

Tiempo parcial de tromboplastina activada en la terapia anticoagulante con heparina.

Comparación de los métodos coagulométrico y de tarjeta magnética

Palabras clave: Tiempo parcial de tromboplastina activada, terapia anticoagulante con heparina, técnicas para determinación del "aPTT", técnicas nefelométricas.

Key words: Activated partial thromboplastin time, anticoagulant therapy with heparin test of "aPTT", nephelometric methods of "test aPTT" thrombolytic assessment system.

Recibido: 11/IV/2000
Aceptado: 17/VIII/2000

Martín Salazar Rodríguez,* Rosa María García Escamilla,* Armando Mansilla Olivares,** José Natalio Gutiérrez García,* Alberta Toxqui Tula,* Socorro Moreno Abarca,* Héctor Marrufo Ortega*

235

* Patología Clínica.

** Unidad de investigación biomédica en Cardiología.
Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI,
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:

Av. Cuauhtémoc 330
Col. Doctores, Deleg. Cuauhtémoc 06720. Tel. (5) 6-27-69-00 Ext. 2088
México D. F. e-mail: compac72@latinmail.com rosaeg@servidor.unam.mx

Resumen

Se determinó el tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTa) en el plasma de pacientes, así como en voluntarios clínicamente sanos, y fue comparado con el plasma de pacientes en terapia anticoagulante con heparina. El método empleado fue el nefelométrico-coagulométrico; simultáneamente se determinó y se comparó con el "aPTT test card" (thrombolytic assessment system); este último fue menos sensible comparado con el método nefelométrico-coagulométrico.

Summary

The activated partial thromboplastin time was determined in plasma of patients and healthy volunteers and comparative with the plasma of patients with heparin anticoagulant therapy. The method employed was nephelometric-coagulometric in IL equipment (coagulometer), comparative with test aPTT test card (Thrombolytic Assessment System). "aPTT test card" was less sensible comparative with the method nephelometric-coagulometric.

Antecedentes

Thrombolytic Assessment System (TAS) fue desarrollado con el propósito de determinar el tiempo de protrombina (TP) así como el tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa). Consiste en un sistema de fotodetección de la formación del coágulo de fibrina en sangre capilar o venosa no anticoagulada, y sangre o plasma citratados. El TP se mide en tarjetas que contienen tromboplastina liofilizada de cerebro de conejo; por su parte, el TTPa contiene cerebro de bovino como activador, sustitutos plaquetarios y soya como fosfátilo.^{1,2} Los reactivos que más se emplean para valorar la coagulación *in vitro* son las tromboplastinas, siendo lipoproteínas de un peso molecular aproximado de 37 Kd, de dos fracciones: a) Proteína (termolábil) y b) lipídica (termoestable). Estas últimas se encuentran prácticamente en todos los tejidos, pero en mayor concentración en cerebro, pulmón, placenta, timo y testículo. Las tromboplastinas completas se utilizan para realizar el TP y las parciales sólo contienen la parte fosfolipídica y valoren el TTPa. Las tromboplastinas de buena calidad tienen incluidas en cada lote su índice internacional de sensibilidad (ISI), necesario para convertir los resultados del TP en la Razón Internacional Normalizada (INR).^{3,4} La primera preparación internacional de referencia (IRP), código 67/40, fue un extracto de cerebro humano y fue optimizado para los factores vitamina K dependientes.^{5,6}

Existe gran número de trabajos de investigación que concuerdan con la dificultad de estandarización del TTPa, en virtud de que la sensibilidad y especificidad de los diferentes reactivos comerciales es variable.⁷ El TTPa mide la actividad en los factores de generación lenta de la trombina (*vía* intrínseca), excepto el factor XIII. Se utiliza para evaluar y vigilar la acción de los anticoagulantes no orales (heparina); ésta potencializa el efecto anticoagulante de la antitrombina III e inhibe a todas las serinoproteasas.^{5,8} A los tratamientos con heparina en las enfermedades tromboembólicas

usualmente se les da seguimiento con el TTPa, manteniendo un rango de aproximadamente entre 1.5 a 2.5 veces el testigo, refiriéndose éste como el rango terapéutico. Para el mejor control se hizo necesaria la estandarización del TTPa, disminuyendo con esto último el riesgo de sangrado.⁹⁻¹³

