

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ADAMTS-13, ANTÍGENO Y AUTOANTICUERPOS: APLICACIÓN CLÍNICA

Palomo M^a, Pereira A^a, Aznar-Salatti J^b, Escolar G^a, Díaz-Ricart M^a

^aServicio de Hemoterapia-Hemostasia, CDB, Hospital Clínic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona. ^bZLB-Behring S.A., Barcelona.

Introducción: La púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) es una enfermedad clásicamente diagnosticada por la aparición de una péntada de síntomas clínicos. En muchos casos, la causa de esta microangiopatía es un defecto grave de la actividad ADAMTS-13 asociado a la presencia de autoanticuerpos inhibidores y a un descenso en la cantidad de antígeno circulante. La combinación de nuevas técnicas para la determinación rápida y directa de estos tres parámetros debería ser útil para confirmar el diagnóstico clínico y orientar el tratamiento.

Objetivos: Analizar la actividad ADAMTS-13 de muestras de pacientes diagnosticados de PTT y enfermedad de von Willebrand (EVW) mediante dos técnicas, una directa y una indirecta, para comparar la reproducibilidad y la correlación de ambas técnicas. Cuantificar antígeno de ADAMTS-13 y presencia de autoanticuerpos. Establecer valores de normalidad para los tres parámetros estudiados.

Material y métodos: Para evaluar la actividad proteolítica de ADAMTS-13 en el plasma utilizamos dos técnicas. La primera es indirecta y consiste en evaluar el patrón multimérico del factor de von Willebrand purificado (contenido en el concentrado hemostático Haemate-P), y desnaturalizado con urea, tras ser expuesto al plasma en presencia de BaCl₂. La segunda técnica empleada es fluorimétrica y directa y consiste en medir la actividad ADAMTS-13 mediante la proteólisis de un péptido recombinante (FvW73). En ambas técnicas la actividad de la metaloproteasa en el plasma problema es extrapolada a partir de una curva de calibración obtenida tras diluciones seriadas de un plasma control. La detección de anticuerpos y la cuantificación de antígeno fue realizada mediante ELISAs específicos.

Resultados: Observamos una buena correlación entre los valores de actividad ADAMTS-13 obtenidos mediante la técnica multimérica y la fluorimétrica, especialmente respecto a los valores patológicamente disminuidos. Detectamos que existe una relación inversa y significativa entre la presencia de autoanticuerpos anti ADAMTS-13 y los valores de antígeno y actividad de la metaloproteasa.

Conclusiones: Este estudio ha permitido validar la técnica fluorimétrica utilizando el péptido recombinante vWF73 como sustrato para la determinación de actividad ADAMTS-13. El uso de esta técnica supone una mejora sustancial en la rapidez de obtención de resultados, reduciendo los tres días empleados con la técnica multimérica a aproximadamente dos horas. La rápida disponibilidad de resultados de actividad y de su inhibidor puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial de las microangiopatías trombóticas.