

## FUNCION PLAQUETARIA EN CIRROSIS HEPATICA

Gilberto Vizcaíno\* y María Diez-Ewald\*\*

### RESUMEN

Se estudia la función plaquetaria de 15 pacientes con cirrosis hepática y los resultados se comparan con los de 15 personas normales utilizadas como control. Así mismo se estudia una posible relación entre las alteraciones de las plaquetas y modificaciones del sistema de coagulación. Se observa que en comparación con el grupo control, los pacientes con cirrosis de hígado tienen menor disponibilidad de Fp3 y una alta frecuencia de trastornos de la agregación con agentes tales como epinefrina, ADP y colágeno. El hallazgo más llamativo desde el punto de vista de la coagulación, fué un alargamiento significativo de los tiempos de protrombina y trombina en los pacientes.

Los resultados apoyan la hipótesis de que la alteración de la coagulación puede en parte ser debida a una alteración primaria de la función plaquetaria. Sin embargo, es necesario descartar la presencia de inhibidores (inmunoglobulina) y/o antitrombina elevada.

### INTRODUCCION

Los trastornos hemostáticos que ocurren en la cirrosis hepática son múltiples. Se han descrito alteraciones tales como déficit de factores de

---

\* Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 526. Maracaibo, Venezuela.

\*\* Instituto de Investigación Clínica, Apartado 1151, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

coagulación, especialmente aquellos dependientes de vitamina K, desarrollo de coagulación intravascular diseminada (4), cambios en el sistema fibrinolítico (6, 15) y trombocitopenia; esta última debida principalmente a hiperesplenismo. Sin embargo, los trastornos de la función plaquetaria han sido escasamente estudiados y los trabajos disponibles a este respecto se refieren a anomalías de la agregación plaquetaria cuando se utiliza ADP y colágeno (19, 20); lo cual los autores atribuyen a variaciones del equilibrio existente entre los niveles de trombina y plasmina, con mayor producción de monómeros de fibrina y productos de degradación del fibrinógeno (PDF) respectivamente.

La disponibilidad del fosfolípido plaquetario o factor plaquetario 3 (Fp3) en esta enfermedad, está poco documentada, existiendo datos contradictorios en cuanto a su déficit o normalidad, lo cual en parte es atribuible a los varios métodos utilizados por los diferentes autores (12, 23).

El propósito del presente trabajo es estudiar diferentes aspectos de la función plaquetaria, en pacientes con cirrosis hepática, y tratar de establecer si hay alguna relación entre los hallazgos y los cambios sistémicos de la coagulación.

## MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 15 pacientes con diagnóstico de cirrosis portal demostrado por biopsia, y 15 personas normales se utilizaron como grupo control. Se tuvo especial cuidado en descartar aquellos pacientes o controles que estuviesen ingiriendo medicamentos en el momento del estudio, o durante los diez días que precedieron a éste. Las muestras de sangre se tomaron con el método de doble jeringa plástica, usando agujas del tipo "mariposa"; el contenido de la segunda jeringa se colocó en tubos plásticos que contenían citrato de sodio al 3,8% en una proporción de un volumen de citrato para nueve volúmenes de sangre.

Se preparó plasma rico en plaquetas (PRP) mediante centrifugación a 800 rpm durante 10 minutos en centrífuga Sorvall GLC2 y a temperatura ambiente; este plasma se utilizó dentro de las primeras cuatro horas después de la toma de la muestra. Para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP) se centrifugó la sangre a 4.800 rpm en centrífuga Sorvall RC2B durante 20 minutos y a 4°C. Las pruebas de función plaquetaria se realizaron en plasmas a temperatura ambiente mientras que para las pruebas de coagulación las muestras se mantenían en frío hasta el momento de ser utilizadas.

