

Agregación plaquetaria en la diabetes mellitus del adulto

Alberto Barrantes^{1,3}
Orlando Gei²
German F. Sáenz³
Jorge Fonseca¹
Karl Schosinski³

RESUMEN

Se estudian 44 pacientes diabéticos adultos en tratamiento, analizando la agregación plaquetaria con ADP, colágeno y epinefrina, obteniéndose valores similares a los controles normales. Usando diversas concentraciones de ADP se demostró una sensibilidad aumentada de las plaquetas al ADP, pues 24 pacientes mostraron segunda fase de agregación con una concentración de ADP de $1,3 \times 10^{-6}$ M o menor. Analizando los pacientes en cuanto a tipo de tratamiento, edad y sexo, no se encontraron diferencias significativas dentro de los diferentes grupos. De los 10 pacientes con más de 10 años de evolución de la diabetes, 8 tenían una sensibilidad mucho mayor al ADP que el resto de los pacientes estudiados.

INTRODUCCION

La enfermedad vascular en la diabetes mellitus es un hecho bien reconocido, siendo las trombosis de los grandes y pequeños vasos accidentes comunes del desorden metabólico. En algunas otras situaciones clínicas, la formación de trombos refleja un disturbio de la interrelación entre constituyentes de la sangre, el flujo sanguíneo y la pared vascular, o sea, lo que se ha llamado tríada de Virchow.

Aunque no se puede afirmar que una simple anomalía sea la responsable de las complicaciones trombóticas en la diabetes, las teorías acerca de la patogénesis de la

arterioesclerosis le dan un papel muy importante a las plaquetas en los estadios iniciales del proceso anómalo (12), aceptándose —con menos evidencia experimental— que inciden en el desarrollo de la enfermedad microvascular obliterativa. Por otra parte, se ha aceptado que un aumento de la adhesividad plaquetaria y de la sensibilidad a agentes agregantes detectados por técnicas *in vitro*, pueden también ser operativos *in vivo* (4). Si esto fuera así se podría pensar que este comportamiento anormal *in vitro* de las plaquetas juegue un papel importante en la génesis de las lesiones oclusivas que suceden en la microcirculación en pacientes diabéticos (13).

Nos proponemos valorar en el presente estudio la agregación plaquetaria en pacientes diabéticos adultos en tratamiento, así como su sensibilidad plaquetaria al ADP relacionado a su vez este último parámetro con respecto a edad, sexo, tratamiento y años de evolución de la enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

Se tomó una muestra al azar de 44 pacientes diabéticos adultos del Servicio de Endocrinología del Hospital México, 23 en tratamiento con insulina, 17 en tratamiento con hipoglicemiantes orales y 4 sólo con dieta. En todos los pacientes se excluyó la ingestión concomitante de otro medicamento que pudiese afectar la función plaquetaria.

Se tomó a cada uno de los pacientes una

- 1 Laboratorio de Investigación Clínica, Hospital México, C.C.S.S.
- 2 Servicio de Endocrinología, Hospital México, C.C.S.S.
- 3 Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

muestra de sangre anticoagulada con una mezcla de citrato (6 partes de citrato de sodio 0.1 M y 4 partes de ácido cítrico 0.1 M) en una relación de 9:1.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se preparó centrifugando la sangre por 10 minutos a 900 rpm y ajustando la concentración de plaquetas a $250 \times 10^9/L$ con plasma pobre en plaquetas (PPP).

