XXX congreso nacional de la asociación española de farmacéuticos de hospitales

Las Palmas de Gran Canaria

TOMO II

ASOCIACION ESPAÑOLA
DE FARMACEUTICOS
DE HOSPITALES

ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES ESPECIALIDADES DE HEPARINA

T. Padró (**), C. Lacasa (*) y C. Villaverde (**)

(*) Servicio de Farmacia. Hospital Civil de Bilbao.
(**) Unidad de Trombosis. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Barcelona.

INTRODUCCION

Uno de los cometidos de la Comisión de Farmacia y Terapéutica de un hospital es seleccionar una especialidad entre varias que contienen el mismo principio activo (1). Los Servicios de Farmacia, por tanto, deben realizar análisis de medicamentos para valorar de forma objetiva la calidad de los mismos, al margen de informaciones imprecisas de las empresas suministradoras.

En algunos casos, además, se reciben en el Servicio de Farmacia reclamaciones de algún servicio clínico por baja efectividad de fármacos sin una adecuada justificación. En el caso particular de la heparina, preparado biológico formado por un grupo de polímeros de una familia heterogénea de mucopolisacáridos variables en cierta proporción según su origen y peso molecular, nos planteamos, en colaboración con la Unidad de Trombosis del CSIC de Barcelona, realizar un estudio de tres especialidades de heparina.

Se ha comparado la actividad anticoagulante de las heparinas sódicas (A, B y C), estudiándose tres lotes distintos de cada heparina y valorándose tres viales por lote. La actividad de las distintas muestras se ha valorado frente a una heparina sódica estándar suministrada por el National Institute for Biological Standard and Control de Londres.

MATERIAL

— Heparina sódica estándar (1.780 U.I./ampolla) (ref. heparina porcina 82/502). National Institute for Biological Standards and control Holly Hill, Hampstead, London.

— Muestras de heparina sódica al 1 por 100 vial de 5 mL con una actividad teórica de 1.000 U.I./mL:

Herapina A: Herapina Leo. Lotes V-45, X-9, X-14.

Heparina B: Heparina Roger. Lotes V-28, X-18, X-22.

Heparina C: Heparina Rovi. Lotes V-4, V-3, X-9.

— Plasma de oveja (Bioibérica).

— Kit sustrato cromogénico para determinación anti-factor Xa (sustrato S-22222).

METODOS

Valoración de la actividad de las heparinas. (Métodos descritos por la USP XXI, 1985, pp. 481-482.)

A) Inhibición de la coagulación del plasma de oveja: La técnica se basa en ver cuál es la concentración mínima de heparina que es capaz de mantener fluido 1 mL de plasma de oveja durante una hora,

después de la adición de 0,2 mL de Cl_2Ca al 1 por 100.

B) Valoración de la actividad anti-factor X por sustrato cromogénico, según técnica descrita por Teien y Lie (1977).

Los sustratos cromogénicos son unas cadenas polipeptídicas cortas (3-5 aa) en las que se halla un grupo cromogénico terminal, la paranitroanilina (pNa). Este cromógeno es hidrolizado por el enzima que interesa estudiar, produciendo una emisión de color que es leída y cuantificada por el espectrofotómetro. El sustrato utilizado ha sido el S-2222:

(⬭ -CO-Ile-Glu (-Or)-Gly-Arg-NH- ⬭ $-NO_2$) · · ClH

El principio de esta técnica se basa en la determinación de heparina como un complejo con antitrombina III y la posterior reacción de este complejo con factor Xa en exceso.

1. Heparina + AT III (exceso) → Heparina-AT III
2. Heparina-AT III + FXa (exceso).

↓

Heparina-AT III-FXa + FXa remanente.

El FXa remanente cataliza la escisión de la pNa del sustrato S-2222, produciéndose una emisión de color que es leída a 405 nm.

Determinación del volumen contenido en cada vial por medición de la densidad y pesada.

RESULTADOS

En la tabla I se exponen los resultados de las actividades de heparina para cada lote, y en la tabla II la media para cada heparina de distinta firma así como los volúmenes.

CONCLUSIONES

1. Las diferencias que se presentan en la actividad de las heparinas al valorarlas por los dos métodos utilizados, están dentro de los límites aceptados por la USP XXI.
2. En dos de las heparinas tenemos por el test del anti-factor Xa una actividad superior a la del test de la inhibición de la coagulación en un 12 y 13 por 100, mientras que en la heparina C sólo se da una diferencia de un 3 por 100 entre los dos métodos.
3. La menor diferencia que observamos en los valores de actividad de la heparina C obtenidos en los dos tipos de test podría indicar que en esta última heparina existe una mayor proporción de moléculas de alto peso molecular que en las A y B, ya que está descrito (Holmer, 1980; Buchanan, 1985) que las heparinas de alto peso molecular tienen un mecanismo de acción preferente a través de la trombi-

