

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

**DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS**

**CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ  
HEMOCE**

**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E  
HEMOTERAPIA**

**28 de fevereiro de 1997  
Fortaleza - Ceará**

**JOSÉ MANUEL DA SILVA**

**Estudo Comparativo entre o Teste  
de Inibição de Tromboplastina e o  
Tempo de Veneno Víbora de Russel**

**Trabalho apresentado  
como requisito final  
ao XI Curso de Espe-  
cialização em Hema-  
tologia e Hemoterapia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**Fortaleza - Ceará**

**1997.**

**JOSÉ MANUEL DA SILVA**

**Orientador: Gentil Galiza**

**Estudo Comparativo entre o Teste  
de Inibição de Tromboplastina e o  
Tempo de Veneno Víbora de Russel**

**Trabalho apresentado  
como requisito final  
ao XI Curso de Espe-  
cialização em Hema-  
tologia e Hemoterapia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**Fortaleza - Ceará**

**1997.**

## NOTA DE AGRADECIMENTO

- Ao Dr. **José Murilo Martins**, pela seleção de meu nome na XI Turma, Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia e pela confiança em mim depositada no decorrer do curso.
- Aos meus pais, minha eterna gratidão e respeito pelo que em mim investiram.
- Ao Dr. **Gentil Galiza**, pela participação neste trabalho e amizade conquistada.
- À Dra. **Vanja** pelo seu apoio, amizade e carinho transmitida ao longo de toda atividade acadêmica.
- Aos amigos(as) conquistados(as) durante o curso, pela companhia, brincadeiras e descontrações valorosas em especial a **Silvia e Cátia**.
- Aos funcionários do HEMOCE pela disponibilidade e cooperação de todos os dias.

## ÍNDICE

Resumo.....	5
Introdução.....	6
Revisão de Literatura.....	7
Material de Métodos.....	10
Resultados.....	12
Discussão.....	16
Conclusão.....	18
Abstract.....	19
Bibliografia.....	20

## **RESUMO**

Realizamos estudo comparativo entre o Teste de Inibição de Tromboplastina (TTI) e o Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluído (TVVRD) em 26 pacientes (22 mulheres e 4 homens) do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e do Serviço de Hematologia e Hemoterapia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) para a identificação do anticoagulante lúpico. Utilizamos como grupo controle 30 doadores de sangue (12 mulheres e 18 homens) selecionados por triagem médica. Detectamos dois casos positivos para TTI (em mulher), representando 7,69% do total estudado e 10 positivos (nove mulheres e um homem) para o TVVRD, o que representa 38,46% dos pacientes com anticoagulante lúpico. Concluímos que não há significância estatística entre resultados positivos e sexo feminino e quanto ao maior número de resultados positivos pelo método TVVRD em relação ao TTI.

## INTRODUÇÃO

O anticoagulante lúpico é constituído por anticorpos IgG e IgM, que agem prolongando os testes de coagulação fosfolípidos-dependentes, por serem reativos contra os fosfolípidos aniônicos (1,6,7,4,22). Há tempos atrás eram reconhecidos apenas em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, hoje tem sido descrito em várias condições clínicas: Traumatismo, Cirurgias (pós-operatório), Imobilidade, Insuficiência Cardíaca, Síndrome nefrótica, Veias varicosas, Embolia pulmonar, Acidente vascular cerebral, Infarto agudo do miocárdio e ocasionalmente é encontrado em indivíduos aparentemente normais. Tornou-se claro que a presença do anticoagulante lúpico é um fator de risco para trombose, associado tanto a trombose venosas quanto a trombose arterial. (1,3,4,5,6,9,11,17,22)

A importância clínica do anticoagulante lúpico está em determinar maior risco de doença tromboembólica, mais comumente Trombose Venosa profunda, embolia pulmonar e trombose de outros Vasos Calibrosos. (17,22)

O anticoagulante lúpico inibe a ligação dependente do cálcio ( $Ca^{++}$ ) da protrombina e do fator Xa aos fosfolípidos, impedindo a atividade do complexo fosfolípidos necessária a conversão da protrombina em trombina. Habitualmente em presença do anticoagulante lúpico, há uma anormalidade (teórica) nas reações coagulantes dependentes dos fosfolípidos, incluindo-se o tempo de protrombina, o tempo da tromboplastina parcial ativado e outros testes. (3,8,7,11,22)

Este trabalho tem como objetivo realizar um estudo comparativo entre o Teste de Inibição da Tromboplastina e o Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluído para a identificação do anticoagulante lúpico em pacientes atendidos no Hospital Universitário Walter Cantídio. E assim avaliar objetivamente qual exame laboratorial é mais sensível e/ou específico na detecção do(s) anticorpo(s) anticoagulante circulante.