Los estudios de agregación plaquetaria se llevaron a cabo de acuerdo con la técnica de Born y Cross (1), en un agregómetro Chrono Log (Chrono-Log Corp., Havertown, Pa., USA) y usando las sustancias agregantes en las siguientes concentraciones finales: colágeno (Hormon, Munich, Alemania) 3 mcg/ml, ADP (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. USA) $1,3 \times 10^{-5}M$; $2,6 \times 10^{-6}M$; $1,3 \times 10^{-6}M$; $6,5 \times 10^{-7}M$; y $3,25 \times 10^{-7}M$ y bitartrato de L-epinefrina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) $3,3 \times 10^{-6}M$. El porcentaje de agregación plaquetaria corresponde a la diferencia de transmitancia entre el PPP y el PRP después de 6 minutos de haber añadido la sustancia agregante. El tiempo de reacción con colágeno se refiere al tiempo en segundos comprendido entre la adición del colágeno y el inicio de la onda de agregación. El tiempo de reacción con epinefrina se mide desde la adición de la sustancia agregante hasta el punto medio de la segunda onda de agregación. La pendiente de la curva se obtuvo pasando una línea tangente a la primera onda de agregación y midiendo con un transportador los grados del ángulo interno.

La sensibilidad plaquetaria al ADP se define como la concentración mínima de ADP capaz de producir segunda onda de agregación.

La disponibilidad de factor plaquetario 3 se llevó a cabo de acuerdo con la técnica de Spaet y Cintron (17) y el Índice de Actividad Plaquetaria (IAP) con la técnica de Saleem *et al.* (14). La agregación plaquetaria espontánea se efectuó de acuerdo con la técnica de Wu *et al.* (18).

Los estudios estadísticos se llevaron a cabo de acuerdo con la *t* de student (15).

RESULTADOS

El Cuadro I muestra los porcentajes de agregación plaquetaria con colágeno, ADP

y epinefrina de los 44 pacientes estudiados. Los valores normales se señalan dentro de las dos líneas de puntos.

El tiempo de reacción con colágeno y epinefrina, así como la pendiente con ADP a la concentración de $1,3 \times 10^{-5}M$, se observa en el Cuadro II.

El Cuadro III muestra la distribución de los pacientes estudiados de acuerdo con su sensibilidad plaquetaria al ADP.

El Cuadro IV muestra la distribución de los pacientes estudiados de acuerdo a su sensibilidad al ADP en relación con el tratamiento y los años de evolución de la enfermedad.

El Cuadro V muestra la distribución de los pacientes estudiados de acuerdo con su sensibilidad al ADP en relación con el sexo y la edad de los pacientes.

El Cuadro VI muestra los resultados del Índice de Agregación Plaquetaria, la disponibilidad de factor plaquetario 3 y la agregación plaquetaria espontánea de los pacientes estudiados.

