

Comparación de parámetros de actividad antitrombótica entre dos productos de enoxaparina

Jorge D Korin , Pablo Porterie, Lucía C Kordich

Diagno Lab

Jorge Korin

Dirección: Av Córdoba 3515 8° "B". Teléfono: 4963-0120. FAX: 4963-0120. CP 1188

E-mail: korin@connmed.com.ar

Fecha de recepción: 21-1-04

Fecha de aceptación: 5-4-04



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGIA, Vol. 8 N° 1: 9-13
Enero-Abril, 2004

RESUMEN

Aún después de más de 20 años del empleo de heparinas de bajo peso molecular (HBPM), existe considerable controversia acerca de si estos productos son intercambiables. Nuestras condiciones económicas suelen colocar al profesional encargado de la indicación en la incertidumbre entre su particular preferencia -avalada primariamente por documentación bibliográfica- y la disponibilidad del producto donde se desempeña. Por las características del mercado farmacéutico de la Argentina, puede darse la situación de no contar con ninguna HBPM, tener la opción entre varias HBPM o inclusive entre dos fuentes diferentes de una misma HBPM, con ambas ya aprobadas por el organismo fiscalizador competente. Con respecto a esta última situación, dado el distinto origen del medicamento, la escasez de estudios clínicos con el producto de más reciente introducción en nuestro país y la imposibilidad de afrontar un estudio comparativo de efectividad con puntos finales clínicos por el elevado número de individuos necesarios, creímos de utilidad comparar entre ambos algunos parámetros del efecto antitrombótico. Para ello, en 40 voluntarios se determinó la acción sobre la heparinemia, el aPTT y el Tiempo de Trombina, a las dos horas de una dosis subcutánea de 40 mg de enoxaparina de dos orígenes diferentes. Hubo una semana de intervalo entre ambas aplicaciones. Con los dos productos se obtuvo similar prolongación de las pruebas realizadas, si bien para demostrar igual efecto antitrombótico, sería conveniente una comparación directa con puntos finales clínicos relevantes.

INTRODUCCION

Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) han sido empleadas intensamente en los últimos 20 años especialmente en prevención y tratamiento de la enfermedad venosa tromboembólica (TEV) y en angina inestable¹. No obstante, existe aún considera-

ble controversia en varios aspectos tales como su real valor en profilaxis de pacientes de riesgo bajo y moderado de TEV, la posibilidad de intercambio de diversas HBPM², la relación entre la composición química y la eficacia antitrombótica³ y la utilidad y oportunidad del control de laboratorio en un paciente tratado con ellas⁴.

Teóricamente, el profesional responsable de su indicación debiera basar su preferencia sobre su experiencia personal, el soporte de las referencias bibliográficas y un análisis de costo efectividad para cada indicación. Sin embargo, en el desempeño médico diario en nuestro país con sus particulares condiciones económicas, es frecuente que la elección de la HBPM quede supeditada a la disponibilidad en la Farmacia de la institución. Esta suele estar determinada más por causas no médicas como precios relativos, resultados de licitaciones, corrupción administrativa, que por el consejo del especialista. Por las características del mercado farmacéutico de la Argentina, puede darse en períodos sucesivos y en un mismo lugar, la situación de no contar con ninguna HBPM, tener la opción entre varias HBPM o inclusive entre dos fuentes diferentes de una misma HBPM, teniendo ambas aprobación por el organismo fiscalizador competente. Este último caso es el de la enoxaparina, principio activo de un medicamento de larga data en nuestro país: Clexane, que ha recibido en otros países los nombres comerciales de Lovenox y Klexane y con el que se realizaron los estudios de mayor envergadura en las distintas indicaciones de la droga. Recientemente, está disponible en nuestro país otra preparación de enoxaparina cuya marca es Dilutol, la cual se exporta a la República de la India con el nombre comercial de Markparin. De acuerdo

a la A.N.M.A.T., esta enoxaparina sódica comparte con la previa el mecanismo de preparación - depolimerización alcalina y bencilación-, tiene un promedio de PM de 4200 a 4500 daltons y una alta relación Anti-Xa : Anti-IIa de 3.8. No se conoce si hay diferencias en la fuente de heparina original ni en el porcentaje de cadenas menores de 5400 daltons ("below critical length molecules" con < 17 unidades monosacáridas) ni en el de cadenas que contienen el pentasacárido de unión a antitrombina. Dado el distinto origen de la droga y la escasez de estudios clínicos con el producto de más reciente introducción en nuestro país, y por el interés del laboratorio productor de Dilutol, se compara por primera vez en humanos la actividad Anti-Xa, aPTT y tiempo de trombina alcanzados por cada una de las especialidades medicinales involucradas. Debido a la imposibilidad económica y material de afrontar un estudio comparativo de efectividad con puntos finales clínicos, creímos de utilidad efectuar una comparación de ambas enoxaparinas en algunos parámetros representativos del efecto antitrombótico.

