

NEUTRALIZADOR DE HEPARINA

Demostración original de su utilidad clínica

Eq. May. (M) Juan C. Cazerres
Alf. (Q.F.) Eliana Ribeiro
Eq. Sgto. 1º Humberto Lima

RESUMEN

PALABRAS CLAVE: heparina, neutralizador, captador, trietilaminoetilcelulosa.

Los autores evidencian la utilidad clínica de la trietilaminoetilcelulosa como captador o neutralizador de heparina. La mezcla de 35 mg de trietilaminoetilcelulosa con 8 plasmas normales heparinizados "in vitro" y con 41 plasmas heparinizados "in vivo" obtuvo un acortamiento del tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y del tiempo de trombina (TT) a sus valores basales. Similar procedimiento con este neutralizador en 22 plasmas contaminados con heparina, también normalizó los resultados de APTT y TT. En tres pacientes con enfermedad tromboembólica bajo heparinoterapia el uso de la trietilaminoetilcelulosa permitió realizar técnicas coagulométricas para las determinaciones de proteínas C y S. La inocuidad del captador se constató al no modificarse los valores de APTT en 3 hemofílicos severos y en mantenerse las ratios inferiores a 2 para el test de resistencia a la proteína C activada en 6 plasmas positivos, cuando en ambas situaciones se usó la trietilaminoetilcelulosa.

SUMMARY

The authors show the clinical utility of triethylaminethylcellulose as uptaking agent or neutraliser of heparin. The mixture of 35 mg of triethylaminethylcellulose with 8 normal heparinized plasmas 'in vitro' and 41 heparinized plasmas 'in vivo' obtained a reduction in activated partial thromboplastin time (PATT) and in thrombin time (TT) back to its basal values. A similar procedure performed with this neutraliser in 22 plasmas contaminated with heparin, also normalised the results of PATT and TT. In three patients with thromboembolic disease under therapy with heparin, the use of triethylaminoethylcellulose allowed to perform coagulometric techniques for the determination of proteins C and S. The innocuousness of the uptaking agent was demonstrated as PATT values had no modifications in three severe hemophiliacs and ratios were maintained under 2 for the resistance testing to activated protein C in 6 positive plasmas, when triethylaminethylcellulose was used in both situations.

I. INTRODUCCION

La heparina es un agente antitrombótico efectivo, cuya acción anticoagulante se demuestra tanto "in vivo" como "in vitro". Su utilización en la clínica puede resumirse en las siguientes indicaciones (1)

- prevención y tratamiento de la trombosis venosa profunda y el embolismo pulmonar.
- prevención de la trombosis mural, luego del infarto de miocardio.
- tratamiento de la angina inestable e infarto agudo de miocardio.

- prevención de la re-trombosis de la arteria coronaria luego de la trombolisis.
- tratamiento de casos seleccionados con Coagulopatía Intravascular Diseminada (CID).
- tratamiento del síndrome antifosfolípido (SAF) en la embarazada.

De esto se desprende que la anticoagulación con heparina es ampliamente utilizada tanto en el tratamiento inicial, como en la profilaxis de las enfermedades tromboembólicas. Dado que el efecto anticoagulante de la heparina debe ser alcanzado dentro de un estrecho rango terapéutico, ya sea para evitar la extensión del trombo, así como para la prevención de las complicaciones hemorrágicas, la

heparinoterapia debe ser necesariamente monitoreada. El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) es la técnica más frecuentemente empleada para el monitoreo de la anticoagulación con heparina (2). Este test evidencia el efecto de la droga sobre la coagulación, sin cuantificar, por lo tanto la concentración de la heparina en sangre (heparinemia).

El APTT es barato, rápido y relativamente fácil de realizar. Asimismo es reproducible y se correlaciona bien "in vitro" con el nivel de heparina, cuando concentraciones conocidas de la droga son adicionadas a un pool de plasmas normales (3) Sin embargo determinaciones "ex vivo" del APTT no se correlacionan tan bien con el nivel de heparinemia debido a factores relacionados con los pacientes y a hechos vinculados con el trabajo en el laboratorio. Entre los primeros se destacan las diferencias interindividuales en el clearance de la heparina y los artefactos producidos por reactantes de fase aguda que pueden por un lado acortar el APTT (concentraciones elevadas de Factor VIII) y por otro competir efectivamente con la antitrombina III en la unión con la heparina. Así, estas proteínas que se unen a la heparina y que incrementan sus concentraciones ante episodios agudos (trombosis, etc.) son: glicoproteína rica en histidina, vitronectina, lipoproteínas, fibronectina, fibrinógeno, factor von Willebrand y factor plaquetario (4). El incremento en las concentraciones de estas proteínas que se unen a la heparina es muy variable en enfermos con afecciones tromboembólicas, siendo esta variabilidad la responsable de la pobre correlación dosis-respuesta en este tipo de pacientes, al tiempo que también explicaría el fenómeno de resistencia a la heparina observado en algunos enfermos portadores de patologías inflamatorias y/o neoplásicas (4).

