

Agregación plaquetaria en enfermedad Hepática inducida por alcohol

Alberto Barrantes*

Alfredo Martén**

Carlos Montero***

Roberto Cordero***

RESUMEN

Se tomó una muestra de 15 pacientes con enfermedad hepática inducida por alcohol, 10 cirrosis y 5 hepatitis alcohólica. El 80 por ciento de los pacientes tuvieron tiempo de protrombina, Normotest y Thrombotest disminuidos, coincidiendo con valores plasmáticos bajos de los factores estudiados (II, V, VII, X). Los factores V y VII resultaron ser los parámetros más sensibles después del tiempo de protrombina, Normotest y Thrombotest, pues estaban disminuidos en 11 de los pacientes estudiados. El fibrinógeno estaba disminuido en solo 2 pacientes, coincidiendo con la presencia de productos de degradación del fibrinógeno (PDF), los otros 7 pacientes con PDF tuvieron fibrinógeno normal.

Dos pacientes tuvieron agregación plaquetaria deficiente con ADP y ristocetina, 1 con ADP y 4 con ristocetina. De estos siete pacientes con agregación plaquetaria deficiente, 4 tuvieron PDF en plasma. Aquellos que tuvieron agregación plaquetaria deficiente con ristocetina, tuvieron factor VIII biológico aumentado, con un promedio del 167 por ciento.

Es importante tener en cuenta que algunos pacientes con enfermedad hepática pueden tener una causa adicional que va a incidir sobre la hemostasia, y por lo tanto en un aumento de predisposición al sangrado, pues cualquier interferencia con la agregación plaquetaria, aunada a la deficiencia de factores de la coagulación, puede ser de considerable trascendencia clínica.

*Laboratorio de Investigación Clínica, Hospital México, C.C.S.S.

**Servicio de Gastroenterología, Hospital México, C.C.S.S.

***Servicio de Hematología, Hospital México, C.C.S.S.

INTRODUCCION

Las enfermedades hepáticas están asociadas frecuentemente a cambios hemostáticos, presentándose en algunas ocasiones síntomas clínicos, particularmente sangrado (19). Este síntoma es raro, pues solo el 15 por ciento tiene sangrado anormal (20) aunque la mayoría de los pacientes tenga uno o más trastornos de la coagulación, fibrinólisis o ambos, revelado por los resultados de laboratorio. Deutsch (9) ha encontrado que por lo menos el 85 por ciento de los pacientes tiene una prueba de coagulación anormal, comprobando esta heterogeneidad de los resultados del laboratorio de coagulación, la complejidad de los defectos de la hemostasia en estos pacientes.

La contribución de las plaquetas al mecanismo de la hemostasia, a través de las actividades que desarrolla normalmente —adhesividad, agregación y liberación— es bien conocida y comprobada (1,27). Por lo tanto, cualquier situación que pueda interferir con la función normal de las plaquetas puede producir alteraciones en la hemostasia y condicionar problemas de índole clínico, como sucede en la uremia (12,13) y en el tratamiento con cierto tipo de drogas (1).

En vista de que el paciente con enfermedad hepática generalmente tiene disminución de los factores de la coagulación, pues el hígado sintetiza muchos de los factores importantes de la hemostasia, hemos creído

conveniente estudiar la agregación plaquetaria en un grupo de pacientes con hepatopatía alcohólica, con el objeto de relacionar la función plaquetaria con los factores bioquímicos de la coagulación.

MATERIALES Y METODOS

Se tomó una muestra de 15 pacientes con enfermedad hepática inducida por alcohol —con valores normales de plaquetas— 10 con cirrosis y 5 con hepatitis alcohólica.

Se tomó a cada uno de los pacientes una muestra de sangre en ayunas con citrato de sodio al 3,8 por ciento (relación 9:1) para el estudio de los factores bioquímicos de la coagulación, y una muestra de sangre con anticoagulante de Ware (6 partes de citrato de sodio 0,1 M y 4 partes de ácido cítrico 0,1 M) (relación 9:1) para el estudio de la función plaquetaria.

Se les efectuó los siguientes exámenes de rutina: conteo de plaquetas (4), tiempo de protrombina (18), Normotest y Thrombotest de la Casa Nyegaard & Co.

Así mismo se cuantificaron los siguientes factores bioquímicos de la coagulación: fibrinógeno (6), factor II (8), factor V (2), factor VII (2), factor VIII (21) y factor X (7).

Los productos de degradación del fibrinógeno (PDF) se cuantificaron con el juego de reactivos de Thrombo-Wellcotest (Wellcome Reagents Ltda., England).

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) del mismo paciente.