## REVISÃO DE LITERATURA

O Estudo sobre a hipercoagulabilidade vai ficando cada vez mais bem definido e claro, à medida que surge novas informações sobre a hemostasia e o aparecimento de novas técnicas, utilizadas para a definição e avaliação de distúrbios trombóticos e tromboembólicos, resultando em respostas importantes quanto à sensibilidade e especificidade.

O Estado da hipercoagulabilidade, também chamado de estado pré-trombóticos, é um grupo de anormalidades mal definidas associado a algumas condições clínicas como: Traumatismo, Imobilidade, Cirurgia geral, Estado pós-operatório, Insuficiência cardíaca, Síndrome nefrótica, Veias varicosas, Gestação. Sepse. Obesidade, Anticoncepcionais orais, Terapia Estrogênicas, Aterosclerose, Tabagismo, Hipertensão, Diabetes, Dislipoproteinemias, História familiar trombótica, Insuficiência Ventricular esquerda e Policitemia. Estas condições clínicas estão associadas ao aumento do risco de trombose arterial ou Venosa e Tromboembolia. (22,17)

Os distúrbios hereditários e adquiridos das proteínas sangüíneas associadas a hipercoagulabilidade e a trombose são, distúrbios da proteína C (Deficiência congênita e adquirida de proteína C e anormalidade do cofator para proteína C ativada), deficiência da proteína S (Deficiência congênita e adquirida da proteína S), Anormalidades da antitrombinas III (Deficiência hereditária e adquirida da antitrombina III), Anormalidade do cofator II da heparina (Deficiência congênita e adquirida e do cofator II da Heparina), Anormalidades do sistema fibrinolítico (Deficiência congênita do plasminogênio, Anormalidades do ativador e inibidor do plasminogênio tecidual) e os anticorpos antifosfolipídicos. Estes últimos incluem os anticorpos anticardiolipina e o anticoagulante lúpico, ambos envolvidos na Síndrome trombótica do antifosfolipídio. Sendo também considerados distúrbios adquiridos das proteínas sangüíneas associadas a trombose tanto Venosa quanto arterial. (22,17,11,12,9,13)

A Síndrome trombótica do antifosfolipídio (APL -T) consiste, na verdade, em duas síndromes clínicas diretamente relacionadas, ainda que diferentes: (1) a Síndrome Trombótica do anticoagulante lúpico e (2) a Síndrome Trombótica do anticorpo anticardiolipina. Embora semelhantes há diferenças clínicas, laboratoriais e bioquímicas marcantes, com relação a prevalência, etiologia, prováveis mecanismos de ação, apresentação clínica, diagnósticos e tratamento. (22,9,13,12)

A Síndrome do anticorpo antifosfolipidio anticardiolipina é muito mais comum que a síndrome do anticoagulante lúpico mostrando uma relação 5:1. Essas duas síndromes podem estar associadas à trombose, abortamento fetal e trombocitopenia, em ordem decrescente de prevalência contudo, a síndrome da anticardiolipina comumente é acompanhada de tromboses arterial e venosa,

incluindo trombose típica das veias profundas e embolia pulmonar, doença coronariana prematura, doença cerebrovascular precoce e doença vascular retiniana. O anticoagulante lúpico, embora esteja associado em alguns casos à doença arterial, na maioria das vezes se acompanha de trombose venosa. (11,12,13,9,22,17)

As duas síndromes antifosfolipídicas podem ser encontradas em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES), doenças do tecido conjuntivo, distúrbios auto-imunes, assim como em outras condições clínicas como os linfomas. A maioria dos indivíduos que desenvolvem a síndrome trombótica do anticorpo antifosfolipídico anticardiolipina ou a síndrome do anticoagulante lúpico é saudável no que diz respeito à ausência de qualquer outra condição clínica subjacente, esses pacientes são classificados como portadores da síndrome APLT-primária, em oposição à síndrome APLT - secundária. (1,22,21,11)

Em 1952, Conley e Hartmann descreveram um distúrbio da coagulação em dois pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Eles apresentavam atividade anticoagulante nos exames *in vitro* que se evidenciava por prolongamentos do tempo de coagulação sanguínea global e do tempo de protrombina. O nome anticoagulante lúpico na realidade é incorreto. O termo foi originalmente criado como descritivo porque estes primeiros pacientes (LES) apresentavam sintomas de sangramento. Após este relato inicial, tornou-se evidente que os anticoagulantes lúpicos usualmente não estão associadas com sangramento, a menos que anormalidades hemostáticas concomitantes estejam presentes. Além disso, muitos pacientes com anticoagulante lúpico não tem LES. Uma proporção muito pequena de pacientes com LES e anticoagulante lúpico apresentam-se com hipoprotrombinemia (baixos níveis de fator II) e sintomas de sangramento. Estes aparentemente têm um anticorpo que retira o fator II da circulação. (22,17,1,13)