Para minimizar el efecto de las concentraciones elevadas de factores de la coagulación que actúan como reactantes de fase aguda (fibrinógeno y factor VIII) (5) se ha recomendado el uso de la relación o "ratio" del APTT. Esta relación es el cociente del resultado del APTT bajo tratamiento con heparina sobre el resultado del APTT basal del paciente previo al inicio de la heparinoterapia (6)

El rango terapéutico se estableció en una "ratio" o relación de APTT que debe situarse entre 1.5 a 2.5. Ello surgió de estudios clínicos y experimentales de laboratorio. Entre los estudios clínicos merece destacarse el de Hull y colaboradores quienes en un ensayo randomizado demostraron que aquellos pacientes portadores de trombosis venosa proximal, en los cuales no se lograba alcanzar una respuesta anticoagulante adecuada (ratio de APTT superior a 1.5) presentaban un riesgo elevado (20-25%) de sufrir tromboembolismo recurrente (7) En los estudios de laboratorio se observó que el rango terapéutico establecido para la relación de APTT era equivalente a un nivel de heparinemia de 0.2 a 0.4 Unidades/ml., según el método de la titulación con protamina, o de 0.35 a 0.7 Unidades/ml., de acuerdo al nivel de anti-factor X activado (1)

Otros usos de la heparina en la práctica diaria son la prevención de la trombosis en los dispositivos extracorpóreos de la cirugía cardiovascular y en la hemodiálisis, así como el mantenimiento de la permeabilidad en todas las vías venosas centrales y/o periféricas. Es precisamente este empleo que puede considerarse rutinario en las distintas salas donde se asisten pacientes de diversas edades y con diferentes patologías, cuyo elemento común es la presencia de una vía venosa o arterial, lo que puede llevar a que las muestras de sangre extraídas desde donde está colocada la vía puedan contaminarse con heparina y afectar así seriamente los resultados de los estudios de hemostasis solicitados a estos enfermos. En este sentido, los neonatos, así como los niños y adultos internados en centros de tratamientos intensivos son las poblaciones de mayor riesgo para que sus muestras de sangre sean contaminadas con heparina en el momento de la extracción, si ella se realiza a través de la vía.

De modo que situándose desde la perspectiva del laboratorio de hemostasis, al mismo pueden llegar especímenes de sangre provenientes de pacientes bajo tratamiento con heparina correctamente indicados y administrados, en los que se llevará a cabo el control sobre la base del APTT, expresándose el resultado en forma de "ratio". Pero, también pueden arribar muestras de sangre procedentes de enfermos que NO reciben heparina, a quienes se les solicitó estudios básicos de hemostasis (donde el APTT está incluido) con el objeto de una valoración preoperatoria y cuyas muestras fueron contaminadas con heparina en el momento de la extracción de la sangre a través de una vía.

En ambos casos los resultados del APTT serán prolongados, pero mientras que en el primer caso ello se condice con la realidad del paciente, en el segundo puede conducir, y de hecho conduce, si no se sospecha la contaminación con heparina, a una interpretación equivocada de la situación real del enfermo, posponiendo maniobras cruentas o intervenciones quirúrgicas que estaban indicadas, a la espera de otros informes de estudios más específicos como dosificación de factores de la coagulación, con la consiguiente pérdida de tiempo y el incremento de los costos de hospitalización. Concomitantemente, ello trae aparejado mayores molestias para el paciente y una disminución en la confiabilidad de los resultados que emite el laboratorio clínico.

También en las muestras de sangre procedentes de pacientes correctamente heparinizados puede ser conveniente eliminar la interferencia de la heparina. Ello tiene lugar en varias circunstancias:

- en aquellos pacientes donde no se pudo determinar el APTT basal, previo al comienzo del tratamiento con heparina y se hace imprescindible expresar el nivel de anticoagulación alcanzado mediante la relación o "ratio".
- en algunos casos de CID tratados con heparina, donde se hace necesario un seguimiento con los

tests básicos de coagulación, sin el entorpecimiento causado por el anticoagulante.

- cuando se debe realizar la investigación etiológica de una posible trombofilia, congénita o adquirida, en un paciente que ya comenzó a recibir heparina. Este anticoagulante, como se sabe, interfiere notoriamente en los ensayos coagulométricos que determinan el inhibidor lúpico, las concentraciones plasmáticas de las proteínas C y S, así como aquel que revela la existencia de la Resistencia a la Proteína C Activada (RPCA).

A partir de lo expuesto precedentemente, entonces ¿cuáles son los métodos de laboratorio que permiten eliminar la heparina del plasma?

Se han descrito tres tipos de métodos para eliminar la heparina del plasma. Estos métodos denominados genéricamente captadores o neutralizadores de heparina son (8) :

- la heparinasa que actúa mediante la digestión enzimática de la heparina, pero su elevado costo y difícil obtención hacen que sea escasamente utilizada.
- el sulfato de protamina empleado "in vivo" como antídoto en caso de exceso de heparina en sangre, reacciona también con las plaquetas, fibrinógeno y otras proteínas plasmáticas, por lo cual altera los resultados de los tests globales de la coagulación, y por ende, se vuelve imposible su uso como herramienta destinada a eliminar la heparina en muestras de plasma, donde posteriormente deben determinarse tiempos reales de coagulación.
- la trietilaminoetilcelulosa es una resina de intercambio aniónico, moderadamente básica, que retiene a la heparina por carga eléctrica. Posee una gran ventaja: no reacciona con otras proteínas plasmáticas que intervienen en la coagulación. Este producto se presenta como un polvo estable a temperatura ambiente y con una vida útil prolongada. En pequeñas dosis remueve hasta 20 Unidades Internacionales de heparina por ml de plasma (9).