Los estudios de agregación plaquetaria se llevaron a cabo de acuerdo con la técnica de Born & Cross (3), 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) $1,3 \times 10^{-5} M$ y $2,6 \times 10^{-6} M$, y bitartrato de L-epinefrina (Sigma Che-

mical Co., St. Louis, Mo., USA) $3,3 \times 10^{-6} M$.

La agregación plaquetaria con ristocetina se llevó a cabo de acuerdo con la técnica de Weiss *et al* (26), usando concentraciones finales de 1,2; 1,5 y 1,8 mg/ml. de ristocetina (Pacific Hemostasis Laboratories Inc., Calif., USA).

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.

Los estudios estadísticos se llevaron a cabo de acuerdo con la "t" de student (23).

RESULTADOS

El Cuadro I muestra los resultados del tiempo de protrombina, normotest y thrombotest de todos los pacientes estudiados.

Los resultados de la cuantificación de fibrinógeno y los productos de degradación del fibrinógeno, así como los factores II, V, VII y X se presentan en el Cuadro II.

Los estudios de agregación plaquetaria con colágeno, ADP y epinefrina se observan en el Cuadro III.

El Cuadro IV muestra los resultados de la agregación plaquetaria inducida por ristocetina y los niveles de factor VIII biológico.

DISCUSION

El hallazgo de disminución en los factores de la coagulación estudiados en nuestros pacientes con enfermedad hepática, en este caso inducida por alcohol, nos comprueba el diagnóstico de la misma, pues es bien sabido que estos factores son sintetizados a nivel del hígado, y una disfunción del mismo produce baja en los niveles de los factores mencionados. En nuestro estudio los factores V y VII fueron los parámetros más sensibles para medir disfunción, pues estaban disminuidos en 11 de los pacientes estudiados. Aun cuando la cuantificación de los factores de la coagulación es un buen parámetro para valorar funcionalidad hepática, pueden obviarse estos métodos usando dos pruebas como el Normotest y Thrombotest que han comprobado su sensibilidad para valorar deficiencias de los factores producidos por el

CUADRO I
ESTUDIOS DE COAGULACION EN 15 PACIENTES CON
HEPATOPATIA ALCOHOLICA

Paciente No.	Diagnóstico	Tiempo de Protrombina	Normotest %	Thrombostest %
1	CIRROSIS	44	55	25
2		82	40	44
3		46	60	45
4		50	55	48
5		48	49	23
6		54	50	35
7		72	64	64
8		66	50	42
9		39	26	34
10	HEPATITIS ALCOHOLICA	66	60	60
11		86	100	100
12		44	50	20
13		70	80	72
14		40	80	80
15		41	38	30
NORMAL		80-100	70-120	70-120

hígado, en especial los K dependientes (10, 11, 16,17,22). En este estudio, 13 pacientes dieron valores anormales, coincidiendo con los niveles bajos de los factores estudiados.

Como dato de interés, es importante destacar que los niveles de fibrinógeno fueron normales en 13 pacientes ($p > 0.1$) y únicamente 2 tuvieron niveles bajos; ambos en presencia de productos de degradación del fibrinógeno. Por otra parte, el resto de los pacientes con PDF positivos tuvieron niveles de fibrinógeno normales.

Los estudios de agregación plaquetaria nos indican que 3 pacientes tuvieron agregación plaquetaria disminuida, sobre todo cuando se usó ADP como sustancia agregante. De estos 3 pacientes, 2 tenían productos de degradación del fibrinógeno aumentados, situación que podría ser la causa de esta respuesta anormal al ADP, pues pueden competir con el fibrinógeno que es un cofactor

necesario para la agregación plaquetaria inducida por ADP (15).

Aunque 9 de los pacientes estudiados tuvieron PDF aumentados, solo 2 dieron agregación plaquetaria disminuida con ADP. Aquellos que tuvieron agregación plaquetaria normal —aun con una concentración menor de ADP ($2,6 \times 10^{-6}M$)— tenían los valores de PDF mayores, con un promedio de 54 mcg/ml contra 30 mcg/ml de los que tuvieron agregación plaquetaria disminuida. Aunque otros estudios (24,25) encontraron que la agregación plaquetaria en respuesta al ADP estaba disminuida en presencia de PDF, nosotros solo lo demostramos en 2 pacientes de 9 que tuvieron PDF aumentados.

