

# DETERMINACION DEL DIMERO D EN PACIENTES CON ANTICOAGULANTE LUPICO

Lisbeth Salazar<sup>1</sup>, Rafael Jiménez<sup>2</sup>, Ileana Holst<sup>1</sup>, Fernando Madrigal<sup>3</sup> y Jorge Fonseca<sup>4</sup>

## RESUMEN

La determinación del dímero D es de gran utilidad para establecer el diagnóstico de trombosis venosa profunda; sin embargo, en los pacientes que presentan anticoagulante lúpico su hallazgo e importancia todavía no ha sido claramente definidos. Se analizan 80 pacientes con cuadros sugestivos del síndrome antifosfolípido.

Todos los pacientes estuvieron comprendidos entre 20 y 40 años de edad, 13 (16%) casos mostraron alguna prueba positiva del citado síndrome, cinco de ellos, 4 mujeres y 1 varón presentaron anticoagulante lúpico positivo y 8 casos, 6 mujeres y 2 varones evidenciaron anticuerpos anticardiolipina positivos. A los 13 pacientes se les realizó el dímero D por dos métodos, así como, los niveles de fibrinógeno y la presencia de productos de degradación del fibrinógeno (PDF). Los métodos de dímero D que se utilizaron fueron: la técnica de aglutinación indirecta con partículas de látex y la técnica de ELISA.

Los resultados obtenidos muestran que los pacientes con anticoagulante lúpico y/o anticuerpos anticardiolipina positivos y que presentan dímero D, muestran un cuadro de oclusión venosa que puede contribuir a la génesis de su problema trombotico. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1997; 18 -3:17-23).

**Palabras clave:** Dímero D, trombosis, anticoagulante lúpico.

## ABSTRACT

The determination of Dimer-D has a great value establishing the diagnosis of deep venous thrombosis. However, in patients that present lupic anticoagulant, its importance and discovery are still not well defined. Because of these reasons, an investigation was planned to evaluate its presence in 80 patients with descriptions suggesting the antiphospholipid syndrome.

All patients were aged 20 and 40 years. From the total sample studied only 13 cases (16%), showed a positive test for the mentioned syndrome. Five cases (1 man and 4 women) had positive lupic anticoagulant and 8 cases (2 men and 6 women) had positive the anticardiolipin antibodies. To the whole group of 13 patients the determination of Dimer-D was made by 2 different methods. The levels of fibrinogen and the presence of the fibrinogen degradation products were also realized. The methods used to determine Dimer-D were: indirect agglutination with latex particles, and an Elisa test.

The results obtained show that the patients with a positive lupic anticoagulant and/or a positive anticardiolipin

1. CIHATA, Unidad de Hemostasia y Trombosis, Universidad de Costa Rica
2. Laboratorio de Investigación Hospital Nacional de Niños. CCSS.
3. Hospital Materno Infantil Carit.
4. Laboratorio de Inmunología Hospital México. CCSS.

\* Correspondencia Dra. Lisbeth Salazar.

antibodies, together with the presence of Dimer D, describes cases with venous occlusion which contributes to the genesis of the thrombotic problem.

**Key words:** Dimer-D, thrombosis, lupic anticoagulant.

## INTRODUCCION

El dímero D es una proteína que se libera en la circulación sanguínea durante la ruptura del coágulo de fibrina. En condiciones normales la formación del coágulo se produce para prevenir la pérdida de sangre por los vasos dañados y es un proceso reversible; este coágulo de fibrina insoluble es producto de uniones covalentes entre polímeros proteicos (1,2).

La presencia de fibrina activa el sistema fibrinolítico, generando plasmina. Esta es una enzima activa que degrada el fibrinógeno liberando los productos de degradación del fibrinógeno (PDF), la cual actúa sobre el coágulo de fibrina y genera complejos diméricos de fibrina, conocidos como dímero D, y cuyo peso molecular aproximado es 200 kd (1). Cuando se forman coágulos en un tiempo y región errónea del cuerpo, producto de un proceso patológico, el dímero D se comporta como un marcador de gran valor para detectar la ocurrencia de un evento trombótico.

La asociación de anticuerpos antifosfolipídicos y un cuadro trombótico han sido descritos en la literatura (3). Posiblemente el mecanismo patogénico involucra un fallo en el sistema natural de anticoagulación, en donde se origina una producción anormal de trombina, la cual puede ser estimulada por la activación plaquetaria con la producción de tromboxano (4). La producción anormal de trombina se ha demostrado en pacientes con lupus eritematoso diseminado (LED) y anticoagulante lúpico

(AL), problema trombóticos (5) o sin él. La acción de los anticuerpos antifosfolipídicos sobre el sistema fibrinolítico ha sido investigada; sin embargo los resultados son controversiales (6), debido en parte a la heterogeneidad del grupo de pacientes estudiados, aunque sí se ha demostrado que los niveles aumentados de fibrinógeno correlacionan con la presencia de trombos arteriales en los pacientes con síndrome antifosfolipídico (6,7).