Tomando en consideración estas ventajas se decidió implementar la utilización de la trietilaminoetilcelulosa en muestras de plasma con heparina, a efectos de eliminar dicha sustancia y poder realizar las determinaciones de los tests básicos de coagulación - APTT, tiempo de protrombina (TP), tiempo de trombina (TT) y dosificación de fibrinógeno (F) - sin que existiera interferencia del anticoagulante en los resultados de dichas técnicas.

Por tanto el objetivo del presente trabajo es demostrar que la trietilaminoetilcelulosa es una sustancia captadora de heparina útil e inocua para los resultados de los tests básicos de hemostasis, cuando se emplea tanto en plasmas heparinizados procedentes de pacientes bajo tratamiento anticoagulante, como cuando elimina la interferencia indeseable de la heparina en muestras plasmáticas que

han sido contaminadas con el anticoagulante a partir de la extracción de sangre proveniente de una vía.

II. MATERIAL Y METODOS

A partir del objetivo enunciado se planificaron varios diseños experimentales tendientes a demostrar que la trietilaminoetilcelulosa es un captador de heparina eficiente y seguro para el manejo de las muestras plasmáticas que contienen heparina, no modificando además la concentración de los distintos factores en los plasmas nativos.

En primer lugar se obtuvieron 8 muestras de plasma citratado correspondientes a 8 sujetos sin antecedentes personales patológicos y que no recibían ninguna medicación. La extracción de sangre se realizó con jeringas de plástico, mediante punciones limpias y empleando como anticoagulante al citrato de sodio al 3.8 % en una proporción 1:9. Para lograr plasmas pobres en plaquetas se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos en centrífuga no refrigerada. Con una alícuota de cada plasma se llevaron a cabo los siguientes tests: tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), tiempo de trombina (TT) y dosificación de fibrinógeno (F).

A todos los plasmas se les agregó heparina sódica (Liquemine®), hasta lograr una concentración plasmática final de 0.8 UI/ml. Posteriormente en un cono de centrifuga Ependorf se colocaron 35 mg del neutralizador de heparina denominado trietilaminoetilcelulosa (Heparsorb®, Heparin Neutralizer Powder, Organon Teknika Corp., Durham, NC) y 0.5 ml de cada plasma pobre en plaquetas. Se agitó por inversión 3 veces, evitando así la agitación prolongada que desnaturaría las proteínas plasmáticas. Luego de transcurridos 5 minutos se homogeneizó y se centrifugó a 3000 rpm durante 3 minutos. Con el sobrenadante se efectuaron los mismos tests (TP), (APTT), (TT) y (F).

A 6 plasmas citratados provenientes de pacientes con positividad para la Resistencia a la Proteína C Activada (RPCA), Ratio < 2.0 para la técnica cromométrica (Chromogenix®), se les agregó heparina sódica alcanzando una concentración plasmática final de 0.8 UI/ml. Luego se empleó el neutralizador de heparina en forma similar a la descrita precedentemente. Con el sobrenadante obtenido se realizó el Test de RPCA a estos plasmas, expresando los valores en ratio antes y después del uso del neutralizador.

En un plazo de 6 meses se logró disponer de 40 plasmas citratados procedentes de pacientes que recibían heparina sódica en forma de infusión continua, provenientes del centro de cuidados intensivos. En todos ellos se realizaron las cuatro técnicas básicas de hemostasis (TP, APTT, TT y F) antes y después del uso del captador de heparina, en forma similar a la descrita precedentemente.

En tres pacientes portadores de enfermedades tromboembólicas se efectuaron las determinaciones de proteína C (PC) y proteína S (PS) tanto cuando los

pacientes se encontraban sin la heparinoterapia (valor basal), como cuando ya estaban bajo tratamiento con la heparina (40.000 U/día). En este último caso se empleó el neutralizador para la eliminación de la heparina, utilizando al APTT como testigo de la acción de la droga anticoagulante en cada paciente.

Se obtuvieron 22 plasmas de diferentes salas de internación a cuyos pacientes se solicitaba crisis básica. Ningún enfermo estaba bajo terapia con anticoagulantes cualquiera fuera su tipo, ni presentaban síndrome hemorrágico alguno, comprobándose en todos ellos alargamientos del APTT sin causa aparente. De ellos 6 eran recién nacidos. Nuevamente se llevaron a cabo los test básicos de hemostasis pre y post mezcla de los plasmas con el neutralizador de heparina.

En tres plasmas procedentes de pacientes hemofílicos tipo A severos se determinaron los tests básicos pre y post mezcla con el neutralizador de heparina, a efectos de comprobar si existía alguna alteración en la concentración de los factores de la coagulación provocada por dicho neutralizador.

Los técnicas fueron realizadas en los Coagulómetros Modelo ST4 y STA Compact (Boehringer ® - Stago), que poseen sistema de detección electromagnético. La tromboplastina utilizada fue CI Plus, el activador para el APTT fue sílica micronizada (APTT-LT) y el reactivo para fibrinógeno Fibrí-Prest. Todos estos reactivos pertenecen a la firma Boehringer - Stago, y fueron utilizados de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Para las dosificaciones de proteínas C y S también se emplearon las técnicas coagulométricas de la firma Stago.

III. RESULTADOS

Los resultados de estos 6 diseños experimentales serán expuestos en el mismo orden en que fueron explicitados en materiales y métodos.

