

# Marcadores de trombosis en el infarto agudo de miocardio

**RAUL ALTMAN, ENRIQUE GURFINKEL, ALEJANDRA SCAZZIOTA, JORGE ROUVIER  
BRANCO MAUTNER**

Centro de Estudios Médicos y Bioquímicos y Unidad Coronaria, División Cardiología, Hospital Fernández, Buenos Aires

Trabajo recibido para su publicación: 4/92. Aceptado: 7/92

*Dirección para separatas:* Dr. Raúl Altman, Viamonte 2008, (1056) Buenos Aires, Argentina

**En diez voluntarios normales y en 21 pacientes con infarto agudo de miocardio se determinaron las concentraciones plasmáticas de factores relacionadas con el endotelio vascular y con los mecanismos de coagulación. Se halló aumento en la concentración de productos liberados por el endotelio: el activador tisular del plasminógeno (pacientes:  $14,2 \pm 6$  ng/ml; normales:  $5,1 \pm 2,7$ ;  $p < 0,01$ ), el complejo activador tisular del plasminógeno/inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno (pacientes:  $6,5 \pm 2,6$  ng/ml; normales:  $1,3 \pm 0,2$  ng/ml;  $p \neq 0,01$ ) y el inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno (pacientes:  $45,1 \pm 15$  ng/ml; normales:  $20,6 \pm 16$  ng/ml;  $p < 0,01$ ). La formación de trombina se detectó a través de la concentración del complejo trombina-antitrombina III. Los niveles plasmáticos se encontraron aumen-**

tados en los pacientes con infarto agudo de miocardio:  $13,9 \pm 11$  ng/ml, con respecto a los normales:  $5,5 \pm 2$  ng/ml ( $p < 0,01$ ). Se concluye que, entre las determinaciones realizadas, la concentración del activador tisular del plasminógeno, el inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno y del complejo trombina-antitrombina III, son marcadores de trombosis en el árbol coronario.

La arteriografía coronaria y la angioscopia han mostrado la importancia de la trombosis coronaria en el infarto agudo de miocardio (IAM). La generación de trombina a partir de la activación de las plaquetas y de los mecanismos de coagulación intrínseco y extrínseco juega un papel fundamental en la formación del trombo oclusivo. El endotelio vascular reacciona liberando sustancias que son propias de su capacidad de síntesis, que pueden ser detectadas en el plasma y constituir marcadores trombogénicos útiles para establecer diagnóstico y evolución de la enfermedad. En este trabajo se trata de establecer la existencia de algunos marcadores de trombosis en el IAM.

#### MATERIAL Y METODO

Diez voluntarios normales y 21 pacientes que presentaron un cuadro de IAM (dolor mayor de veinte minutos de evolución que no cedió a los nitritos, supradesnivel electrocardiográfico del segmento ST y aumento de la creatinofosfoquinasa sérica) fueron incluidos en este estudio. Todos los pacientes recibieron bloqueadores beta y aspirina.

Las muestras de sangre venosa fueron extraídas en el momento del ingreso en la unidad coronaria, habiendo transcurrido entre 38 y 365 minutos a partir del inicio de la sintomatología (media 232 minutos). La sangre fue recogida en tubos de plástico que contenían citrato de sodio 0,11 M en proporción 0.1:1 v/v y colocado en hielo, centrifugada dentro de las dos horas a 1.600 xg durante veinte minutos en frío para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP). El PPP fue congelado en tubos plásticos a  $-25^{\circ}\text{C}$  hasta que se realizaron las determinaciones.

Para la determinación del activador tisular del plasminógeno (t-PA), la sangre fue recogida con citrato de sodio 0,11 M acidificado con ácido cítrico a pH 4,5. El recuento de plaquetas se realizó con un citómetro Cellanalyzer Ca 460, Medonic, Suecia; el dosaje de fibrinógeno, con el método de Clauss.<sup>1</sup> El tiempo de protrombina, de tromboplastina parcial activada con caolín, factor VIIIc y tiempo de trombina se efectuaron con los métodos habituales<sup>2</sup> en el plasma pobre en plaquetas, dentro de las tres horas de extraída la muestra.