MATERIAL Y METODOS

En 40 voluntarios sanos con edades entre 21 y 68 años, 23 mujeres y 17 varones, con peso entre 45 y 95 kg, se efectuaron las siguientes determinaciones: aPTT, T.de Trombina, heparinemia por método coagulométrico y cromogénico en muestras basales (MB) y a las 2 horas post-inyección subcutánea de Dilutol 40 mg. (Muestra MD) Las muestras basales fueron extraídas entre las 08 y 10 horas. Siete días más tarde se repitió el procedimiento post inyección de Clexane 40 mg (Muestra MC).

El aPTT fue determinado según método original⁵, de acuerdo con guías recientes^{6,7}.

El Tiempo de Trombina fue efectuado según método original⁸, de acuerdo con guías recientes⁶.

La heparinemia por método de coagulación se realizó con el reactivo STACLOT Heparin Diagnóstica Stago; para el método amidolítico se empleó el reactivo ROTACHROM Heparina Diagnóstica Stago.

Los controles utilizados fueron HEPANORM HBPM/LMWH Diagnóstica Stago y HBPM/LMWH Diagnóstica Stago. Las lecturas se efectuaron en el Automatizador Express Plus y en el BFT II Dade Behring.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de ANOVA para mediciones repetidas⁹. La comparación post-hoc de a pares se realizó con test de Scheffé. El nivel de significación establecido fue de alfa = 0.05

Los voluntarios firmaron un consentimiento para participar en el estudio de acuerdo a las normas habituales.

Dado que el estudio fue realizado en un Laboratorio de Análisis Clínico, con las inyecciones subcu-

táneas a cargo del profesional médico coautor (Dr Jorge Korin) y no contando, como es habitual, una institución de ese tipo con un Comité de Etica, se notificó al A.N.M.A.T el protocolo del estudio, según consta en Expediente N°1-47-10148-03-1.

RESULTADOS

Accion de ambas heparinas de bajo PM

1) APTT

En la Tabla 1 se muestran los promedios de aPTT en situación basal, y a las dos horas post inyección SC de Dilutol y Clexane.

Los resultados indican que las diferencias entre los aPTT fueron estadísticamente muy significativas ($p < 0.001$) tanto con test paramétrico como no paramétrico para las muestras MD y MC respecto de la MB. No se hallaron diferencias entre los aPTT de las muestras MD y MC ($p=0.97$)

2) Tiempo de trombina

En la tabla 2 se muestran los promedios de Tiempos de Trombina en la muestra basal y a las dos horas post inyección SC de Dilutol y Clexane.

Por ambas pruebas estadísticas se halló una diferencia muy significativa ($p < 0.001$) entre las muestras MD y MC respecto de la MB.

En un análisis post hoc (Scheffe) se determinó que estas fueron las diferencias entre los promedios de:

T.Trombina MB versus MD ($p < 0.001$)

T.Trombina MB versus MC ($p < 0.001$)

T.Trombina MD versus MC (p no s.)

3) Heparinemia por metodo coagulante

La heparinemia media obtenida por STACLOT en las muestras MD fue de 0.49 U Anti-Xa /ml con un DE de 0.1.