En cada caso se realizaron los siguientes estudios: conteo plaquetario en el PRP y sangre total; para ello se usó la cámara de Neubauer y el microscopio de luz. Tiempo de sangría de acuerdo a la técnica de Ivy modificada con la plantilla de Mielke (13). Retracción del coágulo después de 1 y 2 horas y expresada de acuerdo al grado de retracción de 0 a 4 cruces. Tiempos de protrombina y parcial de tromboplastina según los métodos clásicos. Tiempo de trombina, utilizando una solución de trombina capaz de coagular plasma normal en 21 segundos. Concentración de fibrinógeno siguiendo el método de Clauss (3). Prueba del sulfato de protamina según la técnica de Sanfelippo (16). La disponibilidad del Fp3 se investigó de acuerdo a Weiss (22), ajustando el PRP a 200.000 plaquetas por microlitro. Los estudios de agregación plaquetaria se realizaron en un agregómetro (Chrono-Log Corporation) con filtro rojo de 609  $m\mu$  y para un volumen de 0,5 ml de PRP a 37°C. Las sustancias agregantes fueron las siguientes: Epinefrina ( $3 \times 10^{-6} M$ ), ADP ( $3 \times 10^{-6} M$ ), Colágeno (6 mg/ml) y Ristocetina (1,2 mg/ml).

La agregación se determinó por el porcentaje de disminución de la densidad óptica en un tiempo aproximado de 5 minutos; a su vez se calculó la tasa de agregación en un minuto o pendiente, midiendo la densidad óptica en el punto en que la tangente de la curva corta la vertical levantada en un minuto.

## RESULTADOS

La tabla I muestra los resultados de coagulación obtenidos. Los valores del grupo control representan el promedio  $\pm$  una desviación estandar. Diez casos de cirrosis tuvieron el tiempo de protrombina más largo que el rango encontrado en los controles; dos de estos casos también tuvieron largo el tiempo parcial de tromboplastina. El tiempo de trombina solo se determinó en once controles, dando un rango de 18,9 a 23,1 segundos; este tiempo resultó alargado en todos los casos de cirrosis hepática. Los valores de fibrinógeno estuvieron por debajo de los controles en seis casos, y un caso tuvo una concentración por encima de lo normal. Así mismo, todos los controles tuvieron la prueba del sulfato de protamina negativa y en cinco pacientes fue positiva.

La tabla II muestra los resultados de las pruebas de función plaquetaria. Todos los controles tuvieron más de 200.000 plaquetas por microlitro de PRP; en cambio, cinco pacientes tuvieron valores inferiores, pero no hubo ningún caso con menos de 100.000 plaquetas por microlitro de PRP. En siete controles se hizo conteo de plaquetas en sangre total, dando valores entre 137.000 y 334.000 plaquetas por microlitro; en 8 pacientes los valores estuvieron entre 52.000 y 364.000 por microlitro. El tiempo

TABLA I

RESULTADOS DE COAGULACION EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA Y EN CONTROLES SANOS

Sujetos	Tiempo de protrombina Seg	Tiempo parcial de tromboplastina Seg	Tiempo de trombina Seg	Fibrinógeno mg %	Prueba del sulfato de protamina
A.T.	14,7	46,6	42,4	86	-
S.A	13,0	36,3	24,5	265	++++
P.P.	22,1	48,4	74,5	97	+
M.R	15,3	37,7	23,4	131	-
A.A.	16,3	44,5	27,4	117	-
J.G.	17,7	53,5	37,5	93	+
H.C.	20,2	44,8	37,5	160	++
E.V.	15,5	44,1	31,1	370	+
J.B	13,3	33,1	25,5	530	-
C.M.	12,9	42,0	29,4	350	-
R.G.	14,9	42,4	31,2	260	-
R.C	17,6	62,2	37,2	310	-
M.S.	16,8	49,4	34,8	265	-
E.Y.	14,0	42,7	25,3		-
A.E.	13,5	42,5	23,3		+
CONTROLES* (15)	12,8 ± 0,78	38,7 ± 5,45	21,0 ± 1,09	344 ± 73	negativa
P	< 0,001	< 0,02	< 0,001	< 0,01	

\* Promedio ± 1 desviación estándar.