TABLA I

ACTIVIDADES DE LOS DISTINTOS LOTES DE LAS HEPARINAS ANALIZADAS

	Heparina A		Heparina B		Heparina C	
	Inhibición coagulación Vi/ml.	Antifactor Xa Vi/ml.	Inhibición coagulación Vi/ml.	Antifactor Xa Vi/ml.	Inhibición coagulación Vi/ml.	Antifactor Xa Vi/ml.
Lote 1	1.032 ±8,5	1.225 ±87	1.024 ±5,5	1.175 ±50	933 ±7,3	1.050 ±43
Lote 2	1.058 ±9,0	1.083 ±38	1.014 ±7,5	1.196 ±76	982 ±3,5	958 ±52
Lote 3	980 ±6,0	1.125 ±87	996 ±8,0	1.070 ±128	1.032 ±3,0	1.041 ±123
n	3	3	3	3	3	3
X	1.023	1.114	1.011	1.147	982	1.016
DS	40	72	14	67	49	50
Diferencia X_2: Coag.	±12,1%		±13,6%		±3,4%	

TABLA II

ACTIVIDADES MEDIAS Y VOLUMENES DE LAS HEPARINAS ANALIZADAS

	Heparina A	Heparina B	Heparina C
Inhibición de la coagulación Vi/ml.	1.023 ± 40	1.011 ± 14	982 ± 49
	NS	NS	
	NS		
Actividad antifactor Xa Vi/ml.	1.144 ± 72	1.147 ± 67	1.016 ± 50
	NS	NS	
	NS		
Volumen ml/vial	5,33 ± 0,026	5,40 ± 0,020	5,30 ± 0,030
	2p < 0,05	2p < 0,01	
	NS		

na, mientras que las de bajo peso molecular actuarán fundamentalmente a través del factor Xa.

4. Las actividades encontradas por el método de los sustratos cromogénicos están en los tres casos por encima del valor teórico marcado (A = 14 por 100, B = 15 por 100, C = 2 por 100), mientras que en la valoración efectuada por inhibición de la coagulación, la heparina C tiene una actividad un 2 por 100 menor a la etiquetada. Sin embargo, cuando se comparan estadísticamente los valores obtenidos experimentalmente para cada una de las heparinas con el valor teórico etiquetado (1.000 U.I./mL), en todos los casos, se puede considerar con un riesgo de un 5 por 100 que las diferencias no son significativas.

5. Al comparar entre sí la actividad de las tres heparinas (A, B, y C), aunque las diferencias no han sido significativas por el test de T de Student-Fisher, la heparina C es la que ha presentado por las dos técnicas una menor actividad, siendo un 3 y un 11 por 100 menor que la heparina A, al ser valorada por el test de inhibición de la coagulación y anti-factor Xa, respectivamente, y ha mostrado un 4 y un 12 por 100 de disminución, en relación a la heparina B.

6. El contenido de los viales de heparina estudiados siempre fue superior a los 5 mL de contenido teórico, presentando el mayor volumen la heparina B con diferencias estadísticamente significativas, respecto de la A y de la C.

7. De los datos anteriores se comprueba que las tres heparinas están dentro de los límites señalados por la USP XXI, y no se encuentra justificación para observaciones de ineficacia de alguna de ellas.

BIBLIOGRAFIA

(1) Bonal, J.: *Coloquios de aproximación a la Farmacia Clínica.* Comisión de Farmacia Terapéutica, 1977.

(2) Buchanan, M. R.; Boneu, B.; Ofosu, F., e Hirsu, J.: «The relative importance of thrombin inhibition and factor Xa. Inhibition to the Antihrombotic effects of heparin». *Blood,* 65(1): 198-201, 1985.

(3) Holmer, E.: «Anticoagulant properties of heparin and heparin fractions». *Scand. J. Haemat.* (Supp. 3), 25: 25, 1980.

(4) Merton, R. E.; Curtis, A. D., y Thomas, D.: «A comparison of heparin potency estimates obtained by activated partial thromboplastin time and british pharmacopeial essays». *Thromb. Haemost.*, 53(1): 116-117, 1985.

(5) Teien, A., y Lie, M.: «Evaluation of an amidolytic heparin assay method. Increased sensibility by adding purified AT III». *Thromb. Res.*, 10: 339, 1977.

(6) United States Pharmacopoeial XXI - National Formulary XVI. The United States Pharmacopoeial Convention, Inc. 12601 Twinbrook, Rockville, MD 20852 p., 1985.

ASOCIACION ESPAÑOLA
DE
FARMACEUTICOS DE HOSPITALES

DON MIGUEL ANGEL WOOD WOOD, LCDO. EN FARMACIA Y SECRETARIO DEL XXX CONGRESO NACIONAL DE LA ASOCIACION ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE HOSPITALES,

C E R T I F I C A QUE EL/LA SR/SRA. DON/DOÑA **CARMEN LACASA DIAZ** ---------- HA ASISTIDO AL CITADO XXX CONGRESO CELEBRADO EN ESTA CIUDAD LOS DIAS 25, 26 Y 27 DEL PRESENTE MES, EN CALIDAD DE CONGRESISTA. **PRESENTANDO EL SIGUIENTE TRABAJO: "ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES ESPECIALIDADES DE HEPARINA"**

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA, A VEINTE Y SIETE DE SEPTIEMBRE DE MIL NOVECIENTOS OCHENTA Y CINCO.