TABLA 1
Variación del aPTT en relacion con la enoxaparina empleada

| APTT | Valor Medio (Seg) | DE | Valor Mínimo (Seg) | Valor Máximo (Seg) |
|----------------------|-------------------|------|--------------------|--------------------|
| Basal (MB) | 41.8 | 3.32 | 35 | 45 |
| Dilutol (Muestra MD) | 47.1 | 3.79 | 40 | 55 |
| Clexane (Muestra MC) | 47.0 | 4.36 | 40 | 55 |

TABLA 2
Variación del tiempo de trombina en relación con la enoxaparina empleada

| T. de Trombina | Valor Medio (Seg) | DE | Valor Mínimo (Seg) | Valor Máximo (Seg) |
|----------------------|-------------------|------|--------------------|--------------------|
| Basal (MB) | 15.2 | 0.79 | 14 | 17 |
| Dilutol (Muestra MD) | 19.7 | 3.5 | 15 | 31 |
| Clexane (Muestra MC) | 18.5 | 4.0 | 14 | 30 |

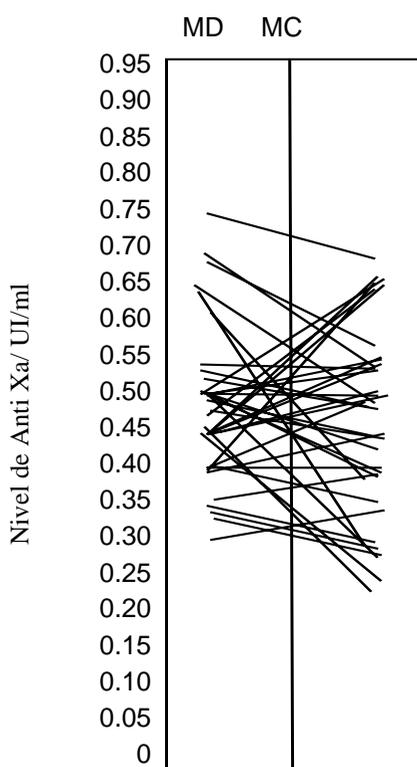


Fig. 1: Heparinemia por STACLOT

Para las muestras MC la media fue de 0.48 U Anti-Xa /ml con un DE de 0.12

Las diferencias son significativas entre las mediciones de heparinemia en MB vs. MD y MB vs. MC (Test de Scheffé $p < 0.0001$), pero no existen diferencias significativas entre los valores promedio de MD y MC (Test de Scheffé $p = 0.8284$)

En la figura 1 se representa para cada individuo el valor de heparinemia expresada en U Anti-Xa /ml por método coagulante obtenido a las 2 horas de la aplicación de Dilutol y de Clexane

4) Heparinemia por metodo amidolitico

La heparinemia media obtenida por ROTACHROM en las muestras MD fue de 0.59 U Anti-Xa/ml con un DE de 0.08.

Para las muestras MC la media fue de 0.58 U Anti-Xa/ml con un DE de 0.1

Las diferencias son significativas entre las mediciones de MB vs. MD y MB vs. MC (Test de Scheffé $p < 0.0001$), pero no existen diferencias significativas entre los valores promedio de MD y MC (Test de Scheffé $p = 0.7436$)

En la figura 2 se representa para cada individuo el valor de heparinemia expresada en U Anti-Xa/ml por método amidolitico obtenido a las 2 horas de la aplicación de Dilutol y de Clexane .

DISCUSION

Varias HBPM se han utilizado para profilaxis y tratamiento de diversos trastornos trombóticos. Cada HBPM es una droga diferente, obtenida a partir de heparina no fraccionada por métodos de depolimerización química o enzimática. Su peso molecular promedio puede variar de lote en lote y existe para cada una de ellas una diversidad de características con potencial valor para definir su perfil de eficacia y seguridad tales como: 1) origen de la heparina madre, 2) porcentaje de cadenas de muy bajo peso molecular, 3) número de estructuras de pentasacárido disponibles