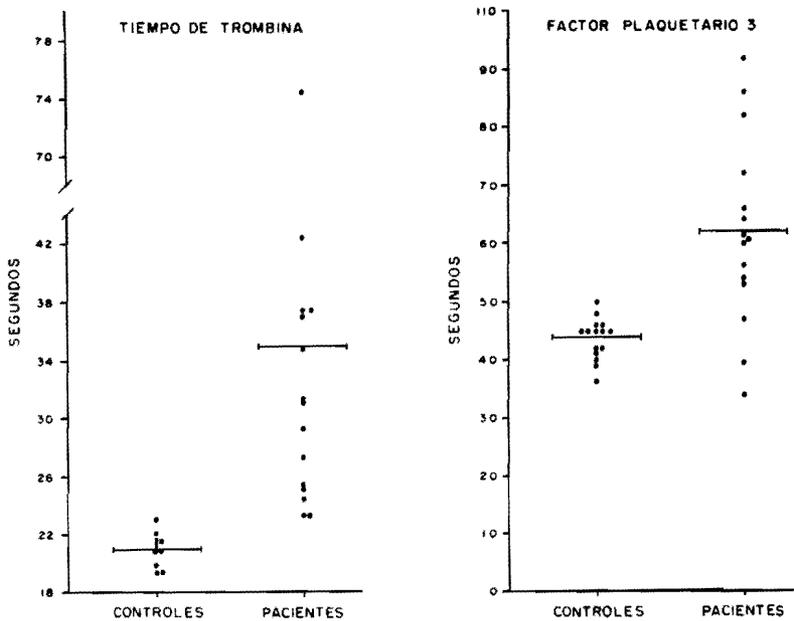
**TABLA II**

**VALORES DE LAS PRUEBAS DE FUNCION PLAQUETARIA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA Y EN CONTROLES SANOS**

Sujetos	Plaquetas por $\mu$ l de PRP	Tiempo de sangría.		Retracción del coágulo	Fp3 Segundos	Porcentaje de agregación		
		Minutos.	Segundos			Epinefrina	A D P	Ristocetina
R.T.	525.000	1,5	66	+++	86	78	67	0
S.A.	259.000	4,5	34	++	> 100	> 100	> 100	0
P.P.	114.000	9,5	86	++	0	22	18	0
M.R.	286.000	6,5	56	+	> 100	74	> 100	
A.A.	132.000	3,0	47	++	67	61	81	
J.G.	168.000	3,5	92	+	7	22	56	13
H.C.	151.000	11,0	82	+	33	34	56	16
E.V.	192.000	3,5	53	++	67	69	92	
I.B.	253.000	1,5	39	++	83	94	78	
C.M.	298.000	1,5	64	++	> 100	> 100	94	
R.G.	211.000	3,0	72	++	56	57	62	
R.C.	338.000	1,5	54	++	95	95	98	
M.S.	228.000	3,5	60	+++	70	28	0	0
E.Y.	214.000	6,0	62	++	10	14	23	0
A.E.	549.000		61	+++	83	97	100	100
CONTROLES* (15)	323.066 $\pm$ 116.559	3 $\pm$ 1.44	43,2 $\pm$ 4,09	++++	> 60	> 60	> 60	> 60
P	N.S.		< 0,0001					

\* Promedio  $\pm$  desviación estandar  
N.S. = No significativa

de sangría se determinó en cuatro controles y en todos los pacientes, siendo anormal en solo dos pacientes, los cuales tenían bajo conteaje plaquetario en el PRP. La retracción del coágulo fue normal en todos los controles y en dos pacientes, el resto mostró una retracción de una a tres cruces. Solo tres pacientes tuvieron el Fp3 dentro del rango de los controles, el resto fue francamente anormal. La figura 1 muestra una comparación de los controles con los pacientes, en lo que respecta al tiempo de trombina y disponibilidad de Fp3, ya que éstos fueron los parámetros más comunmente alterados. La agregación plaquetaria total fué normal en todas las personas que sirvieron como control. Trece personas tuvieron una respuesta bifásica con epinefrina y 11 con ADP. La segunda fase de la agregación con epinefrina tenía una pendiente mayor que la primera fase, mientras que con ADP sucedió a la inversa. Una persona presentó agregación espontánea. En los casos donde hubo respuesta monofásica a los agregantes señalados, la tasa de agregación o pendiente fué más del 80% en un minuto; la tasa de agregación con colágeno varió de 25 a más del 100% en un minuto, considerándose esto último como una respuesta acelerada. El antibiótico ristocetina solo se usó en un control siendo su respuesta normal.



**Fig. 1.— Tiempo de Trombina y Factor plaquetario 3, en personas normales y pacientes con cirrosis hepática.**  
 — Promedio.