Gráfica N°1. Efecto del neutralizador sobre el APTT en 8 plasmas normales heparinizados. HCFFAA - 1997

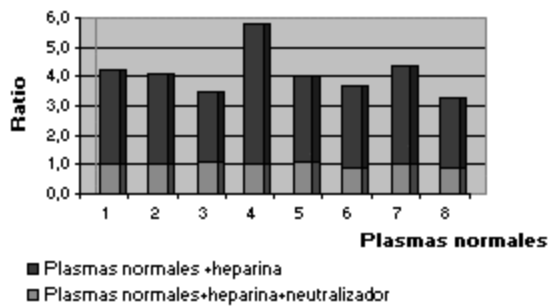
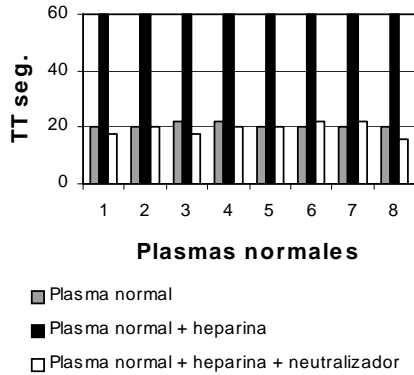


Gráfico N°2. Efecto del neutralizador sobre TT de 8 plasmas normales heparinizados. HCFFAA 1997

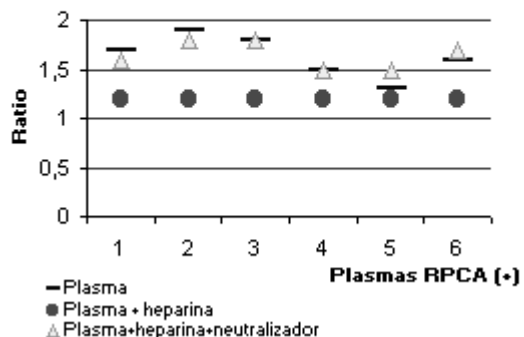


En el Anexo A-1 y A-2 se presentan los resultados obtenidos de APTT, TT, TP y F de los 8 plasmas en el orden siguiente: basal, luego del agregado de heparina "in vitro" y después del tratamiento neutralizante con el captador de heparina. De los mismos se destaca la acción del neutralizador sobre los alargamientos producidos por la heparina "in vitro" en el APTT y en el TT. Ello se aprecia en los gráficos N°1 y N°2, donde es notorio la corrección de los tiempos prolongados de estos tests hacia los valores basales.

En este sentido cabe destacar que luego de la heparinización tanto los ratios de APTT (superiores a 3.0) como los alargamientos de los TT (superiores a 60 s) son corregidos por la mezcla con el neutralizador de heparina. Ello es evidenciado ya que los ratios de APTT obtenidos luego del uso del captador son cercanos a 1.0, lo que indica que se extrajo toda la heparina del plasma sin modificación de la concentración de los factores de la vía intrínseca y de la vía común.

En el caso de TP y F como era dable esperar no se observan diferencias entre los resultados luego de la heparinización (la heparina no afecta dichos tests), ni tampoco luego del uso del captador.

Gráfica N°3. Estudio de la influencia del captador en plasmas RPCA (+) heparinizados "in vitro". HCFFAA - 1997



En la Gráfica N°3 se resumen los resultados de la influencia del captador sobre plasmas RPCA positivos heparinizados "in vitro" (Anexo B). Se observa en todos los casos que los Ratios permanecen inferiores a 2,0 (criterio de positividad), luego del empleo del captador sobre dichos plasmas. Esto revela la inocuidad del captador sobre el Test de RPCA al no modificar dichos resultados.

En el Anexo C se muestra el efecto del captador sobre las prolongaciones del APTT y TT de pacientes heparinizados "in vivo", lo que es resaltado en el gráfico N°4 donde se visualiza los acortamientos hacia valores basales de estos dos tests. En la mayoría de los casos, resultados de APTT superiores a 120 s, y de TT por encima de 60 s, luego del empleo del captador volvieron a valores normales para las técnicas empleadas.

De los 3 pacientes en donde se realizaron determinaciones de APTT, PC y PS en forma basal y luego que fueron heparinizados "in vivo" con 40.000 UI/día se observan los resultados en el Anexo D. A efectos de ejemplificar mejor la acción del captador en la corrección y veracidad fundamentalmente de las dosificaciones de PC y PS se muestra en la Tabla N°1 lo sucedido con uno de estos pacientes. Las variaciones observadas en las dosificaciones basales y luego de neutralizar la heparina para PC y PS no son significativas, encontrándose dentro de los desvíos estándar previstos para cada técnica. (PC Valor normal: 70 - 140 % ; PS Valor normal: 65- 140%).

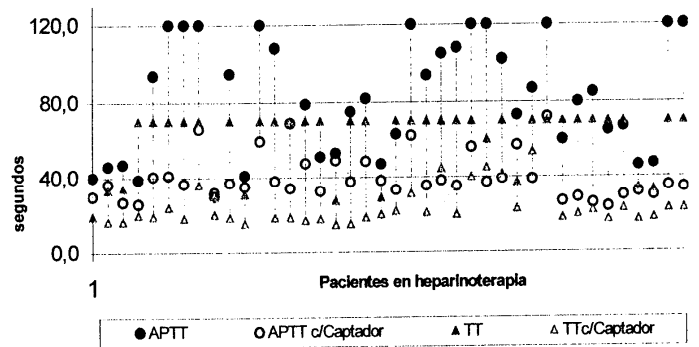
Tabla N°1
Acción del captador sobre los valores de APTT, PC y PS post heparinoterapia.