A su vez, encontramos 6 pacientes con una respuesta anormal a la ristocetina, con niveles de factor VIII biológico aumentados, —con un promedio de 167 por ciento—, y únicamente dos con presencia de PDF. Cuan-

CUADRO II
FACTORES DE LA COAGULACION Y PDF EN 15 PACIENTES CON
HEPATOPATIA ALCOHOLICA

Paciente No.	Fibrinógeno mg/dl.	P.D.F. mcg/ml.	Factor II %	Factor V %	Factor III %	Factor X %
1	180	40	100	71	42	71
2	190	0	100	80	80	50
3	280	20	95	95	100	43
4	125	160	100	50	50	45
5	285	0	100	58	50	40
6	250	20	70	50	35	50
7	90	80	50	62	60	100
8	300	0	70	76	41	100
9	170	0	57	40	21	40
10	250	20	42	56	36	100
11	300	0	100	100	100	100
12	200	40	71	30	12	71
13	225	0	100	100	100	69
14	490	40	100	44	68	100
15	260	20	100	66	18	66
NORMAL	170-410	10	80-110	80-110	80-110	80-110

CUADRO III
AGREGACION PLAQUETARIA EN 15 PACIENTES CON
HEPATOPATIA ALCOHOLICA

Paciente No.	COLAGENO 3 mcg/ml	A.D.P. $1,3 \times 10^{-5}$ M	A.D.P. $2,6 \times 10^{-6}$ M	EPINEFRINA $3,3 \times 10^{-6}$ M
1	47	41	—	50
2	68	67	—	62
3	81	65	—	77
4	65	78	72	66
5	75	60	45	77
6	60	67	56	40
7	68	81	66	82
8	100	92	—	100
9	93	77	—	90
10	23	27	12	22
11	62	81	—	77
12	65	87	—	83
13	16	31	—	80
14	77	75	77	75
15	80	85	82	85
NORMAL	60-98	61-100	45-99	60-99

CUADRO IV
AGREGACION PLAQUETARIA INDUCIDA POR RISTOCETINA Y
FACTOR VIII EN 15 PACIENTES CON
HEPATOPATIA ALCOHOLICA

Paciente No.	RISTOCETINA		Factor VIII %
	1,2mg/ml	1,5 mg/ml.	
1	10	55	140
2	8	60	191
3	10	63	80
4	70	—	160
5	80	—	101
6	2,5	95	145
7	70	—	350
8	97	—	322
9	90	—	93
10	68	—	110
11	58	69	280
12	75	—	185
13	10	18	170
14	—	—	175
15	80	—	90
NORMAL	65-100	65-100	50-150

do se usó en estos 6 pacientes una concentración final de 1.5 mg/ml de ristocetina, la respuesta fue normal en 5, excepto en el paciente 13 que aun usando 1.8 mg/ml de concentración final, las plaquetas no respondieron, aunque tenía un factor VIII biológico de 170 por ciento.

Se ha confirmado plenamente que los pacientes con cirrosis hepática tienen un aumento no solo en el factor VIII biológico y antigénico, sino también en el factor VIII Von Willebrand (5), lo cual nos indica que la respuesta anormal de estos pacientes a la ristocetina, no se debe a la deficiencia de Factor Von Willebrand, sino a un defecto de las plaquetas. Castillo *et al* (5) proponen una pérdida específica de los receptores de membrana, debido quizá a un leve pero constante aumento de la actividad de la plasmina; o tal vez, a una actividad proteolítica o glucolítica del plasma que puede inducir una pérdida de la glicoproteína I plaquetaria, la cual se supone que juega un papel esencial en el mecanismo de la agregación plaquetaria con ristocetina (14).

En vista de que 2 pacientes tuvieron deficiente agregación plaquetaria con ADP y Ristocetina, 1 con ADP y 4 con ristocetina, es importante tener en cuenta que algunos pacientes con enfermedad hepática pueden tener una causa adicional que va a incidir sobre la hemostasia, y por lo tanto en un aumento de predisposición al sangrado, pues cualquier interferencia con la agregación plaquetaria, aunada a la deficiencia de factores de coagulación, puede ser de considerable trascendencia clínica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— ARKEL, Y.S.: Valoración de la Agregación de Plaquetas en trastornos de la hemostasia. Clin. Med. N.A. 60: 881, 1976.
- 2.— BIGGS, R.: Coagulación sanguínea, hemostasia y trombosis. Editorial Jims, Barcelona, 1975.
- 3.— BORN, G.V.R., GROSS, M.J.: The aggregation of blood platelets. J. Physiol. 168: 178, 1963.