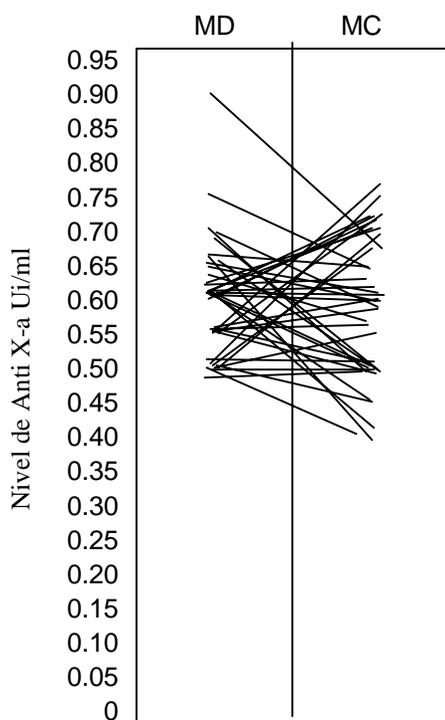


Fig. 2: Niveles de heparinemia por ROTACHROM

para unirse a Antitrombina, 4) grado de sulfatación y carga negativa, 5) afinidad por proteínas plasmáticas y de membranas, 6) interacción con plaquetas, 7) liberación de inhibidor de factor tisular ligado al endotelio, 8) interacción con citoquinas, selectinas y moléculas relevantes para la angiogénesis, 9) interacción con proteínas del sistema fibrinolítico, 10) interacción con sistema complemento. Sin embargo, en la evolución del conocimiento sobre estos agentes, ninguna de estas características y tampoco la más difundida relación Anti-Xa /Anti-IIa ha correlacionado adecuadamente con su capacidad antitrombótica¹⁰. Es cuestionable por lo tanto la medición de cualquier parámetro de laboratorio en un paciente bajo HBPM para fijar un nivel adecuado de anticoagulación, pudiendo en cambio, ser más útil para detectar sobredosificación por ejemplo, por insuficiencia renal. ¿Qué parámetros de laboratorio podrían teóricamente permitir comparar dos HBPM entre sí? Los niveles picos de actividad muestran valores muy diferentes para cada compuesto cuando se consideran dosis terapéuticas de ellos⁴. Las áreas bajo la curva de heparinemia son además de engorrosas de efectuar por las múltiples extracciones, difícilmente evaluables para comparación de dos productos por la variabilidad intrínseca de los métodos cromogénicos y coagulométricos de detección de actividad anti-Xa. Para enoxaparina 40 mg, los valores de concentración obtenidos en nuestro estudio: coagulable MD 0.49 U Anti-Xa /ml DE 0.1, MC 0.48 U Anti-Xa /ml DE 0.12, cromogénico MD 0.59 U Anti-Xa /ml DE 0.08, MC 0.58 U Anti-Xa/ml DE 0.1, son concordantes con los hallados previamente en voluntarios en la literatura (0.58 U Anti Xa/ml +/- 0.15)¹¹. Los métodos de medición de heparinemia por técnicas de coagulación o amidolítica arrojan resultados discretamente diferentes entre sí. El método amidolítico muestra valores levemente más elevados de Anti-Xa que el coagulante. Es difícil inferir si tiene más relevancia clínica para una HBPM inhibir el clivaje de un péptido que libere una sustancia cromogénica o prolongar una prueba en un sistema de coagulación. Debemos resaltar que los resultados sobre el aPTT se obtuvieron con reactivo de adecuada sensibilidad habitualmente no empleado en la práctica de laboratorio. El tiempo de trombina se halló discretamente prolongado más frecuentemente en las muestras MD que en las MC, sin significación estadística y sin correlación estricta entre esta variación y los niveles de heparinemia.

Se ha sugerido que una prueba simplificada y automatizada de generación de trombina –o potencial endógeno de trombina¹², pueda ser de utilidad para detectar la actividad de varios nuevos agentes antitrombóticos que aún no poseen un test específico que mida su efecto global. Sin embargo, aún no ha sido

validada en situaciones preclínicas o para el control de pacientes en la práctica cotidiana. Nuestro grupo ha trabajado previamente con una técnica de antitrombina modificada¹³ como medición de acción antiserino-proteasas potenciada por HBPM, pero no hemos podido definir su aplicabilidad clínica. Queda claro, pues que es altamente preferible la comparación de efectividad/seguridad con parámetros de relevancia clínica: puntos finales de trombosis venosa total, proximal, embolia pulmonar, muerte de causa vascular, sangrado mayor, índice de hemorragia, etc. El elevado número de individuos necesarios para un estudio de esas características, hace improbable su futura implementación. De hecho, en la revisión bibliográfica se aprecia que en muy contados casos dos diferentes HBPM se han comparado directamente entre sí.

En cirugía de cadera han demostrado similar efectividad la enoxaparina comparada con tinzaparin y con reviparin¹⁴.