El nivel de antígeno de von Willebrand se

determinó con la técnica de Laurell<sup>3</sup> usando un antisuero de conejo (Dakopatts, Glostrup, Dinamarca). La actividad de t-PA fue medida con el método cromogénico Spectrolyse de American Diagnostis, USA. La concentración de t-PA y del complejo t-PA/PAI-1 fue determinada con un método ELISA de Diagnostis Stago, Asnières, Francia.

El inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI-1) fue medido con el Tintelize PAI-1 de Biopool, Umea, Suecia. El activador tipo uroquinasa del plasminógeno (u-PA) fue dosado con el Chromolize u-PA de Biopool, Umea, Suecia. Los productos de degradación de la fibrina estabilizada indicadores de lisis de fibrina (Dímeros-D) fueron graduados con un método ELISA (Asserachrom D-Di, Diagnostis Stago, Francia).

El complejo trombina-antitrombina (TAT) fue analizado con el Enzygnost-TAT de Behringwerke, Marburg, Alemania. El cofactor de la ristocetina se midió con la técnica de MacFarlane<sup>4</sup>, usándose ristocetina de Lundbeck, Copenhagen, Dinamarca.

El estudio estadístico se realizó aplicando el test de Student cuando las varianzas de ambos grupos eran similares; en caso contrario se utilizó el método aproximado de Cochran. Se consideró significativa una  $p$  igual o menor a 0,05.

#### RESULTADOS

Las pruebas globales de coagulación, el conteo de plaquetas, el dosaje de factor VIII coagulante, el factor de von Willebrand considerado como

Tabla 1

	Normales (n = 10)	IAM (n = 21)
t-PAa (UI/ml)	$1,2 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,6$
Dímero-D (ng/ml)	$34 \pm 6$	$31 \pm 12$
vWag (%)	$96 \pm 18$	$94 \pm 19$
Rcf (%)	$90 \pm 12$	$97 \pm 20$
u-PA (ng/ml)	$0,5 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,2$

t-PAa: Actividad funcional del activador tisular del plasminógeno. Dímero-D: Productos de degradación de fibrina. vWag: Factor von Willebrand. Rcf: Cofactor de ristocetina. u-PA: Activador tipo uroquinasa del plasminógeno.



proteína o como cofactor de la ristocetina, no mostraron diferencias entre los pacientes con IAM y el grupo de voluntarios normales.

Tampoco fue diferente la concentración de u-PA entre controles y pacientes. Algo semejante ocurrió con los productos de degradación de la fibrina dosados como dímeros D (Tabla 1). La concentración del t-PA (Tabla 2) fue significativamente mayor ( $p < 0,01$ ) en los pacientes con IAM que en el grupo control. Igualmente la concentración del complejo t-PA/PAI-1 ( $p = 0,01$ ), el PAI-1 ( $p < 0,01$ ) y el complejo trombina/antitrombina III ( $p < 0,01$ ) se encontraron aumentados en los pacientes con IAM. Pero el aumento en la concentración del t-PA no fue acompañado de un incremento significativo de su actividad.

### DISCUSION

La lesión endotelial y la secuencia ulterior de adhesión/agregación plaquetaria y formación de fibrina determinan la activación de los mecanismos de coagulación, por una parte, y por otra, la liberación desde el endotelio y las plaquetas de sustancias relacionadas con la hemostasia y la fibrinólisis. Es sabido que después de la estasis venosa o de la administración de desmopresina, un análogo sintético de la vasopresina,<sup>5</sup> se produce la liberación de sustancias presentes en el endotelio vascular. Es el caso del t-PA, del PAI-1 (aumenta por otras razones, no es producto endotelial), del factor von Willebrand, del u-PA, etc.<sup>6, 7</sup>