HCFFAA - 1997

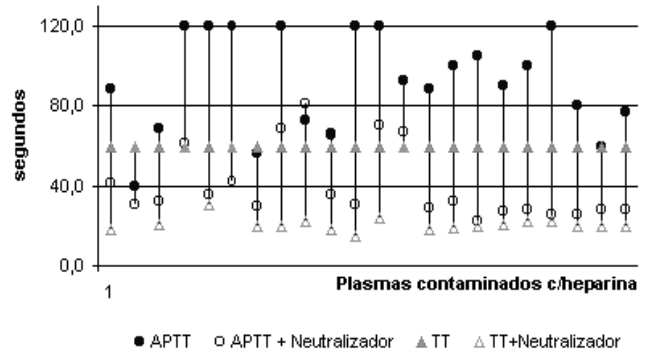
	APTT seg	PC %	PS %
Basal	29	85	105
Heparinoterapia 40.000 UI/día	49	<10	<10
Heparinoterapia + captador	27	73	89

En el Anexo E se describen todos los resultados de los tests básicos de la coagulación, antes y después de la acción del captador en 22 pacientes cuyos plasmas fueron contaminados accidentalmente con heparina al momento de la extracción. En todos ellos se aprecia un acortamiento de APTT y TT a valores dentro del rango normal para ambas técnicas. Los demás parámetros de la crisis básica (TP y F) no sufrieron variaciones.

Gráfico N°4. Influencia del captador sobre los valores de APTT y TT en plasmas de 40 pacientes heparinizados "in vivo"
H.C.FF.AA. - 1997



Gráfica N°5. Acción neutralizante del captador en 22 plasmas contaminados con heparina.HCFFAA - 1997



Los resultados de APTT, TT, TP y F en tres pacientes hemofílicos severos no sufrieron modifica

ciones antes y después de la utilización del captador, como lo demuestra la tabla N°2.

Tabla N°2
Valores de los tests básicos de la coagulación pre y post acción del captador en 3 hemofílicos severos

HCFFAA - 1997

N° Paciente	APTT (s)	APTT (s)	TT (s)	TT (s)	TP %	TP %	F g/L	F g/L
		c/C		c/C		c/C		c/C
1	58.0	62.0	22.0	19.8	77	80	2.21	2.56
2	58.0	62.0	22.0	20.0	77	80	2.10	2.21
3	60.0	60.0	23.0	21.0	80	86	2.91	3.11

c/C = Test realizado luego del uso del Captador de Heparina.

IV. DISCUSION

Dado que la heparina es un anticoagulante tanto "in vivo" como "in vitro", los diseños experimentales llevados a cabo para demostrar la acción neutralizadora de la heparina por la trietilaminoetilcelulosa – Heparisorb® - se efectuaron tanto con heparinizaciones "in vitro" (trabajos experimentales A, B) como "in vivo" (trabajos experimentales C, D y E).

En los primeros, se establecieron tres hechos experimentales distintos donde se comprobó el efecto de la trietilaminoetilcelulosa en la captación de la heparina, adicionada "in vitro" respectivamente a plasmas normales (A) y a plasmas positivos para la resistencia a la proteína C activada (B). En la experiencia A, los resultados de las técnicas de APTT y TT (Anexo A-1, gráficos N°1 y N°2) antes y después de la heparinización "in vitro" son categóricos en la demostración del acortamiento de estos tiempos luego del uso de la trietilaminoetilcelulosa.

Concomitantemente esta sustancia no modificó los resultados de TP y F en ninguno de los plasmas testados antes ni después de la heparinización, lo que también revela la inocuidad de este captador para todos los factores de la vía extrínseca y final común.(Anexo A-2).

Con la comprobación que el empleo del neutralizador de heparina no afecta la positividad de los plasmas que poseen la resistencia a la proteína C activada (RPCA) (Anexo B, gráficoN°3) se abre una interesante perspectiva para su utilización en la práctica clínica. Como es sabido, Dahlbäck (10) describió en 1993, una especial resistencia que tenían los plasmas, de individuos jóvenes con cargados antecedentes personales de trombosis venosas, hacia la proteína C activada. Ello era puesto en evidencia si se efectuaba un cociente o ratio entre los resultados en segundos del APTT realizado con Proteína C activada (PCA) sobre el APTT hecho sin el agregado de la proteína C activada al cloruro de calcio. Si el ratio se situaba por debajo de 2 el paciente era positivo para

RPCA. Muy pronto se convirtió en el mecanismo trombofílico congénito más frecuente, con una prevalencia para el rasgo heterocigoto del 5% en la población caucásica general (11).