Atualmente está demonstrado que doenças auto-imunes podem levar o paciente a desenvolver uma imunoglobulina que tem a capacidade de prolongar os testes de coagulação dependente de fosfolípidos. Esta Imunoglobulina também é encontrada em outras patologias, inclusive neoplasias malignas, distúrbios linfoproliferativos e infecções virais, especialmente pelo vírus da imunodeficiência Humana (HIV). Há uma associação com alguns medicamentos como clorpromazina, procainamida, quinidina, hidralazina, dilantina, interferon e sulfadoxina mais pirimetamina. (22,17)

Os pacientes com anticoagulante lúpico tem maior risco de doença tromboembólica, mais comumente trombose de outros vasos calibrosos. A tromboembolia ocorre em cerca de 10% dos pacientes com (LES) e quando acontece concomitante com o anticoagulante lúpico, a ocorrência é de até 50% dos casos. As estimativas indicam que o anticoagulante lúpico seja responsável por 6 a 8% das tromboses dos indivíduos normais. Também têm sido

observado associações com abortamentos fetais recorrentes, distúrbios neuropsiquiátricos, trombose vascular renal, trombozes de vasos da derme e trombo-citopenia. (22,17,1,9,11,8)

A Síndrome Trombótica do Anticoagulante Lúpico primária é muito mais comum que a secundária, ocorrendo nos pacientes com anticoagulante lúpico e trombose que não apresentam outra doença subjacente. A síndrome Trombótica do anticoagulante lúpico secundário se apresenta nos indivíduos com anticoagulante lúpico, Trombose e uma doença subjacente, como lúpus ou outro distúrbio auto-imune, neoplasia maligna, infecção ou ingestão de medicamentos que acarretam a produção do anticoagulante lúpico.

Os pacientes com a síndrome do anticoagulante lúpico primária desenvolvem principalmente trombose venosa e Embolia pulmonar. Inúmeros sistemas venosos podem ser envolvidos, incluindo não apenas as extremidades apresentação clínica mais comum, como também os vasos mesentéricos, renais, hepáticos portais e a veia cava. (22)

O anticoagulante lúpico purificado inibe a ligação dependente de cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) da protrombina e do fator Xa aos fosfolípidios, impedindo assim a atividade do complexo fosfolipídico necessária a conversão da protrombina em trombina. Existe uma anormalidade (teórica) nas reações coagulantes dependentes dos fosfolípidios, incluindo o Tempo de Protrombina, o Tempo da Tromboplastina Parcial Ativada e o Tempo de Veneno de Víbora de Russel. O anticoagulante lúpico não está dirigido contra um fator específico, mas contra fosfolípidios. (2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,13,17,22)

Atualmente há vários ensaios para o anticoagulante lúpico em uso. A suspeita do mesmo é usualmente despertada pelo achado de um Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa) que não é corrigido pela adição de um volume igual de plasma normal, porém a sensibilidade do TTPa depende muito dos reagentes usados. Muitos pacientes com trombose e anticoagulante lúpico tem TTPa normal, mesmo com reagentes mais modernos e teoricamente mais "sensíveis". Por tanto, o TTPa não é um teste de triagem adequado para os anticoagulantes lúpicos.

Na Prova de Inibição de Tromboplastina (TTI) ou Prova com Tromboplastina Diluída, o inibidor lúpico raras vezes afeta o Tempo de Protombina realizado pelas técnicas habituais, o que se explica, em parte, pela alta concentração de fosfolípidios. O inibidor pode torna-se evidente utilizando tromboplastina diluída. Esta prova é positiva para os inibidores potentes, mas não é sensível para os inibidores de baixa potência. Atualmente está sendo criticada por sua falta de especificidade, pois tem sido encontrada positiva em presença de alguns anticorpos do fator IX fator VIII e em alguns casos de inibidores específicas de neutralização, assim como em plasmas heparinizados. (3,4,5,6,7,10,13,21,22)

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 30 indivíduos para a formação de um grupo controle, constituído por doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) por triagem médica como critério de boa saúde, que chamamos de indivíduos normais. Com objetivo de determinar os valores de referência em nosso meio, do tempo de veneno de víbora de Russel Diluído (TVVRD) realizamos o teste nos indivíduos deste grupo, que foi constituído 12 indivíduos do sexo feminino e 18 indivíduos do sexo masculino. Além do TVVRD foram realizados no grupo controle o Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativa.