Si durante el proceso de formación el trombo mismo o algunas enzimas, como la trombina, son capaces también de producir un efecto de liberación similar, no está todavía suficientemente claro y podrían constituir marcadores de interés para determinar las características evolu-

tivas de los pacientes con IAM e, inclusive, el valor de la terapéutica anticoagulante o con inhibidores de la función plaquetaria, en la prevención de los accidentes tromboembólicos que complican al IAM.<sup>8</sup> La activación de los mecanismos de coagulación produce la formación de trombina, especialmente en la zona próxima al trombo; parte de esta trombina queda adsorbida por la fibrina y puede ser liberada durante la actividad lítica que espontáneamente se produce al liberarse t-PA del endotelio. El incremento de los dímeros D es evidencia directa de la actividad lítica local. La trombina es neutralizada por la antitrombina III, formando un complejo que puede ser detectado en el plasma.

En nuestros pacientes estudiamos el comportamiento del endotelio a través de la concentración plasmática de sustancias que son liberadas por las células endoteliales. El t-PA total, libre y unido al PAI-1, aumentó casi tres veces con respecto a los normales pero la actividad de t-PA no se encontró elevada. Relacionado con este hecho, tampoco los dímeros D estuvieron por encima de lo normal. Ello permitiría deducir que, estando también incrementada la concentración del inhibidor PAI-1 y del complejo t-PA/PAI-1, la reacción endotelial frente al trombo se traduce cuantitativamente por una liberación del t-PA que no tiene expresión periférica porque la liberación concomitante de su inhibidor, el PAI-1, hace desaparecer su actividad lítica por lo menos en las primeras horas del infarto. Estos resultados no coinciden con los de Francis y colaboradores<sup>9</sup> y con los de Kruskal y colaboradores,<sup>10</sup> quienes encuentran dímeros-D aumentados después del IAM. Tal vez el aumento de los dímeros-D en el plasma, aun habiendo actividad lítica local, puede ser prevenido por la estasis que la oclusión total del vaso produce en las arterias coronarias, por lo que la lisis podría tener expresión periférica más tardía.

El aumento del complejo TAT es una clara idea de la importancia de la trombina en esta patología, y nuestros resultados coinciden con los de Munkvad y colaboradores;<sup>11</sup> según Fuster y Chesebro<sup>12</sup> indicaría un daño endotelial y subendotelial importante. Por otra parte, el factor von Willebrand no se modificó pero la ingestión de bloqueadores beta puede evitar su liberación desde la célula endotelial.<sup>13</sup>

Tabla 2

	t-PA/PAI-1 (ng/ml)	t-PA (total) (ng/ml)	PAI-1 (ng/ml)	TAT (ng/ml)
IAM	6,5 ± 2,6 (n = 18)	14,2 ± 6,0 (n = 21)	45,1 ± 15 (n = 15)	13,9 ± 11 (n = 8)
Normales (n = 10)	1,3 ± 0,2	5,1 ± 2,7	20,6 ± 16	5,5 ± 2
	p = 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01

t-PA/PAI-1: Activador tisular del plasminógeno / Inhibidor del activador tisular del plasminógeno. t-PA (total): Activador tisular del plasminógeno libre y unido al inhibidor. PAI-1: Inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno. TAT: Complejo trombina/antitrombina III.

### CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este estudio concluimos que, de entre las determinaciones reali-

zadas en pacientes con IAM, la concentración del activador tisular del plasminógeno (t-PA), el inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno (PAI-1) y del complejo trombina-anti-trombina III (TAT), son suficientemente significativos como para constituir marcadores de trombosis en el árbol coronario.