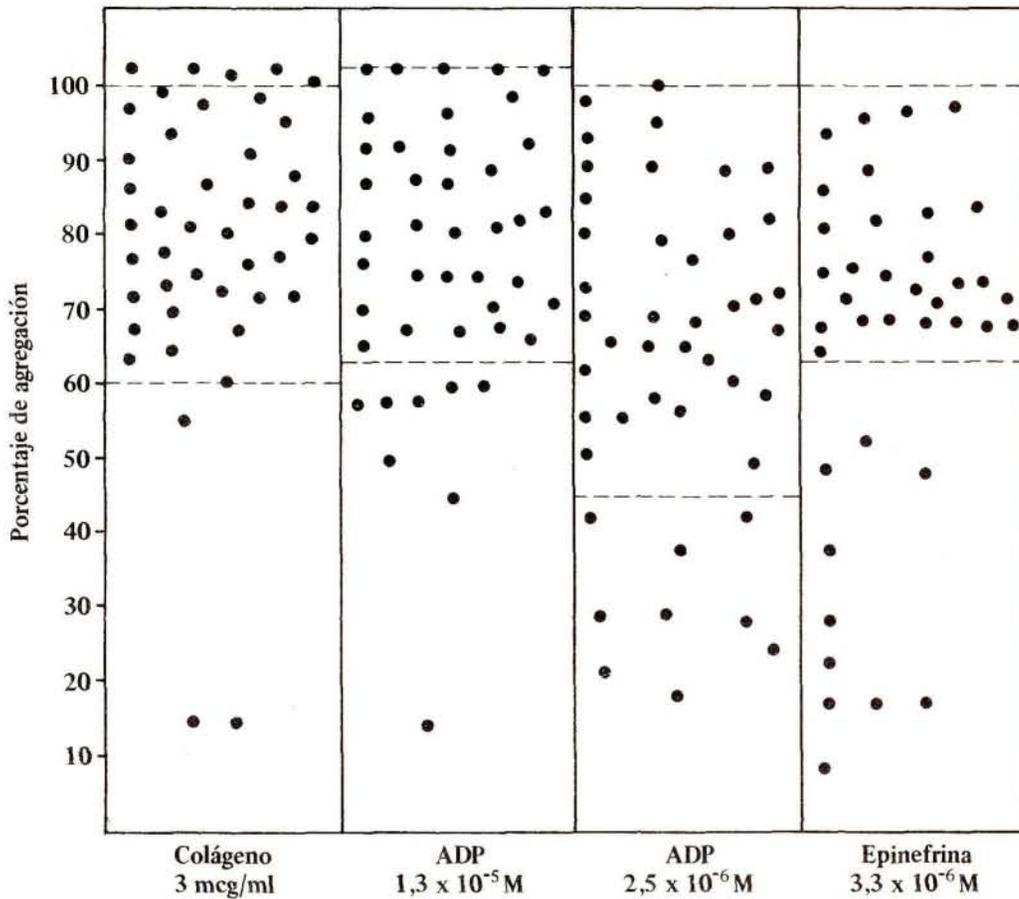
DISCUSION

Los estudios rutinarios de agregación plaquetaria con colágeno, ADP y epinefrina fueron normales en el grupo de pacientes estudiados, así como el tiempo de reacción con colágeno y epinefrina, y la pendiente de la primera onda de agregación con ADP $1,3 \times 10^{-5} M$.

La disponibilidad de factor plaquetario 3 estuvo aumentada en 28 de los 44 pacientes, con un promedio de 15,2 segundos en vez de los 18 segundos del grupo control. La agregación plaquetaria espontánea estuvo dentro de valores normales. Aunque el significado de esta prueba no es bien conocida, se han descrito aumentos en la agregación espontánea en varios tipos de desórdenes trombóticos y en pacientes diabéticos. (11)

El presente estudio ha demostrado una sensibilidad aumentada de las plaquetas al ADP, pues en 24 de los 44 pacientes se obtuvo una segunda onda de agregación con una concentración de ADP de $1,3 \times 10^{-6}M$ o menor. Este aumento de sensibilidad a ciertas sustancias agregantes, se ha reportado también usando epinefrina (11,13). Analizando los pacientes en cuanto a tipo de tratamiento se refiere, no hubo diferencia significativa en cuanto a este tipo de sensibi-

Cuadro I
Porcentaje de agregación plaquetaria con colágeno, ADP
y epinefrina en 44 pacientes diabéticos



Cuadro II
PENDIENTE CON ADP (1,3 x 10⁻⁵ M) Y TIEMPO DE REACCIÓN
CON COLÁGENO Y EPINEFRINA EN 44 PACIENTES DIABÉTICOS

	Pendiente ADP	Tiempo Reacción Colágeno (seg.)	Tiempo Reacción Epinefrina (seg.)
Diabéticos	+ 73.4	53.0	138
Normal	76.3	66.1	126
p	0.1	0.1	0.1

lidad, puesto que 13 de los 23 pacientes en tratamiento con insulina mostraron una segunda onda de agregación con ADP de $1,3 \times 10^{-6}M$ o inclusive a menor concentración, así como 9 de los 17 en tratamiento

con hipglicemiantes orales.

De los 10 pacientes que tenían más de 10 años de evolución de su diabetes, ocho mostraron una sensibilidad mucho mayor al ADP. La separación en cuanto a sexo y edad

no dio diferencias en sensibilidad al ADP, tal como también lo encontraron Burrows *et al.* (2).