Los mecanismos fisiopatológicos del trombo arterial involucran: exposición de sangre circulante a una superficie trombogénica, eventos plaquetarios incluyendo adhesión, agregación y liberación de sustancias que promueven agregación adicional y causan vasoconstricción, activación de los mecanismos de coagulación intrínsecos y extrínsecos.⁸

La heparina no actúa de esta forma; interviene en la activación de los factores IX, X, XI y XII, su efecto principal es inhibir la formación de la trombina a partir de la protrombina, en el paso de fibrina a fibrinógeno, incluyendo otros inhibidores específicos de la trombina, como el hirudin y los derivados sintéticos de éste.¹⁴⁻¹⁶

Son causas de trombosis: cáncer,¹⁷ enfermedad cardiovascular aterosclerótica,¹⁸ prótesis, válvulas cardíacas e injertos vasculares,¹⁹ entre otras.

Las indicaciones de anticoagulantes son: tratamiento de trombosis y sus complicaciones; fibrilación atrial con embolización²⁰ y en enfermedades cerebrovasculares.²¹

Planteamiento del problema

El procedimiento con el TAS constituye una alternativa a las pruebas del TTPa convencionales para la evaluación de la terapia con el anticoagulante heparina en pacientes cardiópatas, mediante la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada.

El tiempo de tromboplastina parcial activada mediante el TAS es igual o similar al obtenido con los métodos convencionales y satisface el criterio médico para ajustar y modificar el esquema con terapia anticoagulante con heparina en pacientes cardiópatas.

Objetivo

El propósito de este trabajo consistió en determinar la utilidad del Thrombolytic Assessment System (TAS) para el control de pacientes con terapia anticoagulante, así como determinar la exactitud del TAS en comparación con TTPa en el control de los pacientes con terapia anticoagulante heparina.

Universo de trabajo

Se estudiaron testigos (controles comerciales y pool), pacientes cardiópatas en terapia con o sin heparina atendidos en el Hospital de Cardiología "Dr. Luis Méndez" del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social, hospitalizados, que cumplieron con los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión

- a) Pacientes cardiópatas con terapia anticoagulante (heparina) atendidos en el Hospital de Cardiología "Dr. Luis Méndez" del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del IMSS.
- b) Edad (10 a 75 años);
- c) Género indistinto.

Criterios de no inclusión

- a) Embarazadas;
- b) Periodo de lactancia;
- c) Puérperas;
- d) Pacientes con hipertensión arterial sistémica no controlada;
- e) Pacientes con alteraciones hereditarias de la coagulación;
- f) Pacientes con insuficiencia hepática o cirrosis.

Criterios de exclusión

- a) Pacientes pediátricos menores de 10 años.

Método

La toma de muestra para TTPa se realizó a pacientes internados en el Hospital de Cardiología del Centro

Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Se procesaron 86 pruebas en total. Durante el análisis se tomaron las medidas de control de calidad especificadas en el instructivo, en el equipo y las propias a la coagulación. La punción se realizó previa asepsia; se empleó el sistema de vacío Vacutainer para obtener el volumen requerido; el plasma que se obtuvo se distribuyó en dos alícuotas, una para determinar el TTPa en el coagulómetro-nefelómetro IL, y otra para el sistema TAS. Ambas determinaciones se realizaron el mismo día con un lapso entre ellas menor a dos horas. Los resultados se expresan en segundos y en rangos.

La metodología fue la siguiente: cada tarjeta de prueba contiene los reactivos necesarios para el desarrollo de la técnica en la cámara capilar de la superficie de la tarjeta. Esta última se colocó en el analizador, así como 50 µL de sangre capilar o citratada o plasma; se mezcló con los reactivos en seco en pequeñas partículas metálicas. Simultáneamente los reactivos secos se disolvieron y las partículas metálicas fueron influenciadas por oscilaciones magnéticas del campo. La formación del coágulo se detectó únicamente la impedancia de los movimientos de las partículas que emitía el fotodetector del analizador. La menor cantidad de muestra necesaria es de 35 µL de sangre capilar, sangre citratada o plasma citratado.