En cirugía general la comparación directa favorece a nadroparin con respecto a dalteparin¹⁵. Con este panorama de fondo e intentando evaluar no ya dos HBPM diferentes sino dos orígenes diferentes de una misma HBPM -enoxaparina- hemos efectuado una comparación en los niveles de heparinemia, aPTT y T. de Trombina entre ambos productos. Los resultados no muestran diferencias relevantes entre ambos productos. Por lo tanto, y con los reparos antes expuestos en cuanto a validez de medición de algún parámetro de coagulación y correlación con la efectividad clínica, estos hallaz-

TABLA 3
Comparación entre Enoxaparina, Reviparin y Tinzaparina en cirugía electiva de cadera

| Estudio | Enoxaparina (%) | Otra HBPM (%) |
|----------------------------|-----------------|---------------|
| Enoxaparina vs Reviparin | | |
| TVP Total | 10 | 12 |
| TVP Proximal | 6 | 6 |
| Enoxaparina vs Tinzaparina | | |
| TVP Total | 20 | 21.7 |
| TVP Proximal | 10.5 | 9.5 |

TABLA 4
Comparación entre Nadroparin y Dalteparina en cirugía general

| Droga | Dosis UI Anti Xa | n | TVP* Total | TVP Proximal | p |
|-------------|------------------|----|------------|--------------|-------|
| Dalteparina | 2500 | 93 | 32% | 9.7% | |
| Nadroparin | 2850 | 92 | 16% | 5.4% | <0.02 |

gos sugieren que el nuevo producto incorporado al mercado farmacéutico argentino, enoxaparina "Dilutol", en conformidad con lo resuelto por la autoridad competente, podría ser empleado en las mismas dosis e indicaciones del producto tradicional enoxaparina "Clexane".

ABSTRACT

After more than 20 years of clinical use of low molecular-weight heparins (LMWH), controversies still persist concerning their interchangeability. The professional that indicates a LMWH should base his decision on references of the medical literature and cost-effectiveness analysis. However, our economic situation frequently reduces the possibility to choose to the availability of the products. In our country, it is either possible not to have any LMWH in stock, two or more to select, or even two different brands of the same LMWH. In the latter, it is important to consider the different sources of the two drugs, the scarcity of clinical trials published about the latest one introduced in the market and the possibility to afford a comparative study for efficacy and safety.

Therefore, we decided to compare the differences achieved in heparin levels, aPTT and Thrombin Time, in 40 volunteers 2 hours after a subcutaneous injection of two different brands of enoxaparin, within a one-week interval. Similar degree of prolongation of the aforementioned tests was observed with both sources of enoxaparin. Being a direct comparison with relevant clinical end points more informative, the large amount of patients required for such trial precludes its implementation.

BIBLIOGRAFÍA

- Weitz J. Low-molecular-weight heparins. *N Engl J Med* 1997; 337: 688-698
- Prandoni P. Low molecular weight heparins: Are they interchangeable? Yes. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 10-11
- Levi M. All heparins are equal, but some are more equal than others. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 884
- Boneu B, de Moerloose P. How and when to monitor a patient treated with low molecular weight heparin. *Sem Thromb Haemost* 2001; 27: 519-522
- Proctor RR, Rapaport SI. The partial thromboplastin time with caolin. *Am J Clin Path* 1961; 36: 212-219
- NCCLS. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays. Approved guideline. Third Edition *NCCLS Document H21-A3*, 1998
- NCCLS. One stage prothrombin time test and activated partial thromboplastin time test; Approved guideline. *NCCLS document H47-A*; 1996
- Jim RTS. A study of the plasma thrombin time. *J. Lab Clin Med* 1957; 50: 45-60
- Dawson-Saunders B; Trapp, G. R.: Bioestadística Médica. 3ª Edición. *Ed. Manual Moderno*. México D.F., 2002
- Nenci GG. Low molecular weight heparins: Are they interchangeable?: No. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 12-13
- Agnelli G. Pharmacological activities of heparin chains: Should our past knowledge be revisited?. *Haemostasis* 1996; 26 (Suppl 2): 2-9
- Hemker HC, Beguin S. Thrombin generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential. *Thromb Haemost* 1995; 74: 134-138
- Duboscq C, Quintana I, Korin Jorge y col. Serinoproteases inhibition capacity assay (SICA). *Thrombosis and Haemostasis* 1995; 73: 1322
- Planes A, Samama MM, Lensing AWA y col. Prevention of deep vein thrombosis after hip replacement. *Thromb Haemost* 1999; 81: 22-25
- Bounameaux H, Huber O, Khabiri E.. Unexpectedly high rate of phlebographic deep venous thrombosis following elective general abdominal surgery among patients given prophylaxis with low-molecular-weight heparin. *Arch Surg* 1993; 128: 336.