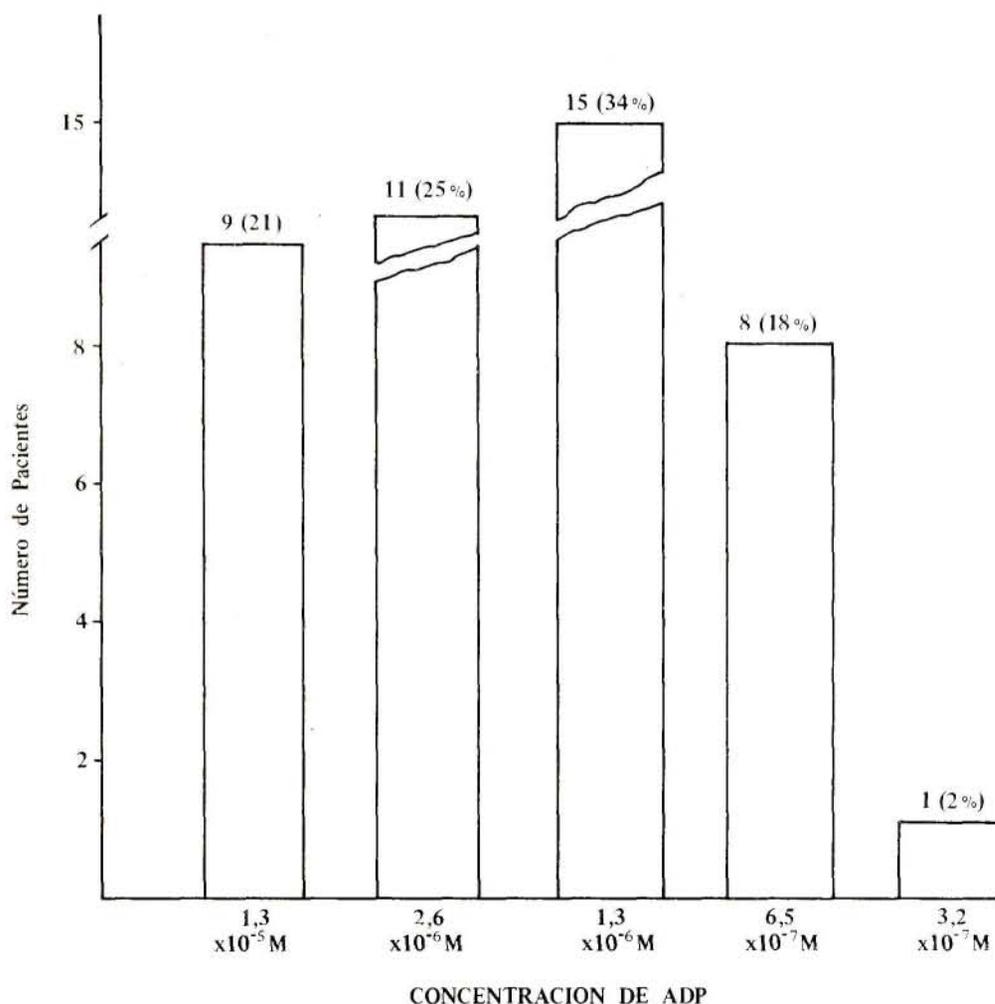
Kwan *et al.* (9) reportaron un factor plasmático que acentuaba la agregación plaquetaria inducida por ADP en plaquetas normales, aunque su acción es independiente del ADP. Lo denominaron factor estimulante de la agregación plaquetaria (FEAP).