La metodología para el método automatizado consistió en preparar las muestras inmediatamente; se mezclaron nueve partes de sangre recién extraída de pacientes con una parte de citrato de sodio 0.11 ó 0.13 mol/L, centrifugándolas a 2 500 g durante 15 minutos. El plasma fue separado en tubo de plástico y se mantuvo en un recipiente con hielo o en refrigeración a temperatura entre 2-8 C hasta la realización del análisis.

El análisis estadístico consistió en la descripción a través de cuadros y gráficas para variables cualitativas; las medidas de tendencia central de dispersión se aplicaron para variables cuantitativas y se efectuó análisis estadístico inferencial a través de la prueba T de Student.

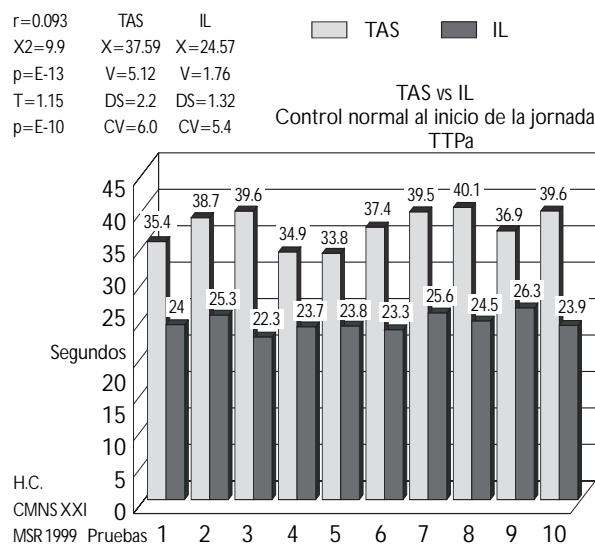


Figura 1. Resultados de tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa) por Thrombolytic Assessment System (TAS) y coagulometría - nefelometría (IL), usando en ambos control normal.

El tamaño de la muestra se calculó para un estudio descriptivo usando muestras aleatorias simples: tamaño poblacional, 6,751; prevalencia esperada; 80%; peor resultado, 70%; nivel de confianza, 90%; tamaño de muestra, 43, fórmulas: Tama-

238

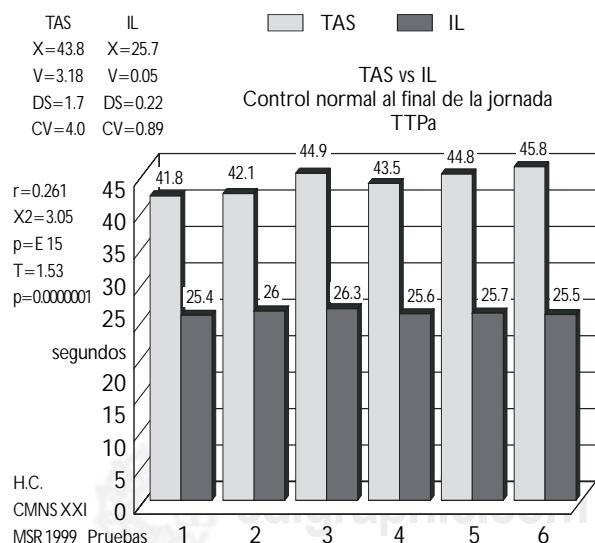


Figura 2. Resultados de TTPa por los métodos TAS e IL al final de la jornada, empleando control normal. Coeficiente de variación = 0.89.

ño de la muestra: $n/(1-(n/población))$, $n = Z^2 P(1-P)/(D^2 D)$; referencia: Kish and Leslie, Survey Sampling, John Wiley & Sons, NY, 1965.

