación de plaquetas se realiza para identificar las anomalías de la función plaquetaria, para cuantificar la respuesta desencadenada y supervisar su inhibición por tratamiento con fármacos. Hay varios agentes de agregación de plaquetas: La trombina, colágeno, ADP, ácido araquidónico, complejo antígeno-anticuerpo, la serotonina y vasopresina². Es interesante estudiar estos agentes agregadores de acuerdo con su modo de acción^{3,4}.

Nuestro grupo de investigación ha examinado a través de los kits pre-suministrado para la determinación de la agregación plaquetaria. La prueba de la agregación plaquetaria evalúa cómo se agregan las plaquetas. Ellos ayudan a formar coágulos de sangre por un total de unos a otros. Las muestras se retiran durante el procedimiento de análisis⁵. El propósito del uso de pre-kits son para el análisis de intervención cardíaca, cirugía u otros tratamientos presentan el riesgo de trombosis, también se utiliza si está presente alguna preocupación general acerca del efecto de los fármacos terapéuticos sobre la función de plaquetas, como la aspirina, que inhibe la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico.

Descripción del Ensayo

La activación plaquetaria se modula por los agonistas se unen a sus receptores desencadenan la liberación de los componentes granulares de plaquetas y la síntesis de nuevos agonistas, amplificando el fenómeno de activación. Para medir el nivel de agregación plaquetaria nuestro grupo utiliza los pre-kits.

El ácido araquidónico (ACA): es un ácido graso liberado por las plaquetas humanas durante el proceso de activación y es convertido por la enzima ciclooxigenasa en un potente inductor de la agregación plaquetaria. Sus reactivos son: Después de la reconstitución con 1 ml de sangre fresca, que contienen aproximadamente 15µg liofilizado AA en presencia de tampón de citrato de sodio 3,2% y albúmina de suero bovino.

Adenosina difosfato (ADP): es un nucleótido, que es un compuesto químico formado a partir de un nucleósido y dos fosfatos radicales. Sus reactivos son: Después de la reconstitución con 1 ml de sangre fresca, contiene aproximadamente 20µM ADP y liofilizado en presencia de 3,2% de citrato de sodio y tampón¹⁰.

Colágeno: proteína fibrilar principal, la función estructural, presente en el tejido conectivo de los animales. Sus reactivos son de aproximadamente 10 mg de colágeno líquido en citrato de sodio 3,2% para la reconstitución en 1 ml de sangre fresca.

Todos los reactivos son de origen no humano. El ácido araquidónico se aisló y purificó a partir de hígado porcino. Todo lo que requiere kit de 1 ml de la muestra de sangre humana fresca para la activación. Hemos recogido 4 ml de sangre y se distribuyó 1 ml de sangre a cada tubo de ensayo realizado, todas las muestras deben agitarse entre 15-20 veces con la excepción del ácido araquidónico que se agita por una duración de 2 minutos.

Resultados y Discusión

Este método utiliza un contador de células para la medición del recuento total de las plaquetas en la muestra de sangre y luego determinar el recuento de plaquetas a una segunda alícuota de la muestra que se expuso a la agregación agonista. El agonista funcional estimula la agrupación de las plaquetas y la agregación no se contará con el dispositivo. La diferencia en el número de plaquetas entre las dos muestras proporciona una medición directa de la agregación plaquetaria y se informa como un porcentaje de agregación.

Activadores de la agregación plaquetaria, actúan como agonistas o trombina, epinefrina, colágeno y difosfato de adenosina (ADP). Los kits mostraron un resultado claro, mostrando un desarrollo efectivo durante su uso en los estudios. Estos agonistas sirven como estímulos a las plaquetas, y el patrón de la agregación se graba en un gráfico como curva, a continuación, interpretada por el operador o el médico, sin embargo, la reproducibilidad de los resultados depende de varios factores, y la prueba de O es laborioso y caro, estas razones, la agregación de plaquetas no se realiza en la mayoría de los laboratorios.

Bibliografía AA

XXXI Congreso Argentino de Química

25 al 28 de Octubre de 2016 Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749 – Ciudad de Buenos Aires – Argentina

The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) January – December 2016 ISSN: 1852 -1207

Anales de la Asociación Química Argentina AAQAE 095 - 196

1. Zucker, M.B., The Functioning of Blood Platelets, Sci Amer 242(6):86 103, 1980.
2. Marcus, A.J., Platelet Aggregation. Hemostasis and Throm-bosis: Basic Principles and Clinical Practice, Coleman, R.W..Hirsh, J., Marder, V.J., and Salzman, E.W., Ed. J.B., Lippincott Co.,Philadelphia, 1982, Pg 380-389.
3. Siridge, M.S, and Shannon, R., Laboratory Evaluation of Hemostasis and Thrombosis, Lea & Febiger, Philadelphia, p.95, 1983.
4. Gum, P.A. ET AL.. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. Am J. cardiol, 88(3): 230-235,2001.
5. Mueller, M.R. ET AL., Variable platelet responde to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. Thomb Haemost, 78(3): 1003-1007,1997.
6. Clinical and Laboatory Standads Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. CLSI Document C28-A3c, Vol.28, No. 30,2008.