Em um segundo grupo foram estudados pacientes do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará (HUWC-VFC) dos serviços de clínica Médica, Nefrologia, Reumatologia, Neurologia e pacientes do serviço de Hematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE). As amostras eram enviadas ao laboratório de Hematologia do Centro de Hematologia e Hematerapia com suspeita diagnóstica de anticoagulante lúpico. Nestas foram realizados o Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa), Teste de Inibição de Tromboplastina (TTI ou TTD) e Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluído (TVVRD).

A coleta de sangue total, tanto do grupo controle, como do grupo de paciente foi feita com tubo de 5,0ml. Vacutainer Becton Dickinson, com citrato sódio na concentração 3,8% como anticoagulante sendo a amostra homogeneizada sob suave inversão para evitar hemólise e ativação da cascata de coagulação pelo contato. Após a coleta as amostras de plasma foram separados através de centrifuga refrigerada ( modelo FR-IS, FANEM LTDA) com temperatura a 8°C e velocidade de 3,000 RPM por 15 minutos, obtendo assim um plasma pobre em plaquetas.

Usamos Banho Maria a 37°C (modelo 100, FANEM LTDA), pipetadores automáticos KACIL 100µl, 200µl e 500µl e o cronômetro.

Para determinação do Tempo de Protrombina (TP) utilizamos a tromboplastina cálcica da marca "Behring", preparada apartir de cérebro de coelho. Na determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa) foi utilizada a cefalina ativada da "Behring". Para a determinação do Teste de Inibição de Tramboplastina usamos o mesmo reagente utilizado para o Tempo de Protrombina (TP). Na determinação do Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluída (TVVRD) utilizamos o Veneno de Víbora de Russel (BIOPOOL), tampão Tris-salino (0,15M Nacl, 0,025M Cacl<sub>2</sub> (PH=7,5)).

O Teste de Inibição de Tromboplastina (TTI ou TTD) foi realizado de acordo com o método de Schleider et al, usando uma tromboplastina tissular diluída de 1:100 com solução fisiológica a 0,95% usado para o diagnóstico do

anticoagulante lúpico no segundo grupo, formado por paciente do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC-UFC). Não usamos este método para o grupo controle já que a literatura médica mundial considera como anticoagulante lúpico positivo, um valor do teste de inibição de tromboplastina maior que 1,2.

$$I = \frac{\text{TP (1:100) PACIENTE XTP CONTROLE}}{\text{TP PACIENTE XTP (1:100) CONTROLE}} \geq 1,2$$

O Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluído foi realizado como previamente será descrito. Após o veneno ter sido reconstituído com 1,0ml de solução Tampão Tri-salino, o mesmo ficou com uma concentração inicial de 100pg/ml, em seguida realizamos uma diluição de 1:50 para obtermos uma concentração de 2pg/ml do Veneno de Víbora de Russel.

A técnica era realizada da seguinte maneira, colocava-se o Veneno Víbora de Russel Diluída com volume igual de cloreto de cálcio incubado no Banho Maria a 37°C e colocava 0,1ml de plasma mais 0,1ml de trombofax onde ficava incubado a 37°C por 3 minutos no Banho Maria em um tubo de ensaio, em seguida colocava-se neste mesmo tubo 0,2ml da mistura do veneno de víbora de Russel mais o cloreto de cálcio e o tempo de coagulação era determinado através de um cronômetro.

Realizamos análise estatística dos resultados utilizando o teste de Fisher em tabelas 2x2 para determinação do nível de significância estatística, estabelecendo o erro 2 em 5%.

## **RESULTADOS**

O Grupo Controle foi formado por 30 indivíduos normais, 12 do sexo feminino e 18 do sexo masculino, com finalidade de determinar valores de normalidade para o Teste de Veneno de Víbora de Russel Diluído (TVVRD). A média de normalidade encontrada foi de  $x=27,73$ , com desvio padrão (DP) de 2,67. Os limites de normalidade encontrada foi  $(x\pm 2.DP)$   $27,73\pm 2\times 2,67$ . Consideramos o tempo de coagulação maior que dois desvios padrões acima da média como valores anormais, presumindo um teste positivo para o anticoagulante lúpico (TABELA IX).

O segundo grupo de 26 pacientes de 22 indivíduos do sexo feminino, onde nove foram considerados positivos para o TVVRD e quatro do sexo masculino, sendo um positivo. (TABELA I).

No teste do TTI dos 26 pacientes, de 22 do sexo feminino apenas dois foram positivos. Dos quatro do sexo masculino, nenhum foi positivo (TABELA II).

Ao estudarmos a distribuição dos resultados do TVVRD com relação a idade e ao sexo, encontramos quatro casos positivos na faixa etária de 13 a 34 anos em pacientes do sexo feminino e nenhum caso positivo com relação ao sexo masculino. Quatro casos foram positivos na faixa etária dos 34 a 55 anos em pacientes do sexo feminino e apenas um caso positivo com relação ao sexo masculino nesta faixa etária. Dos sete pacientes sem informação quanto à idade, apenas um foi positivo para sexo feminino e nenhum para o masculino (TABELA V).