Resultados

Los resultados se observan en las figuras 1 a 4 y cuadros I a III; como se muestra, se realizó un estudio comparativo para la determinación del tiempo parcial de tromboplastina activada, utilizando tarjetas magnéticas aPTT test card Cardiovascular Diagnostic INC/Thrombolityc Assessment System y el coagulómetro ACL 200 de IL (nefelometría). Se realizaron 86 pruebas, de éstas 46 fueron por sistema TAS y 40 con el coagulómetro ACL 200. Se empleó plasma anticoagulado con citrato de sodio. Se formaron seis grupos: a) Plasma control normal (pool) al inicio y al final de la jornada de trabajo; 10 y 6 pruebas, respectivamente (figuras 1 y 2), obteniendo el rango de referencia, el

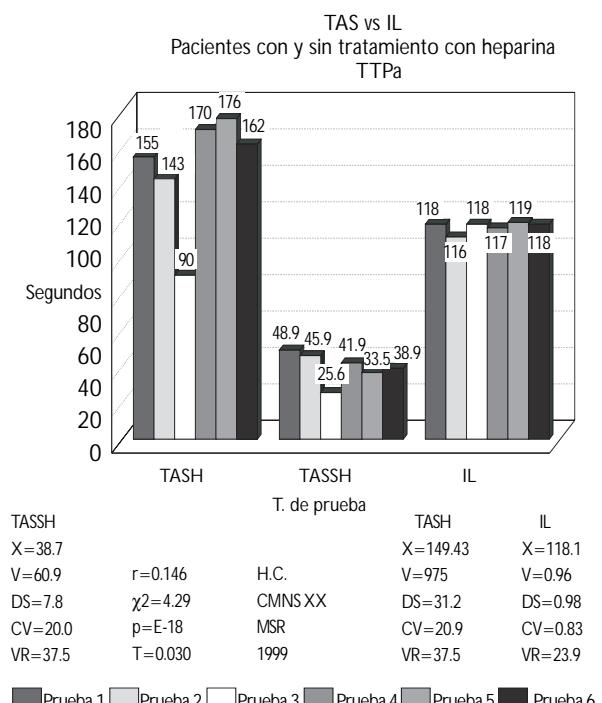


Figura 3. Resultados de TTPa por ambos métodos, TAS e IL, con y sin tratamiento heparínico. Se observa diferencia marcada entre los coeficientes de variación, mayor el del TAS.

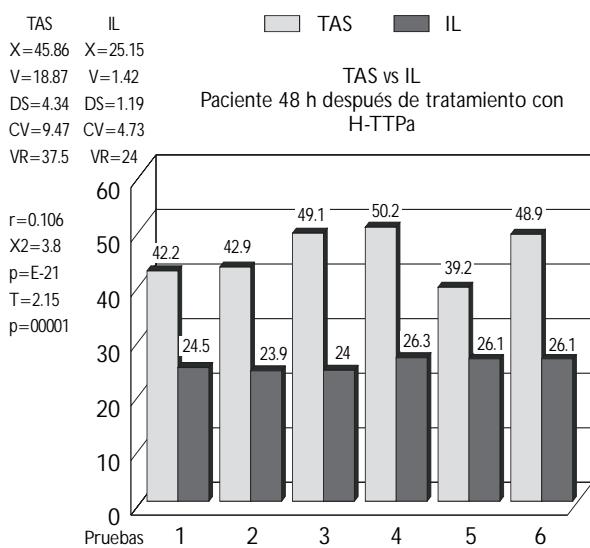


Figura 4. Resultados de TTPa con los métodos TAS e IL, 48 horas postratamiento con heparina. El coeficiente de variación es mayor con TAS.

cual fue de 33.19 a 41.99 para TAS y 22.55 a 27.04 para IL; b) control anormal bajo comercial IL, siete pruebas; c) control normal comercial IL, cinco pruebas; d) plasma de paciente no heparinizado, seis pruebas; e) plasma de paciente heparinizado, seis pruebas, en donde se comprueba que por el método de TAS tanto en el plasma heparinizado como en el que no lo está, el CV es de 20.9 y 20.0, respectivamente, siendo mayor al acepta-

do por los lineamientos de control de calidad, donde el máximo de CV es 10, no así el TTPa IL en donde el plasma heparinizado es de 0.83 (cuadro 3); f) plasma de paciente, 48 horas después de la última dosis de heparina, seis pruebas.