- 4.- BRECHER, G., CRONKRITE, E.P.: Morphology and enumeration of human blood platelets. *J. Appl. Physiol.* 3:365, 1950.
- 5.- CASTILLO, R., MARAGALL, S., RODES, J., CLEMENTE, C., PROFITOS, J., ORDINAS, A.: Increased factor VIII complex and defective ristocetin-induced platelet aggregation in liver disease. *Thromb. Res.* 11:899, 1977.
- 6.- CLAUS, A.: Gerinnungsphysiologische schnell method sur bestimmung des fibrinogens. *Acta Haemat.* 17:237, 1957.
- 7.- DENSON, K.W.E.: The specific assay of Prower-Stuart factor and factor VII. *Acta Haemat.* 25:105, 1961.
- 8.- DENSON, K.W.E., BORRET, R., BIGGS, R.: The specific assay of prothrombin using the taipan snake venom. *Brit. H. Haemat.* 21:219, 1971.
- 9.- DEUTSCH, E.: Blood coagulation changes in liver disease *Progr. Liver Dis.* 2:69, 1965.
- 10.- HADCHOUEL, P., TOUBOUL, J.P., CAROLI, J.: Study on the correlation between Normotest, Quick's method and specific coagulation factor in liver disease. *Scand. J. Gastroent.* 8 (Suppl. 19): 151, 1973.
- 11.- HILLEBRAND, P., SHERLOCK, S.: Use of Normotest and Thrombotest coagulation tests in hepatocellular disease. *Scand. J. Gastroent.* 8: (Suppl. 19): 125, 1973.
- 12.- HOROWITZ, H.I.: Uremic toxins and platelet function. *Arch. Intern. Med.* 126: 823, 1970.
- 13.- HOROWITZ, H.I., COHEN, B.D., MARTINEZ, P., PAPAYOANOU, M.F.: Defective ADP-induced platelet factor 3 activation in uremia. *Blood.* 30: 331, 1967.
- 14.- JENKINS, C.S.P., PHILLIPS, D.R., CLEMETSON, K.J., MEYER, D., LARRIEU, M.J., LUSCHER, E.F.: Platelet membrane glycoproteins implicated in ristocetin-induced aggregation. Studies of the proteins of platelets from patients with Bernard-Soulier syndrome and Von Willebrand disease. *J. Clin. Invest.* 57: 112, 1976.
- 15.- KOPEC, M., BUDZYNSKI, A., STACHURSKA, J., WEGRZYNOWICZ, Z., KOWALSKI, E.: Studies on mechanism of interference by fibrinogen degradation products (FDP) with platelet function: role of fibrinogen in platelet atmosphere. *Thromb. diath. Haemorrh.* 15: 476, 1966.
- 16.- MANNUCCI, L., DIOGUARDI, N., PIZZOLATO, M., MANNUCCI, P.M.: Value of Normotest and Antithrombin III in assesment of liver function. *Scand. J. Gastroent.* 8: (Suppl. 19): 83, 1973.
- 17.- OCKERMANN, P.A., BRACCONIER, J.H., ERICKSSON, O.: Normotest in acute hepatitis and chronic liver disease. *Scand. J. Gastroent.* 8: (Suppl. 19): 83, 1973.
- 18.- POLLER, L.: The British Comparative Thromboplastin. Association of Clinical Pathologist. Broadsheet, No.71, 1970.
- 19.- RO, J.S.: Hemostatic problems in liver failure *Scand. J. Gastroent.* 8: (Suppl. 19): 80, 1973.
- 20.- ROBERTS, H.R., CEDERBAUM, A.I.: The liver and blood coagulation: physiology and pathology *Gastroenterology.* 63: 297, 1972.
- 21.- RUGGERI, Z.M., CAPITANIO, A.: I tests di laboratorio per lo studio delle anomalie congenite e acquisite della coagulazione. In *Alterazione congenite e acquisite delle coagulazione: metodi di studio* (ed. P.M. Mannucci, S. Gorini), Piccin Editore, Padova, 1974.
- 22.- SCHMIDT, W., GROS, H.: Normotest in acute viral hepatitis. *Scand. J. Gastroent.* 8: (Suppl. 19): 143, 1973.
- 23.- SMART, J.V.: *Elementos de estadística médica.* Ed. Marín S.A., Barcelona, 1972.
- 24.- THOMAS, D.P.: Abnormalities of platelet aggregation in patients with alcoholic cirrhosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 201: 243, 1972.
- 25.- THOMAS, D.P., REAM, S., STUART, R.K.: Platelet aggregation in patients with Laennec's cirrhosis of the liver. *N. Engl. J. Med.* 276: 1344, 1967.
- 26.- WEISS, H.J., ROGERS, J., BRAND, H.: Defective ristocetin induced platelet aggregation in Von Willebrand's disease and its correction by factor VIII. *J. Clin. Invest.* 52: 2697, 1973.
- 27.- WHITE, A.M., HEPTINSTALL, S.: Contribution of platelet to thrombin formation. *Brit. Med. Bull.* 34: 123, 1978.