Uno de los problemas que se suscita en la práctica está relacionado con la dificultad en el diagnóstico de un estado trombofílico, como la RPCA, frente a un paciente que presenta un episodio agudo de trombosis venosa o tromboembolismo pulmonar y que fue rápidamente tratado con heparina. Esta droga prolonga el APTT basal del paciente por lo que se vuelve imposible informar el ratio real del enfermo, dado que el denominador del cociente APTT con PCA/APTT sin PCA está falseado por la prolongación producida por la heparina. Para obviar dicho impedimento puede emplearse por parte del laboratorio de hemostasis el neutralizador de heparina, que en nuestro caso fue Heparisorb®. Otros autores (12, 13) han usado al Hepzym® (Dade Int) como neutralizador de la heparina obteniendo resultados similares en la determinación de la RPCA a los señalados en el presente estudio. Estos agentes neutralizadores de la heparina permiten al laboratorio informar resultados veraces acerca de la RPCA aún bajo terapia con heparina sódica, lo que evita tener que cambiar el esquema terapéutico del enfermo o dilatar el comienzo de la heparinización a la espera de obtener una muestra de sangre del paciente por parte del laboratorio, en especial en días feriados y/u horas de la madrugada.

En el diseño experimental C se constató que el captador de heparina era efectivo en su acción al acortar el APTT y el tiempo de trombina de aquellos 40 plasmas que procedían de similar cantidad de pacientes bajo tratamiento con heparina sódica mediante infusión continua. (Anexo C, Gráfico N°4).

Esta comprobación señala una nueva indicación para el uso del captador, puesto que permitirá conocer el valor real del APTT basal del paciente aún luego de haber comenzado la heparinoterapia. Con este dato es posible calcular la relación o ratio que surge del cociente APTT post heparina / APTT basal. Este último valor surge de la realización del APTT luego de la

mezcla del plasma heparinizado con el captador. La nueva forma de expresión de los resultados de los APTT como ratio en el monitoreo de la heparinoterapia trata de minimizar la influencia de las concentraciones elevadas de Fibrinógeno y Factor VIII que como reactantes de fase aguda pueden acortar el APTT. Como ejemplo demostrativo del beneficio en la utilización del ratio puede mencionarse el caso del paciente N°4 del Anexo C cuyo APTT post heparinización era de tan solo 38.8 s lo cual puede inducir a un clínico desprevenido a que el tratamiento anticoagulante no está siendo eficaz para el enfermo y llevarlo a incrementar la dosis de heparina con el consiguiente riesgo de una grave complicación hemorrágica. Sin embargo con el uso del captador se logró saber el APTT basal de ese paciente en particular, el cual se situó en 26.0 s. De ello surge que el valor del ratio era de 1.5, estando dentro del rango terapéutico (1.5 a 2.5) ya que es equivalente a un nivel de heparinemia de 0.2 a 0.4 UI/ml de acuerdo a estudios experimentales (1).

El empleo del captador en tres pacientes portadores de enfermedades tromboembólicas, permitió determinar las concentraciones reales de las Proteínas C y S mediante método coagulométrico aún en sus correspondientes plasmas heparinizados "in vivo". Ello fue demostrado por el estudio comparativo de los niveles de Proteína C y S obtenidos en estos pacientes antes y después del uso del captador (Anexo D). Es de destacar que las técnicas coagulométricas para las determinaciones de ambas proteínas se ven absolutamente invalidadas por la presencia de heparina, como lo demuestra el hecho que en los tres pacientes se alcanzaron valores muy bajos totalmente discordantes con la realidad. En consecuencia, esto reafirma la aplicación del captador en el estudio de los síndromes trombofílicos, aún cuando los pacientes se encuentren bajo heparinoterapia, como ya fue explicado para los pacientes portadores de RPCA positivos.

Los resultados prolongados de APTT y TT de las 22 muestras sanguíneas contaminadas accidentalmente con heparina por una deficiente maniobra en la extracción - recolección de sangre a través de una vía venosa permeabilizada con heparina - fueron todas corregidas mediante la utilización de la trietilaminoetilcelulosa (Anexo E). Este hecho confirma una de las grandes ventajas prácticas del uso de este neutralizador, al permitir llevar a cabo todos los test básicos y especializados a pesar de la contaminación con heparina. Por lo tanto el laboratorio está en condiciones de emitir informes veraces y oportunos para el clínico, sin recurrir a las tediosas y molestas repeticiones en el paciente.

La evidencia que el captador de heparina no modifica los resultados de ninguno de los tests básicos de la coagulación, en 3 hemofílicos severos (tabla N°2), revela que la trietilaminoetilcelulosa es absolutamente inocua sobre los factores de coagulación del paciente y que el acortamiento del APTT producido por el neutralizador en plasmas heparinizados tanto "in vivo"

como "in vitro", sólo se debe precisamente a esa acción neutralizante que ejerce sobre la heparina y no a una hipotético efecto potenciador sobre alguno de los factores de la coagulación.

V. CONCLUSIONES

La acción de la trietilaminoetilcelulosa como captador de heparina se demostró útil en las siguientes situaciones :

1. Monitoreo preciso de la heparinoterapia: al permitir determinar el ratio específico para cada paciente.
2. Estudio etiológico de los síndromes trombofílicos: PC, PS, RPCA concomitantemente con la administración de heparina.
3. Emisión de informes veraces de la situación hemostática del paciente pese a la contaminación con heparina en la recolección de la muestra.
4. Evita la reiteración de punciones en pacientes pediátricos.