El proceso analítico se efectuó de acuerdo con las medidas de control de calidad especificadas en el instructivo de la casa comercial, así como los propios de las pruebas de coagulación y las recomendadas en la literatura citada.

Los resultados fueron obtenidos en segundos con ambos métodos y se expresan en cuadros, figuras, medidas de tendencia central de dispersión y un análisis estadístico inferencial a través de la prueba T de Student para su mejor comprensión.

Discusión

Para el control con anticoagulante intravenoso como la heparina, se ha usado cotidianamente el TTPa mediante métodos convencionales en pacientes hospitalizados; el resultado se expresa en segundos y en rango®. Esta prueba ha demostrado ser la mejor para el control de la anticoagulación con heparina; es útil también para mantener, modificar y suspender la dosis de este anticoagulante en ese tipo de pacientes.

La innovación tecnológica actual consiste en emplear tarjetas magnéticas que probablemente sustituyan a métodos convencionales, coagulométrico, de punto fotoóptico y nefelométrico.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se demostró que el método coagulométrico por nefelometría para la realización de la prueba del TTPa IL es el reactivo que tiene buena sensibilidad y menor variabilidad, en los resultados para el control de pacientes heparinizados, comparado con el que utiliza la tarjeta magnética Thrombolytic Assessment System de Dade International.

Se observó que el reactivo para TTPa del Thrombolytic Assessment System es sensible, pero con mayor variabilidad en sus resultados, aumentando el número de falsos negativos; sin embargo, se requiere mayor número de pruebas para su

Cuadro I. Resultados del estudio comparativo en el paciente heparinizado.

Prueba	TAS testigo 37.5		IL Testigo 24.8	
	Tiempo Segundos	Razón	Tiempo Segundos	Razón
1	155	4.13	128	4.75
2	143	3.81	116	4.67
3	90	2.40	118	4.75
4	170	4.53	117	4.71
5	176	4.69	119	4.79
6	162	4.32	118	4.75
Diferencia	86	2.29	3	.08
Media	149.3	3.9	117.6	4.74

Diferencia entre las medidas del TAS e IL = 0.84 veces
 $R = 0.146T = 0.030$

Cuadro II. Número de pruebas realizadas en el estudio comparativo TAS e IL. Para el control en la terapia con heparina.					
Testigos (pool)	Control Normal IL	Control Anormal IL	Plasma de paciente sin heparina	Plasma de paciente con heparina	Plasma de paciente 48 después de última dosis
16	5	7	6	6	6

Salazar, RM. Patología clínica. H.C. CMN S XXI 1999.

estandarización, ya que estos procedimientos de nueva tecnología son de gran utilidad en laboratorios donde se requieran este tipo de pruebas, pero que carecen de otros recursos diagnósticos; además el equipo no requiere de grandes instalaciones y es de fácil manejo y almacenamiento.

Una ventaja más de la tarjeta magnética podría ser su utilización en los casos de pacientes en estado crítico o en unidades de cuidados intensivos, pues la aplicación de la prueba se puede efectuar en el lugar donde esté el paciente.

La curva de trombina con el uso del método de la doble dilución, se utiliza cotidianamente en este hospital con el propósito de controlar y dar seguimiento a la terapia con heparina; en este sentido surge la propuesta de realizar conjuntamente el TTPa, la curva del tiempo de trombina (TT) y el TAS, ya que el nosocomio atiende a pacientes heparinizados y el TAS podría ser una prueba alternativa para el diagnóstico por laboratorios; para el caso del paciente no heparinizado, puede ser de utilidad debido a sus ventajas, ya que también existen tarjetas para su determinación, aunque esta última deberá ser realizada por personal calificado.

240

Cuadro III. Resultados del grupo de pruebas con plasma control (pool) al inicio de la jornada.