La presencia de dicho factor fue confirmada posteriormente por Colwell *et al.* (3)

Por otra parte, Colwell *et al.* (5) sugieren que en las plaquetas del paciente diabético hay una síntesis aumentada de tromboxano

A₂, una sustancia lábil responsable de iniciar la reacción de liberación, así como la agregación plaquetaria (16). A su vez Halushka *et al.* (7) habían reportado un aumento en la síntesis de material inmunoreactivo similar a la prostaglandina-E, que podría reflejar un aumento de actividad de la enzima prostaglandino-sintetasa en uno o varios sitios de acción, necesiéndose estudios adicionales para determinar el sitio o sitios que contribuyen a la actividad aumentada del sistema. Concluyen los últimos autores afirmando que las anomalías en el metabolismo de la glucosa y de la insulina

Cuadro III
Distribución de los 44 pacientes diabéticos de acuerdo con su sensibilidad al ADP



Cuadro IV
DISTRIBUCION DE LOS 44 PACIENTES DIABETICOS DE ACUERDO CON
LA SENSIBILIDAD PLAQUETARIA AL ADP
EN RELACION AL TRATAMIENTO Y AÑOS DE EVOLUCION

	$1,3 \times 10^{-5}$	Concentración Mínima de ADP			$3,2 \times 10^{-7}$
		$2,6 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	$6,5 \times 10^{-7}$	
TRATAMIENTO:					
Insulina	4	6	11	1	1
Hipoglicemiantes Orales	3	5	2	7	—
Dieta	2	—	2	—	—
AÑOS EVOLUCION:					
0 - 1	2	3	3	3	—
2 - 5	5	3	3	2	1
6 - 10	1	4	4	—	—
11 - 15	1	1	3	2	—
16 - 20	—	—	2	1	—

Cuadro V
DISTRIBUCION DE LOS 44 PACIENTES DIABETICOS DE ACUERDO CON
LA SENSIBILIDAD PLAQUETARIA AL ADP EN RELACION CON EL SEXO Y LA EDAD

	$1,3 \times 10^{-5}$	Concentración Mínima de ADP			$3,2 \times 10^{-7}$
		$2,6 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	$6,5 \times 10^{-7}$	
SEXO:					
Masculino	5	6	9	4	—
Femenino	4	5	6	4	1
EDAD:					
31 - 40	2	1	2	1	—
41 - 50	—	4	3	—	1
51 - 60	3	3	5	3	—
61 - 70	3	2	3	3	—
71 - 80	1	1	2	1	—

Cuadro VI
INDICE DE ACTIVIDAD PLAQUETARIA, FACTOR PLAQUETARIO 3 Y
AGREGACION PLAQUETARIA ESPONTANEA EN 44 PACIENTES DIABETICOS

	Indice de Actividad Plaquetaria	Factor Plaquetario 3 (seg.)	Agregac. Plaquetaria Espontánea (%)
Diabéticos	1.61	15.2	7.7
Normal	1.62	18.0	10
p	0.1	0.01	0.1

en los diabéticos, puede también servir como una causa de aumento de agregación plaquetaria y de actividad del sistema prostaglandinosintetasa.

A su vez, Colwell *et al.* (5) especulan que la aumentada sensibilidad plaquetaria, las interacciones plaqueta-plasma y el aumento de producción de tromboxano, pueden ser factores importantes en el desarrollo de la enfermedad vascular oclusiva en el diabético. Este aumento en la síntesis de sustancias que facilitan la agregación, unido a disminución en los niveles de prostaciclina (PGI₂) en las arterias de los pacientes diabéticos —como lo demuestran Johnson *et al.* (8) en un estudio preliminar— pueden favorecer en gran medida la evolución de la angiopatía diabética, pues esta sustancia inhibe la agregación plaquetaria aumentando el AMP cíclico en las plaquetas, presumiblemente al estimular la adenil-ciclasa (10).

Nuestros hallazgos en torno a sensibilidad de las plaquetas, al ADP y el aumento de disponibilidad de factor plaquetario 3 en los pacientes diabéticos estudiados, confirman los resultados obtenidos en otros estudios (2,9), evidenciando el nuestro que la función plaquetaria en la diabetes mellitus del adulto es anormal. Colwell *et al.* (6) ofrecen tres postulados para explicar esta anormalidad plaquetaria, un factor plasmático que predispone a las plaquetas a comportarse en forma anormal; una enfermedad vascular no reconocida que puede llevar a un comportamiento anormal de las plaquetas; y que la función plaquetaria puede estar alterada independientemente de las anormalidades del plasma.