En el presente estudio se realizaron determinaciones de marcadores del sistema fibrinolítico a un grupo de pacientes con diferentes patologías que presentaban AL con anticuerpos anticardiolipina (AAC), o sin ellos, como causa primaria de trombosis.

## MATERIALES Y METODOS

### Pacientes

El estudio se llevó a cabo en 80 pacientes con edades entre 20 y 40 años, 57 mujeres y 23 varones, de diferentes centros hospitalarios, todos con evidencia clínica de problemas trombóticos: tromboembolismo pulmonar, trombosis venosa profunda, abortos recurrentes, hipertensión arterial, accidente vascular cerebral isquémico y cardiopatías.

### Determinación del anticoagulante lúpico y los anticuerpos anticardiolipina

Las muestras de plasma se recolectaron en tubos plásticos con citrato de sodio al 3,8% (9:1, vol:vol), y se centrifugaron a 2,500 x g por 20 minutos a temperatura ambiente.

La detección del anticoagulante lúpico se realizó mediante los lineamientos propuestos por el Subcomité de Estandarización de la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (8). En las pruebas de

escrutinio se utilizó el tiempo parcial de trombólplastina activado (TTPa), (CK Prest, Stago, Francia). La presencia del inhibidor se determinó realizando el TTPa con la mezcla 1:1 de plasma normal y del paciente y el tiempo de coagulación de kaolín (TCK), según Exner (9).

La prueba confirmatoria de AL, se basa en la neutralización plaquetaria, (PNP) (8,9); la cual fue considerada positiva para la presencia de AL, cuando la corrección fue menor o igual a 8 segundos.

Los anticuerpos anticardiolipina (AAC), (isotipo IgG e IgM) se determinaron por medio de la técnica de ELISA, utilizando el kit comercial (SIGMA) y se expresaron en unidades de fosfolípido IgM e IgG, (8).

### **Determinación de Fibrinógeno y Productos de Degradación del Fibrinógeno**

Los niveles del fibrinógeno se determinaron por el método coagulométrico, Fibrí-Prest, (Diagnostica Stago), el valor de referencia fue de 200-400 mg/dl. La presencia de productos de degradación del fibrinógeno (PDF) se analizó en el plasma de los pacientes, mediante el uso de partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales, el valor de referencia fue de  $< 5 \mu\text{g/dl}$  (FEU).

### **Determinación del dímero D**

La determinación del dímero D se logró mediante la técnica de aglutinación indirecta con partículas de látex (Diagnostica Stago) valor de referencia  $< 0,5 \mu\text{g/ml}$  (10).

La técnica de ELISA, (Asserachrom-Diagnostica Stago) se realizó siguiendo las instrucciones de los fabricantes y los resultados se expresaron en unidades de dímero D, con un valor de referencia de  $< 400\text{ng/ml}$  (11).

De los ochenta pacientes estudiados 13 (16,3%) fueron positivos por la presencia del AL con AAC o sin, él (Cuadro 1). El estudio clínico mostró que la mayoría de estos pacientes fueron investigados por eventos de trombosis o tromboembolismos de algún tipo, sea arterial o venoso. Los casos de los pacientes 2, 8 y 10 se estudiaron solamente por historia de abortos recurrentes.

En el Cuadro 2 se observa que 4 de 13 pacientes (30,8%) presentaron positividad tanto para el AL como de los AAC, y el resto de los pacientes (69,2%), sólo presentaron una de estas pruebas positivas.

En el grupo de pacientes positivos se evaluó su sistema fibrinolítico mediante las determinaciones de fibrinógeno y PDF. En el Cuadro 3, se evidencia que 6 pacientes (46%) mostraron una o varias determinaciones de fibrinógeno alteradas.

En el Cuadro 4 se indica el valor de los resultados alterados obtenidos de las diferentes pruebas para evaluar el sistema fibrinolítico. De los 6 paciente con estas pruebas alteradas, los pacientes 2 y 7 tienen valores elevados de DD tanto con la técnica de aglutinación con látex como con la de ELISA. Es importante anotar, que los pacientes 6 y 11 sólo evidencian la presencia de DD con la técnica de ELISA.