#### SUMMARY

Plasma markers of thrombosis in patients with acute myocardial infarction were evaluated in this study. Factors released from endothelium (tissue plasminogen activator, tissue plasminogen activator inhibitor-1, von Willebrand factor antigen, ristocetin co-factor, urokinase-type plasminogen activator) and hemostatic factors (platelet, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, factor VIII coagulant activity, thrombin time, cross-linked fibrin-degradation products and thrombin-antithrombin III complex) were assayed in 10 volunteers and in 21 patients with acute myocardial infarction. Tissue plasminogen activator (patients:  $14.2 \pm 6$  ng/ml; controls:  $5.1 \pm 2.7$ ;  $p < 0.01$ ), tissue plasminogen activator-tissue plasminogen activator inhibitor-1 complex (patients:  $6.5 \pm 2.6$  ng/ml; controls:  $1.3 \pm 0.2$  ng/ml;  $p = 0.01$ ), tissue plasminogen inhibitor-1 (patients:  $45.1 \pm 15$  ng/ml; controls:  $20.6 \pm 16$  ng/ml;  $p < 0.01$ ) were increased at admission in patients with acute myocardial infarction compared to normal volunteers. Thrombin generation detected through the thrombin/antithrombin III complex concentration (patients:  $13.9 \pm 11$  ng/ml; controls:  $5.5 \pm 2$  ng/ml;  $p < 0.01$ ) was also elevated in patients with acute myocardial infarction at admission. We conclude that some plasma markers released from the endothelial cells (tissue plasminogen activator and tissue plasminogen inhibitor 1) and the thrombin/antithrombin III complex (expression of thrombin generation) are useful markers of thrombosis in patients with acute myocardial infarction.

#### Agradecimiento

Al Dr. Ricardo Glancszpigel por la realización del estudio estadístico.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Clauss A: Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol* 1957; 17: 237-246.
2. Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis: Manual de Hemostasia y Trombosis. Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, 1990.
3. Laurell CB: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Analyt Biochem* 1966; 15: 45-52.
4. Macfarlane DE, Stibble J, Kirby EP, Zucker MB, Grant RA, McPherson J: A method of assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 34: 306-308.
5. Kohler M, Hellstern P, Miyashita C, von Blohn G, Wenzel E: Comparative study of intranasal, subcutaneous and intravenous administration of desamino-D-arginine vasopressin (DDAVP). *Thromb Haemostas* 1986; 55: 108-111.
6. Mannucci PM: Desmopressin (DDAVP) for treatment of disorders of hemostasis. *Prog Hemost Thromb* 1986; 19-45.
7. Levi M, ten Cate JW, Dooijewaard G, Sturk A, Brommer EJP, Agnelli G: DDAVP induces systemic release of urokinase-type plasminogen activator. *Thromb Haemostas* 1989; 62: 686-689.
8. Turpie AGG, Robinson JG, Doyle DJ et al: Comparison of high dose with low dose subcutaneous heparin to prevent left ventricular mural thrombosis in patients with acute transmural anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1989; 320: 352-357.
9. Francis ChW, Connaghan DG, Scott WL, Marder VJ: Increased plasma concentration of cross-linked fibrin polymers in acute myocardial infarction. *Circulation* 1987; 75: 1170-1187.
10. Kruskal JB, Commerford PJ, Franks JJ, Kirsch RE: Fibrin and fibrinogen-related antigens in patients with stable and unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 1987; 317: 1361-1365.
11. Munkvad S, Jespersen J, Gram J, Kluft C: Interrelationship between coagulant activity and tissue-type plasminogen activator (t-PA) system in acute ischaemic heart disease. Possible role of the endothelium. *J Int Med* 1990; 228: 361-366.
12. Chesebro JH, Fuster V: Dynamic thrombus and thrombolysis. Role of antithrombin. *Circulation* 1991; 83: 1815-1817.
13. Pina Cabral JM, Cunha Monteiro A, Sousa Dias MC, Andrade JA: Effect of propranolol, barbiturate, anesthesia and splenectomy on factor VIII:C and plasminogen activator release induced by DDAVP: An experimental study on the dog. *Thromb Haemostas* 1989; 62: 784-787.