VI. BIBLIOGRAFIA

- (1) HIRSH J. Heparin. N Engl J Med. 324,22 1565-1572,1991.
- (2) SCHLUETER AJ, PENNEL BJ, OLSON JD. Evaluation of a new protamine titration method to assay heparin in whole blood and plasma. Am J Clin Pathol. 1997;107:511-520.
- (3) TRIPLETT DA, HARMS CS, KOEPKE JA. The effect of heparin on the activated partial thromboplastin time. Am J Clin Pathol. 70:556-559,1978.
- (4) HIRSH J, VON AKEN WG, GALLUS AS, DOLLERY CT, CADE JF, YUNGWL. Heparin kinetics in venous thrombosis and pulmonary embolism. Circulation 53:691-695,1976.
- (5) EDSON JR, KRIVIT W, WHITE JG. Kaolin partial thromboplastin time: high levels of procoagulants producing shorts clotting times or masking deficiencies of other procoagulants or low concentrations of anticoagulants. J Lab Clin Med. 70:463-470, 1967.
- (6) BASU D, GALLUS A, HIRSH J, CADE J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. N Engl J Med. 287: 324-327,1972.
- (7) HULL R, RASKOB G, HIRSH J, et al. Continuous intravenous heparin compared with intermittent subcutaneous heparin in the initial treatment of proximal vein thrombosis. N Engl J Med. 315:1109-1114, 1986.

- (8) WAKKACHE M. Extracción de heparina plasmática por filtración en columna de ecteola-celulosa. En Manual de Hemostasia y Trombosis.(Grupo CLAHT).8ª ed. 1990,pág.189-190.
- (9) HEPARSORB®. Organon Teknika. Catálogo de producto N° 34175.
- (10) DAHLBÄCK B, CARLSSON M, SVENSSON PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl. Acad. Sci.USA 90:1004,1993.
- (11) SVENSSON PJ, DAHLBÄCK B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis N Engl J Med. 330:517-22,1994.
- (12) DE RONDE H, BERTINA R. Laboratory diagnosis of APC-resistance: A critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria. Thromb Haemost 72, 880-886,1994.
- (13) WIESINGER K,HOHENWALLNER W. Bestimmung der APC-Resistenz nach enzymatischem Abbau von Heparin durch DadeR Hepzym TM. Berichte der ÖGKC, Jg. 17,135-137,1994.

ANEXO A-1

Acción del captador de heparina sobre los valores de APTT y TT pre y post heparinización "in vitro" de 8 plasmas normales. HCFFAA - 1997.-

	APTT basal (s)	APTT(s)	APTT(s)	TT basal (s)	TT (s)	TT (s)
MUESTRA		c/H	c/C		c/H	c/C
1	28	89	29	20	>60	18
2	32	100	32	19	>60	19
3	25	60	27	22	>60	18
4	22	105	22	22	>60	20
5	27	80	29	20	>60	20
6	30	85	26	19	>60	22
7	27	90	27	19	>60	21
8	27	65	24	20	>60	17

ANEXO A-2

Acción del captador de heparina sobre los valores de TP y F pre y post heparinización "in vitro" de 8 plasmas normales. HCFFAA - 1997.-

	TP basal %	TP %	TP %	F basal g/L	F g/L	F g/L
MUESTRA		c/H	c/C		c/H	c/C
1	98	93	95	3.63	3.55	3.40
2	85	87	88	3.01	2.90	2.87
3	90	83	83	2.76	2.73	2.89
4	100	100	100	2.89	2.67	3.02
5	100	93	92	3.23	3.24	3.11
6	97	87	90	3.55	3.12	3.50
7	100	100	95	3.11	2.90	3.01
8	99	98	96	2.85	2.63	2.65

c/C: Test realizado luego del uso del Captador de Heparina
c/H: Muestra heparinizada "in vitro"

ANEXO B

Estudio de la influencia del captador en 6 plasmas RPCA positivos heparinizados "in vitro".

HCFFAA 1997

	Situación	Ratio (APTT + PCA / APTT sin PCA)
Paciente 1	Basal	1,7
	c/H	1,2
	c/C	1,6
Paciente 2	Basal	1,9
	c/H	1,2
	c/C	1,8
Paciente 3	Basal	1,8
	c/H	1,2
	c/C	1,8
Paciente 4	Basal	1,5
	c/H	1,2
	c/C	1,5
Paciente 5	Basal	1,3
	c/H	1,2
	c/C	1,5
Paciente 6	Basal	1,6
	c/H	1,2
	c/C	1,7

ANEXO C

Estudio de la influencia del Captador de Heparina en los resultados de crisis sanguínea de 40 pacientes heparinizados "in vivo".