## DISCUSION

Investigaciones previas (3,4,12) relacionan la presencia de AL y/o AAC con la predisposición de trombosis y evidencian la necesidad de dilucidar los mecanismos involucrados con esta tendencia. En otros estudios se han propuesto varias hipótesis del posible mecanismo patogénico (5, 13). En la

mayoría de ellos se indica la importancia de la especificidad de los anticuerpos: su interferencia con la producción y liberación de prostaciclina de las células endoteliales (7), la interferencia en la vía de regulación de la proteína C, la proteína S (6,7), la inhibición de la acción de la proteína anticoagulante fosfolípido pla-cental-1 (PAP-1) (5), el daño en la célula endotelial y la activación de las plaquetas por los anticuerpos (5,7), el fallo en los mecanismos fibrinolíticos (5,14) y las alteraciones sobre la actividad de la antitrombina III (6).

En el presente estudio, de los 80 pacientes en los que se sospechó la presencia de un síndrome antifosfolípido, sólo el 16% presentaron positividad para esta patología. En el Cuadro 1, se indica la información de estos pacientes y se observa que la muestra estudiada presenta cuadros clínicos muy variados, a diferencia de la mayoría de los estudios en los que se evalúan los problemas trombóticos en los pacientes con LED donde la prevalencia del AL con o sin AAC es alto, en este estudio el 23% de los pacientes positivos lo presentaban.

En varias investigaciones se evidencia la generación de trombina y su posible acción sobre el fibrinógeno, a partir de los marcadores bioquímicos sensitivos (6,14) y el problema trombótico. Con base en estos hallazgos y mediante las diferentes pruebas de laboratorio para evaluar el sistema fibrinolítico, encontramos varias alteraciones en los pacientes positivos, según se indican en los Cuadros 3 y 4. Es importante la utilidad de la técnica de ELISA en la determinación del DD, la cual se reporta con mayor sensibilidad y especificidad que la prueba de látex (11,14,15).

También, se observa en los Cuadros 1, 2 y 3, que los pacientes que presentan AAC positivos, fueron los que mostraron más pruebas alteradas lo

cual concuerda con lo anotado por Ginsberg y colaboradores en 1993, ya que en su estudio observaron que los pacientes con este tipo de anticuerpos generaban más trombina que los que eran AAC negativos y concluyeron que dichos pacientes se podían catalogar como en estado pretrombótico al igual que un individuo deficiente de antitrombina III (5,14, 16).

En la presente investigación no podemos establecer una asociación directa, tipo causa efecto, entre la presencia de AL con AAC o sin él y las alteraciones en el sistema fibrinolítico, pero sí concordamos con lo informado en otros estudios previos acerca de la relación entre los problemas trombóticos y la presencia de estos anticuerpos. Asimismo, debido al riesgo trombótico de este grupo de pacientes es importante evaluar la necesidad de realizar o no las pruebas de coagulación para estudiar el sistema fibrinolítico, ya que han sido reconocidos en algunos estudios como importantes indicadores de una trombosis silenciosa. Así se podría evitar un evento de este tipo o una trombosis recurrente, que puede ser fatal para el paciente AL con AAC positivos o sin él.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece a la Vicerretoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el apoyo y financiamiento a la presente investigación (VI 807-96-329), y a los representantes de Diagnóstica Stago.

