

ANÁLISIS DE FOSFOLÍPIDOS PROCOAGULANTES EN PLASMA DE PACIENTES AFECTOS DE HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA, PROCESADOS EN DIFERENTES CONDICIONES PREANALÍTICAS

C. Muñoz¹, S. Gil¹, E. Ojeda¹, I. Millán², R. Forés¹, G. Bautista¹, B. Navarro¹, P. García Marco¹, I. Krsnik¹, A. de la Iglesia¹, I. San Juan¹, C. Regidor¹, M. Piris¹, M. Santero¹, N. Claros¹, P. Beltrán¹, M. Cabero¹, D. Morillo¹, R. Gonzalo¹, T. Martín¹, B. Azcoitia¹, J.R. Cabrera¹

¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Bioestadística.

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid)

Fundamentos y Objetivos: La Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN) es una enfermedad clonal infrecuente, asociada a un mayor riesgo de trombosis; esta complicación se ha relacionado con la hemólisis, inhibición de la fibrinólisis o activación plaquetaria. También se ha atribuido a un aumento plasmático de micropartículas procoagulantes (MPP) de origen plaquetario. Hasta la fecha el análisis de MPP se ha realizado mediante Citometría de Flujo, ELISA, Microscopía Electrónica y generación de trombina, todas ellas técnicas laboriosas y caras. Recientemente se ha introducido la medición automática indirecta de MPP, mediante la determinación del tiempo de coagulación dependiente de fosfolípidos procoagulantes (PPL) (STA-Procoag-PPL, Stago®). El objetivo de este estudio es comparar los niveles de PPL, de pacientes afectados de HPN y Aplasia/HPN, con 20 sujetos sanos, en muestras procesadas en diferentes condiciones preanalíticas.

Pacientes y Métodos: Previo consentimiento informado, se seleccionaron 20 controles sanos, y 18 pacientes (15 HPN y 3 AA/HPN) seguidos ambulatoriamente en Hospital Universitario Puerta de Hierro. 15 eran varones y 3 mujeres; edad mediana 45,5 años (16-68); 12 habían recibido diversos tratamientos (Alemtuzumab, ATG) y 6 estaban sin tratar. Las muestras se sometieron a doble centrifugación a 2500 g x 15 min., separándose tres alícuotas; dos se almacenaron a -80°C, a -40°C respectivamente y una tercera se procesó en fresco. Se empleó una técnica coagulativa automatizada basada en el FXa.

Resultados: La media en los controles fue de 86,3±11,0 seg en fresco, 78,3±13,5 seg a -40°C y de 79,3±12,3 seg a -80°C. Estas diferencias fueron significativas entre las muestras en fresco, a -40°C ($p<0,01$) y a -80°C ($p<0,01$). En los pacientes HPN no tratados la media en seg., fue de 78,91 ±10,9 en fresco ($p=0,3$), de 67,4±13,6 a -40°C ($p=0,25$), y de 69,1±19,2 a -80°C ($p=0,26$). Los sujetos tratados mostraron unos valores en fresco para MPP de 88,1±12, 80,7±19 a -40, y 78,6±15 A -80°C, similares a los controles.

Conclusiones: Mediante técnica coagulativa automatizada, en los controles se aprecia un incremento de MPP, tras la congelación a -40, y menor a -80°C. En los pacientes HPN no tratados, se observa un aumento no significativo de MPP respecto a los controles (probablemente por el tamaño de la muestra). Estas diferencias desaparecen en los pacientes afectados de HPN sometidos a distintos tratamientos. Por lo tanto en los pacientes HPN existe un aumento en el nivel de MPP previamente al tratamiento, que es normal en los pacientes tratados.

Proyecto financiado en parte por Diagnostica Stago y Roche Diagnostics SL