Ao determinarmos a distribuição de casos positivos de TVVRD e TTI por patologias verificamos a seguinte classificação dos casos positivos de TVVRD: dois para Acidente Vascular Cerebral, três para lúpus Eritematoso Sistêmico, dois para Trombose Venose Profunda, um para Embolia Pulmonar, um para aborto de repetição e um caso sem informação quanto a causa diagnóstica. Apenas dois casos foram positivos para TTI sendo o LES a patologia associada (TABELA VII).

Ao compararmos os resultados entre o TVVRD e TTI encontramos dez resultados positivos para o TVVRD e apenas dois para o TTI. Considerando  $\alpha=5\%(0,05)$  e  $P=0,13846$ , ou seja,  $P>0,05$  constatamos que o maior número de resultados positivos pelo TVVRD em relação ao TTI não é estatisticamente significativo (TABELA III).

Os dados gerais da pesquisa encontra-se na TABELA VIII.

**TABELA I**

Distribuição de resultados de TVVRD

Sexo \ Teste	TVVRD		Total
	Positivos	Negativos	
Feminino	9	13	22
Masculino	1	3	4
Total	10	16	26
<b>P = 0,37458</b>			

**TABELA II**

Distribuição de resultados do TTI

Sexo \ Teste	TTI		Total
	Positivos	Negativos	
Feminino	2	20	22
Masculino	0	4	4
Total	2	24	26
<b>P = 0,71077</b>			

**TABELA III**

Comparação de resultados entre TVVRD e TTI encontrados

TTI \ TVVRD	Positivos	Negativos	Total
	Positivo	2	0
Negativo	8	16	24
Total	10	16	26
<b>P = 0,13846</b>			

**TABELA IV**

Comparação de resultados de TVVRD entre grupo controle e o estudado

GRUPO \ TVVRD	Positivos	Negativos	Total
	Controle	0	30
Estudado	10	16	26
Total	10	46	56

**TABELA V**

Distribuição de resultados de TVVRD de acordo com a idade eo sexo

TVVRD \ Sexo	Feminino		Masculino	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
13 - 34	4	5	0	0
34 - 55	4	4	1	1
Não informado	1	4	0	2
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>3</b>

**TABELA VI**

Distribuição de resultados de TTI de acordo com a idade e o sexo

Idade \ Sexo	Feminino		Masculino	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
13 - 34	1	8	0	0
34 - 55	1	7	0	2
Não informado	0	5	0	2
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>20</b>	<b>0</b>	<b>4</b>

**TABELA VII**

Distribuição de casos de TVVRD e TTI para patologias

Patologias \ Testes	TVVRD		TTI	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Anemia hemolítica	0	1	0	1
Acidente Vascular Cerebral	2	1	0	3
Lupus Eritematoso Sistêmico	3	4	2	5
Hemiparesia	0	1	0	1
Trombose Venose Profunda	2	1	0	3
Manifestações Hemorrágicas	0	1	0	1
Embolia Pulmonar	1	1	0	2
Edema Generalizado	0	1	0	1
Púrpura Trombocitopênica Imunológica (PTI)	0	1	0	1
Aborto de Repetição	1	0	0	1
Trombose Arterial Extensa	0	1	0	1
Artrite Reumatóide	0	1	0	1
Não informado	1	2	0	3
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>24</b>

TABELA VIII

Dados Paciente	Sexo	Idade	Patologia	Valor TVVRD	Valor TTI	TVVRD	TTI
1 - TPS	F	54	-	27,5	1,02	0	0
2 - JEL	M	-	Anemia hemolítica	31,0	0,86	0	0
3 - FFA	F	28	Acidente vascular cerebral	45,0	0,64	+	0
4 - JMF	F	-	Lupus eritomatoso	25,0	1,21	0	0
5 - SMPL	F	13	Hemiparesia	27,0	1,0	0	0
6 - IPA	F	16	Lupus eritomatoso	25,0	0,93	0	0
7 - ACM	F	42	Trombose venosa profunda	23,0	0,96	0	0
8 - MSA	F	26	Lupus eritomatoso	36,0	1,0	+	0
9 - SMPS	F	43	Acidente vascular cerebral	39,0	0,95	+	0
10 - AGS	F	22	Lupus eritomatoso	120,0	1,45	+	+
11 - MVPS	F	27	Lupus eritomatoso	25,0	0,96	0	0
12 - RMLP	F	-	-	24,0	0,78	0	0
13 - SBT	F	-	Lupus eritomatoso	24,5	0,91	0	0
14 - MSC	F	54	-	89,0	1,12	+	0
15 - LL	F	43	Manifestações hemorrágicas	27,0	1,0	0	0
16 - GSA	M	50	Acidente vascular cerebral	30,0	1,1	0	0
17 - FMS	F	26	Trombose venosa profunda	34,0	1,16	+	0
18 - AMS	M	45	Acidente vascular cerebral	38,0	1,00	+	0
19 - EE	F	35	Emb. Pulmonar	28,0	0,66	0	0
20 - RLFR	F	-	Edema generalizado	27,0	0,87	0	0
21 - ACS	F	18	PTI	24,0	1,0	0	0
22 - IAS	F	55	Lupus eritomatoso	34,0	1,29	+	+
23 - MACS	F	-	Aborto repetição	36,0	1,0	+	0
24 - PBS	F	51	Emb. Pulmonar	41	0,93	+	0
25 - FJH	M	-	Trombose arterial extensa	31	1,1	0	0
26 - MPS	F	25	Artrite reumatoide	29	0,71	0	0