Los pacientes con cirrosis mostraron respuestas variables en las pruebas de agregación. Seis agregaron normalmente, tres tuvieron una respuesta acelerada y cinco mostraron hipoagregabilidad, y un paciente solo respondió a epinefrina. La figura 2 muestra las curvas típicas de agregación normal, hipo e hiperagregabilidad a los diversos agentes utilizados. En los pacientes con hipoagregabilidad las pendientes fueron bajas y además hubo desagregación con ADP. Sólo en uno de los casos (P.P.) la cifra de plaquetas en el PRP fue lo suficientemente baja como para explicar la pobre respuesta a los agregantes. De igual modo, en los casos con respuesta acelerada, las cifras de plaquetas en el PRP estaban dentro del rango normal (Tabla II). En cinco pacientes se utilizó ristocetina, dando en cuatro de ellos una respuesta anormal, tres de los cuales mostraron hipoagregabilidad a otros agentes. También pudo observarse correlación positiva y significativa entre las pendientes y la agregación total; ésto fue más evidente con la segunda pendiente, siendo la correlación de  $r = 0.74$  ( $p < 0.01$ ) para epinefrina,  $r = -0.98$  ( $p < 0.001$ ) para ADP y  $r = 0.87$  ( $p < 0.001$ ) para colágeno. Estas correlaciones no se observaron en los controles.

## DISCUSION

Los resultados presentados en este trabajo, demuestran que de 15 pacientes con cirrosis hepática, 11 tenían trastornos de la función plaquetaria, evidenciados por más de una anomalía en el grupo de pruebas destinadas a medir esta función. Las alteraciones más comunes fueron una menor disponibilidad de Fp3 e hipoagregabilidad de las plaquetas, en comparación con el grupo control. Estos hallazgos fueron con frecuencia acompañados por un alargamiento de los tiempos de protrombina y trombina.

La interrelación entre trombina y función plaquetaria es aún objeto de discusión. De acuerdo a algunos autores (19, 20), existirá hiper o hipoagregabilidad según el predominio de monómeros de fibrina o de PDF, siendo la trombina en el primer caso, la responsable de estimular la agregación y en el segundo caso, la plasmina se encargaría de inhibirla. Cabe señalar que seis de los casos estudiados tenían monómeros de fibrina, pero solo uno de ellos tenía hiperagregación plaquetaria.

Se ha demostrado que son necesarias concentraciones de fibrinógeno normales o altas para que se produzca la agregación (5, 14). En nuestro estudio, tres pacientes con agregación normal tenían niveles bajos de fibrinógeno y dos de ellos tenían monómeros de fibrina presentes; ésto no necesariamente se opone a las teorías anteriores, puesto que podría reflejar una etapa de consumo de fibrinógeno, conociéndose también casos de