## REFERENCIAS

1. Harthaway, W. Goodnight, S.H. Disorders of Hemostasis and thrombosis. Mc Graw-Hill, Inc. 1993; 3-29.

2. Altman R, Aznar J, Rouvier, J, Sazziota A, Reussi R. Cuadernos de Trombosis. *Rev.Iber. Tromb.Hemost.*1995; 1-21.
3. Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid antibodies:Anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosu (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 1990;112:682.
4. Santoro, S. Antiphospholipid antibodies and thrombotic predisposition: underlying pathogenetic mechanisms. *Blood.* 1994; 83:2389-2391.
5. Ginsberg JS, Demers C, Brill-Edwards P, Johnston M, Bona R, Burrows RF, Weitz J, Denburg JA. Increased thrombin generation and activity in patients with systemic lupus erythematosus and anticardiolipin antibodies: evidence for a prothrombotic state. *Blood*,1993; 81: 2958-2963.
6. Ames P, Tommasino C, Iannaccone L, et al. Coagulation activation and fibrinolytic imbalance in subjects with idiopathic antifosfolipid antibodies- A crucial role for acquired free protein S deficiency. *Thromb Haemost.* 1996; 76:190-194.
7. Francis RB, Mc Gehee WG, Feistein DI. Endothelial-dependent fibrinolysis in subjects with the lupus anticoagulant and thrombosis. *Thromb Haemost.* 1988; 59:412-414.
8. Brand JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb Haemost.* 1990; 74:1185-1190.
9. Exner,T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1991; 65: 320.
10. Carter JC, Lynn D, Dawson N, Fowler S, Devine D. Investigations into the clinical utility of latex D-Dimer in the diagnosis of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1993; 69 (1):8-11.
11. Roul C, Elias A, Aillaud MF, et al. Evaluation of plasma D-dimer with 2 methods: latex and ELISA (Diagnostica Stago) in the diagnosis of deep venous thrombosis (DVT) "dans Xth" International congress on thrombosis. Athenes. 1988, abstract 295.
12. Keeling DM, Campbell SJ, Mackie IJ, Machin SJ, Isenberg DA. The fibrinolytic response to venous occlusion and the natural anticoagulants in patients with antiphospholipid antibodies both with and without systemic lupus erythematosus. *Br J Haematol.* 1991; 77:354-359.
13. Simioni P, Prandoni P, Zanon E, Saracino M, Scudeller A, Villalta S, Scarano L, Girolami B, Benedetti L, Girolami A. Deep venous thrombosis and lupus anticoagulant. *Thromb Haemost.* 1996;76:187-189.
14. Ginsberg JS, Siragusa S, Douketis J, Hohnston M, Moffat K, Stevens P, Brill-Edwards P, Panju A, Patel A. Evaluation of a soluble fibrin assay in patients with suspected deep vein thrombosis. *Thromb Haemost.* 1995; 74:833-836.
15. Bounameaux, H., Moerloose, P, Perrier, A, Reber, G. Plasma Measurement of D-Dimer as Diagnostic Aid in Suspected venous thromboembolism: an overview. *Thromb Haemost.* 1994; 71:1-6.
16. Zanon E, Saracino M, Simioni P, Cogo A, Fadin MA, Gavasso S, Girolami A. Prevalence of antiphospholipid antibodies and lupus anticoagulant in juvenile patients with objetively documented deep-vein thrombosis. *Clin Appl Thromb/ Haemost.* 1996; 2:69-73.

**CUADRO 1**  
**HALLAZGOS CLINICOS VRS ANALISIS DE LABORATORIO EN**  
**PACIENTES CON AL Y/O AAC (N=13)**

No.	Diagnóstico	Sexo	AL	AAC	DD*	DDe	Fgo	PDF
1	LED	F	+	+			N	
2	Abortos	F	-	+	+	+	A	
3	Raynaud	F	-	+			N	
4	Cardiopatía	F	-	+			N	
5	LED	F	+	-			N	
6	HTA	F	-	+		+	N	
7	TVP	F	-	+	+	+	A	+
8	Abortos	F	-	+			N	
9	LED	F	+	+			N	
10	Abortos	F	+	+			N	
11	H.P.	M	-	+		+	A	
12	TEP	M	+	+			A	+
13	HTA	M					A	

AL: anticoagulante lúpico presente. AAC: anticuerpos anticardiolipinas presentes IgG>23GPL, IgM>11 MPL. DD\*: látex +, > 0,5 ug/ml (FEU). DDe: ELISA +> 400 ng/ml. Fgo: fibrinógeno A: aumentado, > 400 mg/dl. PDF: productos de degradación del fibrinógeno > 5 ug/ml. LED: lupus eritematoso diseminado. HTA: hipertensión arterial. TVP: trombosis venosa profunda. HP: hipertensión pulmonar, TEP: tromboembolismo pulmonar.

**CUADRO 2**  
**HALLAZGOS DEL AL Y DE LOS AAC EN**  
**PACIENTES ESTUDIADOS (N=13)**

Positividad	Número	(%)
AL positivo único	1	7,7
AL positivo + AAC positivo	4	30,8
AAC positivo único	8	61,5
Total	13	100,0

**CUADRO 3**  
**HALLAZGOS EN LAS PRUEBAS DE FIBRINOLISIS EN EL GRUPO DE**  
**PACIENTES ESTUDIADOS CON AL Y/O AAC POSITIVOS (N=13)**

Determinaciones	Número de Casos	(%)
Pruebas normales	7	54
Una prueba alterada	2	15
Dos pruebas alteradas	2	15
Tres pruebas alteradas	1	8
Cuatro pruebas alteradas	1	8
Total	13	100

**CUADRO 4**  
**GRADO DE ALTERACION DE LAS PRUEBAS**  
**DE FIBRINOLISIS EN LOS PACIENTES AL Y/O AAC POSITIVOS**

Prueba	Valor Normal unidades	Número de Pacientes					
		2	6	7	11	12	13
DD* <sub>1</sub>	<05 µg/ml (FEU)	>0,5	>1,0	<1,0			
DDe	<400 ng/ml	576	742	1249	972		
Fgo	200-400 mg/dl	450		665	496	628	496
PDF	<5 µg/ml			>20		>20	

Paciente +: según el Cuadro 1. DD\*: látex. DDe: Elisa. Fgo: fibrinógeno. PDF: productos de degradación del fibrinógeno.