## DISCUSSÃO

Os testes de detecção para anticorpos antifosfolipídio não são rotineiramente solicitados em laboratório de coagulação.

Um número de diferentes testes tem sido propostos e usados para o diagnóstico do anticoagulante lúpico que por sua vez tem reatividade imunológica em direção aos fosfolipídios aniônicos que desse modo prolongam os testes de coagulação.(5,2)

Os testes para detecção do anticoagulante lúpico podem mostrar sensibilidade e/ou especificidade variável por muitas razões. Primeiro, não há padrões para reagentes fosfolipídicos usados nos testes de coagulação. A quantidade de fosfatidilserina presente em tais reagentes por exemplo, afeta a sensibilidade dos testes para o anticoagulante lúpico.(25,13)

Segundo, o estado físico do fosfolipídico difere em alguns testes: o TTPa e o TVVRD utilizam fosfolipídio "micellar" ao passo que no TTI ou TTD e TP se faz uso de Tromboplastina Tissular, no qual o fosfolipídio é ligado a uma proteína. (25,13,05)

Terceiro, os testes variam em suas respostas às deficiências de fatores de coagulação, por exemplo: anticorpos para o fator VIII podem prolongar o TTPa, mas não o TVVRD. Finalmente, existem variações na sensibilidade do teste relacionados às classes de imunoglobulinas do anticoagulante lúpico, por exemplo, alguns anticorpos do tipo IgM não prolongam o TTI, embora prolonguem outros testes. Como resultado, a incidência de anticoagulante lúpico não tem sido claramente estabelecida, uma vez que os pacientes podem ser positivos em um teste e não em outros. (25,13,05)

O Teste do Veneno de Víbora de Russel Diluído (TVVRD) é um ensaio fosfolipídes - dependente na qual uma amostra plasmática é pré-ativa com o veneno, contendo ativadores específicos para os fatores V e X. Uma amostra de fosfolipídes e íons cálcio é adicionada e o tempo de coagulação é determinado. O TVVRD deve ser feito quando houver suspeita de existência desses anticorpos. O inibidor lúpico é identificado por sua capacidade de ligar-se aos fosfolipídeos e inibir as reações coagulantes dependentes desses compostos. Os ensaios estão baseados na utilização de quantidades limitantes de fosfolipídes e, portanto, sensibilizadas no plasma pdore em plaquetas. O prolongamento do TVVRD não é corrigido pela mistura das plasmas normais e dos pacientes, esse sistema detecta anticoagulantes das classes IgG e IgM. O ensaio (TVVRD) é o mais sensível dentre todos os considerado úteis na triagem ou no diagnóstico dos anticoagulantes lúpicos. (25,05,13,03)

O valor normal, em teste realizado com o Veneno da Víbora de Russel de Burroughs Wellcome diluído a 1:200 em tampão Tris-salino, tendo como fonte de fosfolipídio o Thrombofax diluído a 1:8 no mesmo tampão, foi

determinado por alguns pesquisadores entre 23 e 28 segundos, considerando prolongados os tempos maiores de 30 segundos. (05,13)

Em outro estudo o valor normal foi estabelecido entre 24 e 37 segundos, sendo o teste realizado com Veneno de Víbora de Russel da Sigma Chemical Company e reativos de TTPa Platelin da General Diagnostics diluído a 1:4 com água destilada. (13)

Utilizando Veneno de Víbora de Russel da Sigma Chemical Company diluído a 1:100 e cefalina humana em diluição adequada, um outro pesquisador determinou o valor normal do teste, sendo o valor encontrado entre 35 e 45 segundos. (13)

Em nosso trabalho o valor normal de TTDVVR foi estabelecido entre 22 e 33 segundos, sendo o teste realizado com Veneno de Víbora de Russel da Biopool diluído de 1:50 (concentração do veneno: 2pg/ml) em tampão tris-salino, tendo como fonte de fosfolípido o Thrombofax que foi reconstituído também pelo Tampão Tris-salino.