Aun cuando existen observaciones que ayudan a entender el comportamiento

alterado de las plaquetas en la diabetes mellitus, se deben tener reservas al momento de interpretar tales hallazgos, pues se ha reconocido que los fenómenos *in vitro* de adhesividad y agregación plaquetaria aumentada, no reflejan necesariamente el comportamiento plaquetario *in vivo*. A su vez, debido a la heterogeneidad de la diabetes, se debe ser cauteloso y no aplicar los resultados encontrados en un grupo de pacientes, a la población diabética general.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— Born, G.V.R., Cross, M.J.: The Aggregation of Blood Platelets. *J. Physiol.* 168: 178, 1963.
- 2.— Burrows, A.W., Chavin, S.L., Hockaday, T.D.R.: Plasma-thromboglobulin concentrations in diabetes mellitus. *Lancet.* 1: 235, 1978.
- 3.— Colwell, J.A., Chambers, A., Laimins, M.: Inhibition of labile aggregation-stimulating substance (LASS) and platelet aggregation in diabetes mellitus. *Diabetes.* 24: 684, 1975.
- 4.— Colwell, J.A., Halushka, P.V., Sarji, K.E., Sagel, J.: Platelet function and diabetes mellitus. *Med. Clin. N.A.* 62: 753, 1978.
- 5.— Colwell, J.A., Raghavan, R.M.G., Nair, Platelet adhesion and aggregation in diabetes mellitus. *Metabolism.* 28: 493, 1979.
- 6.— Colwell, J.A., Sagel, J., Crook, L., Chambers, A., Laimins, M.: Correlation of platelet aggregation, plasma factor activity, and megathrombocytes in diabetic subjects with and without vascular disease. *Metabolism.* 26: 279, 1977.

- 7.- Halushka, P.V., Lurie, D., Colwell, J.A.: Increased synthesis of prostaglandin-E-like material by platelets from patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 297: 1306, 1977.
- 8.- Johnson, M., Harrison, H.E., Raftery, A.T., Elder, J.B.: Vascular prostacyclin may be reduced in diabetes man. *Lancet.* 1: 325, 1979.
- 9.- Kwann, H.C., Colwell, J.A., Cruz, S., Suwanwela, N., Dobbie, J.G.: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. *J. Lab. Clin. Med.* 80: 236, 1972.
- 10.- Moncada, S., Korbust, R., Bunting, S., Vane, J.R.: Prostacyclin is a circulating hormone. *Nature.* 273: 767, 1978.
- 11.- O'Malley, B.C., Ward, J.D., Timperley, W.R., Porter, N.R., Preston, F.E.: Platelet abnormalities in diabetic peripheral neuropathy. *Lancet.* 2: 1274, 1975.
- 12.- Ross, R., Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* 297: 369, 1976.
- 13.- Sagel, J., Colwell, J.A., Crook, L., Laimins, M.: Increased platelet aggregation in early diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 82: 733, 1975.
- 14.- Saleem, H., Krieg, A.F., Cieslica, R.: Platelet activity ratio. A new approach for quantitation of platelet factor 3. *Am. J. Clin. Pathol.* 63: 68, 1975.
- 15.- Smart, J.V.: *Elementos de estadística médica.* Ed. Marín, Barcelona, 1972.
- 16.- Smith, J.B., Ingerman, C., Silver, M.J.: Persistence of thromboxane A₂-like material and platelet release-inducing activity in plasma. *J. Clin. Invest.* 58: 1119, 1976.
- 17.- Spaet, T.H., Cintron, J.: Studies on platelet factor 3 availability. *Brit. J. Haemat.* 11: 269, 1965.
- 18.- Wu, K.K., Barnes, R.W., Hoak, J.C.: Platelet hyperaggregability in idiopathic recurrent deep vein thrombosis. *Circulation.* 53: 687, 1976.