HCFFAA 1997

NºP	APTT (s)	APTT (s)	TT (s)	TT (s)	TP %	TP %	F g/L	F g/L	Procedencia
		c/C		c/C		c/C		c/C	
1	40.0	30.0	19.0	19.0	76	77	6.85	7.00	CCI
2	46.0	36.0	33.0	16.1	62	65	2.78	2.86	CCI
3	47.0	27.0	33.8	16.3	58	59	8.53	8.43	CCI
4	38.8	26.0	>60	19.7	92	85	3.91	4.01	CCI
5	94.0	40.7	>60	19.0	64	60	3.12	3.33	CCI
6	>120	41.0	>60	24.0	73	73	3.98	4.02	CCI
7	>120	36.6	>60	18.0	40	45	2.93	2.96	CCI
8	>120	66.0	>60	36.0	49	50	3.86	3.87	CCI
9	30.0	31.8	29.7	20.0	79	78	2.26	2.25	CCI
10	95.0	37.0	>60	18.3	65	68	6.74	6.76	CCI
11	41.0	35.0	31.0	15.0	32	30	6.50	6.78	CCI
12	>120	59.5	>60	70.0	33	30	3.01	3.15	CCI
13	108.0	38.0	>60	18.2	76	85	2.75	2.79	CCI
14	69.0	34.0	>60	18.2	72	76	2.45	2.89	CCI
15	79.0	47.6	>60	16.8	48	53	3.38	3.28	CCI
16	51.0	32.7	>60	17.5	40	45	5.93	5.42	CCI
17	53.0	49.0	27.3	14.4	70	74	4.34	4.84	CCI
18	75.0	37.6	>60	14.7	39	44	6.19	6.44	CCI
19	82.0	48.6	>60	18.2	64	58	3.75	3.75	CCI
20	47.0	38.0	29.0	20.0	100	100	6.51	6.65	CCI
21	63.0	33.1	>60	21.7	56	60	5.74	5.56	CCI
22	>120	62.3	>60	31.2	85	84	3.86	4.01	CCI
23	94.0	35.4	>60	20.8	59	59	3.53	3.59	CCI
24	105.0	38.0	>60	44.6	75	76	1.70	1.83	CCI
25	108.0	35.0	>60	19.6	71	90	5.31	5.32	CCI
26	>120	56.0	>60	40.0	71	80	7.24	7.23	CCI
27	>120	37.0	>60	45.0	58	75	6.80	6.59	CCI
28	102.0	39.0	>60	41.6	76	76	2.21	2.66	CCI
29	73.0	57.0	37.0	22.8	66	68	3.22	2.97	CCI
30	87.0	38.0	>60	53.5	89	93	4.84	4.98	CCI
31	>120	72.0	>60	70.0	51	65	2.60	2.88	CCI
32	60.0	27.0	>60	18.0	83	83	2.73	2.89	CCI
33	80.0	29.0	>60	20.0	93	92	3.24	3.11	CCI
34	85.0	26.0	>60	22.0	87	90	3.12	3.50	CCI
35	65.0	24.0	>60	17.0	98	96	2.63	2.65	CCI
36	67.0	30.0	>60	23.0	80	83	3.26	3.53	CCI
37	46.0	32.0	34.0	17.0	62	60	2.78	2.86	CCI
38	47.0	30.0	33.0	18.0	92	87	3.90	4.11	CCI
39	>120	35.0	>60	23.0	58	70	5.96	6.43	CCI
40	>120	34.0	>60	23.0	79	72	2.26	2.38	CCI

CCI: Cuidados intensivos

NºP: Número de paciente

ANEXO D

Acción del captador sobre los valores basales y post heparinoterapia de APTT, PC y PS

	APTT seg	PC %	PS %
Paciente 1			
Basal	29	85	105
Heparinoterapia 40.000 UI/día	49	<10	<10
Heparinoterapia + captador	27	73	89
Paciente 2			
Basal	27	95	90
Heparinoterapia 40.000 UI/día	56	<10	<10
Heparinoterapia + captador	29	86	88
Paciente 3			
Basal	25	77	80
Heparinoterapia 40.000 UI/día	40	<10	<10
Heparinoterapia + captador	26	77	100

ANEXO E

Uso del captador en 22 plasmas contaminados con heparina . Valores de APTT, TT, TP y F pre y post empleo del neutralizador de heparina.

HCFFAA 1997

	APTT(s)	APTT(s) c/C	TT(s)	TT(s) c/C	TP %	TP % c/C	F g/L	F g/L c/C	Procedencia
1	89.0	41.0	>60	18.2	67	70	3.78	3.65	HD
2	40.0	31.0	>60	30.0	71	71	1.74	1.85	HD
3	69.0	32.6	>60	20.9	97	92	3.72	3.80	S
4	120.0	61.0	>60	60.0	34	49	3.28	3.74	N
5	120.0	35.5	>60	30.3	51	66	6.24	6.10	N
6	120.0	42.6	>60	60.0	58	70	5.96	6.43	N
7	56.0	30.0	>60	19.5	62	75	7.20	7.27	N
8	120.0	68.7	>60	19.5	50	65	5.29	5.38	N
9	73.0	81.0	>60	22.0	60	67	4.10	4.50	N
10	66.0	35.5	>60	18.1	99	99	5.55	5.45	S
11	120.0	30.5	>60	14.5	75	70	3.20	3.50	HD
12	120.0	70.0	>60	24.0	80	95	4.83	4.71	S
13	93.0	67.0	>60	60.0	100	100	4.51	4.93	S
14	89.0	29.0	>60	18.0	93	95	3.55	3.40	S
15	100.0	32.0	>60	19.0	87	88	2.90	2.87	S
16	105.0	22.0	>60	20.0	100	100	2.67	3.02	S
17	90.0	27.0	>60	21.0	100	95	2.90	3.01	S
18	100.0	28.0	>60	22.0	54	76	2.22	2.56	S
19	120.0	26.0	>60	22.0	50	70	3.02	3.22	S
20	80.0	26.0	>60	20.0	43	68	2.14	2.36	S
21	60.0	28.0	>60	20.0	35	60	2.76	2.89	S
22	77.0	28.0	>60	20.0	40	70	2.68	2.69	S

HD: Hemodiálisis - N: Nursery - S: Sala general