Neste estudo, dos pacientes que foram encaminhados ao laboratório de Hematologia houve um predomínio de sexo feminino que também apresentou maior número de casos positivos para o TVVRD. Contudo, aplicando a Teoria de Fisher para a análise de significância estatística encontramos  $P = 0,37458$ , não havendo significância estatística para o maior número de TVVRD positivo fosse para o sexo feminino ( $\alpha = 5\%$  ou 0,05) TABELA I.

Da mesma forma para o TTI, apenas dois casos foram positivos para o sexo feminino. ( $P = 0,71077$ ) e também não houve significado estatístico para que o número de casos positivos de TTI fosse apenas positivo para o sexo feminino. ( $\alpha = 5\%$  ou 0,05). TABELA II.

Fizemos uma análise comparativa entre os teste do TVVRD e o TTI, para saber a significância estatística entre estes, como exame complementar de diagnóstico do anticoagulante lúpico, para ( $\alpha = 5\%$  ou 0,05) e  $P = 0,13846$ . O maior número de resultados positivos encontrados no TVVRD em relação ao TTI não foi estatisticamente significante. TABELA III.

Mesmo assim, o anticoagulante lúpico foi encontrado positivo em dez pacientes pela clinica do TVVRD, o que representa 38,46% e apenas dois pacientes foram positivos para o TTI representando 7,69% do total estudado de 26 pacientes.

## **CONCLUSÃO**

Neste trabalho realizamos um estudo comparativo entre o Teste de Inibição de Tromboplastina (TTI) e o Tempo de Veneno de Víbora de Russel Diluído (TVVRD) para a identificação do anticoagulante lúpico. Constatamos que dos 26 pacientes estudados, dois foram positivos para o TTI, o que representa 7,69% do total estudado e dez foram positivos para o TVVRD representando 38,46% do total de pacientes com o anticoagulante lúpico. Fizemos uma análise estatística entre o TTI e o TVVRD, a partir do teste exato de Fisher, com  $P > 0,05$  sem significância estatístico. Mesmo assim o TVVRD matematicamente mostrou-se sensível cinco vezes mais que o TTI. Deve-se salientar que todos testes biológicos empregados na coagulação são citados como pouco sensíveis na literatura. Embora o TVVRD neste trabalho apresentou-se com boa reprodutibilidade e sensibilidade espera-se que através do aumento do número de amostra de TVVRD tenha significado estatístico com um exame de triagem e de diagnóstico para o anticoagulante lúpico.

## **ABSTRACT**

We realize a study comparative between The Tromboplastine Inhibition Test (TTI) and the time of Viper's poison of Dissolered Russel (TVVRD) in twenty-six patients (twenty-two women and four men) from University Hospital Walter Cantídio (HUWC) and Hematologia - Hemoterapia center form Ceará (HEMOCE), for the identification of the lúpico anticoaguting.

We use as control group the blood's donaters (twelue women and eighteen men) for medical selection we verify two positives cases to TTI (in women), representing 7,69% of the total and ten positives cases (9 women and 1 man) to TVVRD, representing 38,46% patients with lúpico anticoagulating.

We conclude that there isn't significant statistics between positives reesults and feminine sex and relative greater number of positives results for method TVVRD confronting the TTI.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 - SCHLEIDER, Michael A. et al. A Clinical Study of the Lupus Anticoagulant. Blood. v.48, n.4,p.499-508, oct.,1976.
- 2 - EXNER, T., RICHARD, M.A., KRONENBERG, H. A. Sensitive Test Demonstrating Lupus Anticoagulant and its Behavioural Patterns. British Journal of Haematology. v.40, n.1,p.143-151, Sep., 1978.
- 3 - MACHIN, S.J et al. Guidelines on Testing for the Lupus Anticoagulant. Journal of Clinical Pathology. v.40, n.11, p.885-889, nov., 1991.
- 4 - FLECK, Rebecca A., RAPAPORT, Samuel I.,RAO, Vijaya Mohan. Anti-Prothrombin Antibodies and the Lupus Anticoagulant. Blood. v.72, n.2, p.512-519. aug., 1988.
- 5 - THIAGARAJAN, Perumal, PENGO, Vitorino, SHAPIRO, Sandar S..The Use of The Dilute Russel Viper Venam Time for the Giagnosis of Lupus Anticoagulants. Blood, v.68, n.4, p.869-874, oct., 1986.
- 6 - KELSEY, P.R., STEVENSON, K.J., POLLER, L.. The Diagnosis of Lupus Anticoagulant by the Activated Partial Thromboplastin Time - The Central Role of Phosphatidyl Serine. Thrombosis and Haemostasis. v.52, n.2, p172-75, oct., 1984.
- 7 - ALVING, Barbara M. et al. The Dilute Phospholipid APTT: A Sensitive Assay for verification of Lupus Anticoagulants. Thrombosis and Haemostasis. v.54, n.3, p. 709-12, oct., 1985.
- 8 - HORELLOU, M.H.. Détection des Anticoagulants Circulants en dehors de l'hémiphilie. Revue Française des Laboratories. n.190, p. 39-44, avr., 1989.
- 9 - TOGLIA, Marc R., WEG, John G.. Venous Thrombomolism During Pregnancy. The New England Journal of Medicine. v.335, n.2, p. 108-114, july, 1996.
- 10 - JOYNER, Kelly A., ORTEL, T.L.. A Sensitive DRVVT Reagent System for the Detection of Lupus Anticoagulant. Clinical Appl Thrombosis / Hemostasis, v.1, n.1, p. 73-75, 1995.