Prueba	TAS	IL
Tiempo de coagulación	Segundos	Segundos
Rango a dos DS	33.19-41.99	22.55-27.04
Media	37.59	24.80

Referencias

- I. Machin SJ, Mackie IJ, Chitolie A, Lewrie AS. Near patients testins (NPT) in haemostasis a synoptic review. Clin Lab Haem 1996;18:69-74.
2. Robert A, Chazoulers O. Prothrombin time in liver failure: Time, ratio. Activity percentage or International Normalized Ratio? Hepatology 1996; 24 (6):1392-1394.
3. Martínez MC, Quintana GS. Manual de hemostasia y trombosis. Bases fisiológicas y clínicas de las enfermedades hemorrágicas y trombóticas. Ed Prado. México 1996:65-75.
4. Kitchen S, Jenning I, Woods TAL, Wakler ID, Preston FE. Two recombinant tissue factor reagents, compared to Conventional thromboplastins for determination of International Normalised Ratio: A thirty three laboratory collaborative study. Thrombo Haemost 1996;76:372-376.
5. Tripodi A, Poller L, Besselear AMHP, Mannucci PM. A proposed scheme for calibration of international reference preparations of thromboplastin for the prothrombin time. On behalf of subcommittee on control anticoagulation. Thrombo Haemost 1995;74:1368-1369.
6. Tripodi A, Chantarangkui V, Manotti C, Poggi M, Braga M, Akkawat B, Bucciarelli P, Mannucci PM. A simplified procedure for thromboplastin calibration the usefulness of lyophilized plasmas assessed in a collaborative study. Thromb Haemost 1996;75:309-312.
7. Raul AIA, Luisa AM, Javier PCH, Jaime MW. Actualidades en coagulación. Rev Invest Clin 1995;47:103-113.
8. Earl WD. Biochemical and molecular aspects, aspect of the coagulation cascade. Thrombo Haemost 1995;74:1-6.
9. Van der Valde EA, Poller L. The APPT monitoring of heparin. The ISTH/ICSH collaborative study. Thrombo Haemost 1995;73:73-81.
10. Hirsh J, Fuster V. Guide to anticoagulant therapy. Part 1: Heparin. Circulation 1994;89:1449-1468.
11. Pierre T, Brigitte B, Marie Helen H, Marie CT, Meyer MS. Monitoring heparin therapy using activated partial. Thromboplastin the therapeutic range for SILIMAT, a reagent with high sensitivity to heparin. Thrombo Haemost 1998;80:104-108.
12. Pini M, Aiello S, Manotti C, Pattacini C, Quitavalla R, Poli T, Tagliaferri A, Dettori AG. Low molecular of recurrences after deep vein thrombosis. Thrombo Haemost 1994;72:191-197.
13. Charles F, Arkin MD. Coagulation screening tests. Am Journ of Clinic Path 1994;102:150-151.
14. Weitz J, Hirsh J. New anticoagulant strategies. J Lab Clin Med 1993;122:4.

15. Campos CR, Machado MZ. Anticoagulacao nas cardiopatias. Arq Bras Cardiol 1993;60:361-366.
16. Bendetowicz V, Coenraad HH, Bejin S. Heparina y sus derivados: más de un siglo de experiencia. Rev Iberoam Trombo Haemost 1991;4:155-164.
17. Mark NL. Prevention of thrombotic disorders in cancer patients undergoing chemotherapy. Thrombo Haemost 1997;78:133-136.
18. Siscovick DS, Schwartz SM, Rosendaal FR, Psaty BM. Thrombosis and the young: effect of atherosclerotic risk factors on the risk of myocardial infarction associated with prothrombotic factors. Thrombo Haemost 1997;78:7-12.
19. Mukherjee M, Scully MF, Kakkar VV, Philippou H, Lane DL, Jewitt D. Decrease in factor VII coagulant activity during percutaneous transluminal coronary angioplasty by heparin mediated lipolytic action. Thrombo Haemost 1997;77:675-678.
20. Koefoed BG, Feddersen C, Gullov AL, Petersen P. Effect of fixed minidose warfarin conventional dose warfarin and aspirin on INR and prothrombin fragment 1 + 2 in patients with atrial fibrillation. Thrombo Haemost 1997;77:845-848.
21. Grotta J. Cerebrovascular disease in young patients. Thrombo Haemost 1997;78:13-23.