- 11 - HEILMANN - GOVAULT, M. et al. Anticoagulant Circulant de Type Antiprathrombinase. Ann Med Interne, v.138, n.4, p.251-55, 1987.
- 12 - KHAMASHTA, Munther A. et al. The Management of Thrombosis in the Antiphospholipid - Antibody Syndrome. The New England Journal of Medicine, v.332, n.15, p.993-97, apr., 1995.
- 13 - KORDICH, L.c. et al. Inhibidores Adquiridos de la Coagulación. MANUAL DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS. 2 ed. Argentina: Grupo CLAHT, 1990. cap. 9, p.341-351.
- 14 - PERLER, B.A. Hypercoagulability and the Hypercoagulability Syndromes. Am J Roent-genal, v.164, n.3, p.559-64, mar., 1995. (Abstract).
- 15 - DUARTE, Eneide Nobrega et al. Manual Técnico para realização de Trabalhos Monográficos. João Pessoa: Universitária. 1994.
- 16 - VIEIRA, Sonia. Introdução a Bioestatística. Rio de Janeiro: Campus, 1983.
- 17 - WOOD, Marie E., BUNN, Paul A. Segredos em Hematologia/Oncologia. porto Alegre: Artes Médicas, 1996.
- 18 - WINKEL, P. er, STATLAND, Bernard E.. Interpretando os Resultados Laboratoriais: Valores de Referência e Tomada de Decisões. In: HENRY, John Bernard. Diagnosticos Clinicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. Nova York: Manoli, p.57-77.
- 19 - PONTE, Ana Cesarina Oliveira. Lúpus Eritematoso Sistêmico. Fortaleza, 1993. Monografia (Especialização em Hematologia e Hemoterapia) - Universidade Federal do Ceará.
- 20 - SOLBERG, Helge Erik. Estaglishment and use of reference values. In: TIETZ, Nerbert W.. Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia: Sanderes, 1987. p.197-212.
- 21 - CARRERAS, L. O. et al. Pruebas Diagnósticas del Inhibidor de "Tipo Lupico". MANUAL DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS. 2.ed. Argentina: Grupo CLAHT, 1990. cap.9, p.352-354.

- 22 - LEGNANI, C. An Evaluation of Several Laboratory Tests Combinations in the Detection of Lupus Anticoagulant. Clin Lab Res, v.22, n.2, p.106-10, 1992 (Abstract).
- 23 - BICK, RL., PEGRAM, M. Syndromes of Hypercoagulability and Thrombosis. Semin Thromb Hemost, v.20, n.1, p.109-32, 1994. (Abstract)
- 24 - BICK, RL. The Antiphospholipid - Thrombosis Syndromes. Fact, fiction, confusion and controversy. Clin Pathol, v.100, n.5, p.447-80, nov., 1993. (Abstract)
- 25 - KACZOR, DA, BICKFORD, NN, TRIPLETT, DA. Evaluation of different maxing study reagents and diluition effect in lupus anticoagulant testing. Clin Pathol, v.95, n.3, p.408-11, mar., 1991. (Abstract)
- 26 - EXNER, T et al. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. Thromb Haemost, v.65, n.3, p.350-2,mar., 1991.
- 27 - Guidelines on Testing for the Lupus Anticoagulant. Clin Pathol, v.aa, n.11, p.885-9, nov., 1991.
- 28 - EVERITT, B.S.. The Analysis of Contingency Tables. 2 nd. ed. London: Chapman & Hall, 1992. p.15-17.
- 29 - GORINA, Alfonso Balcells. A Clinica e o Laboratório. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1996.
- 30 - WINTROBE, M. M.. Clinical Hematology. Ninth Edition, Philadelphia: Lea & Febiger, 1983.p.1515-1551