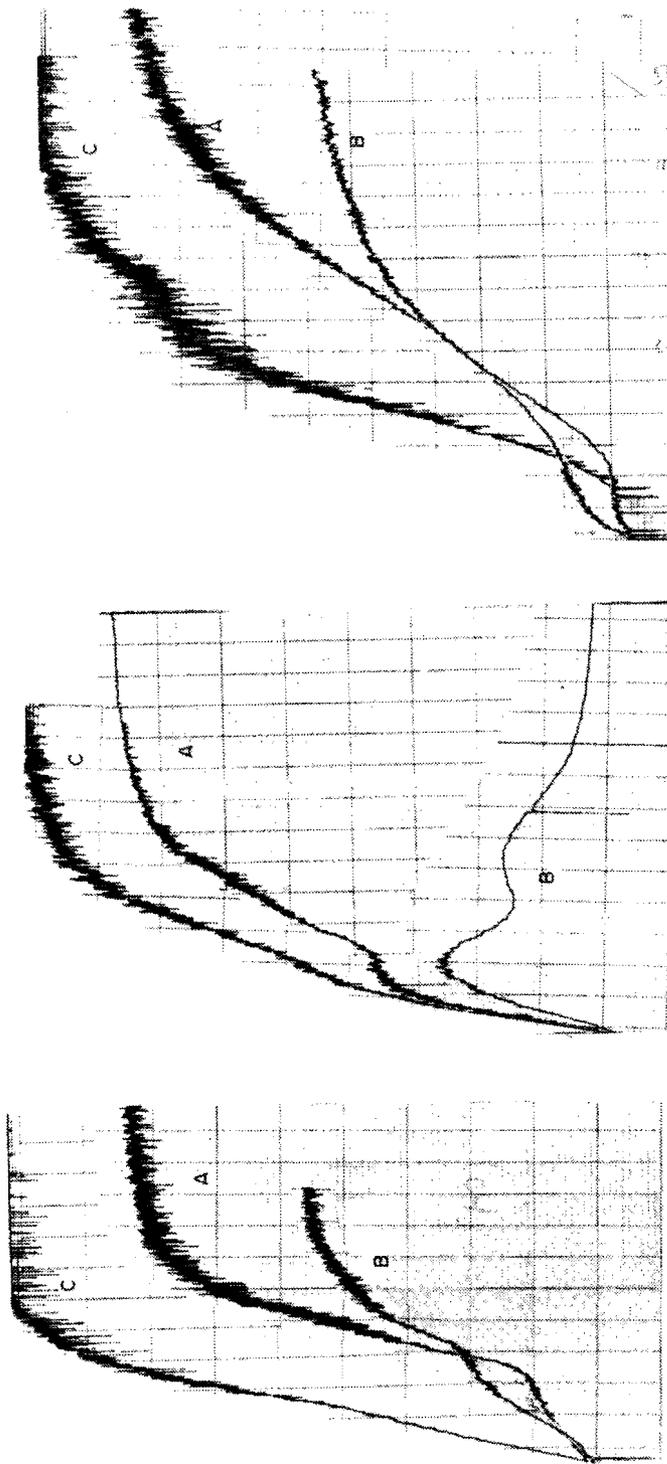


Fig. 2.- Agregación plaquetaria con epinefrina, ADP y Colágeno. A- Respuesta normal. B- Hipoagregación. C- Hiperagregación.

afibrinogenemia congénita con agregación normal (9). Thomas sugiere (19), que la prolongación del tiempo de trombina es la causante, en esta enfermedad, de la alteración de la función plaquetaria; sin embargo, otros autores como Hirsch (11) presentan evidencias que demuestran que la primera trombina que se forma lo hace después de la fase de liberación de ADP. Otro aspecto que se ha mencionado es que el tiempo de trombina puede estar alterado por un fibrinógeno cualitativamente anormal (1, 8); sin embargo, no hay evidencias fuertes que apoyen esta aseveración, aparte de que el método utilizado en nuestro estudio solo mide fibrinógeno coagulable.

Existen teorías que demuestran que las plaquetas pueden iniciar el proceso de la coagulación y que las reacciones subsecuentes ocurren en la superficie plaquetaria (2, 24). Basado en esto, Walsh (21) ha expuesto una hipótesis mediante la cual los eventos de adhesividad, agregación y fase de liberación están íntimamente ligados a las reacciones de coagulación, de tal manera que una vez producida la liberación de ADP en la segunda fase de la agregación, este activaría el factor XII, o directamente el XI en presencia de colágeno, continuándose las reacciones de los demás factores hasta la formación de trombina y a su vez ella actuaría como estimulante para la continuación del proceso de la coagulación y de la agregación plaquetaria.

En el presente trabajo la alteración de la agregación plaquetaria se observa primordialmente en la fase de liberación o segunda fase, lo que demuestra un defecto en la liberación de ADP; de acuerdo con las teorías señaladas anteriormente esto explicaría el alargamiento del tiempo de trombina. A su vez, es bien conocida la función protectora que ejercen las plaquetas sobre ciertos factores de la coagulación (XIa, Xa, trombina) (21); es comprensible entonces, que al fallar esta protección contra la inhibición de los factores mencionados se produzca una alteración de los eventos de la coagulación.

El fenómeno de agregación y la disponibilidad del Fp3 parecen estar íntimamente relacionados (10, 18); sin embargo, hay evidencias de que ni el ADP ni la reacción de liberación son necesarias para que el Fp3 se haga disponible (7); en este sentido, el Fp3 y la agregación pueden dissociarse: se han reportado seis casos de agregación normal con Fp3 alterado, teniendo en común un déficit de glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (17). En los casos aquí presentados encontramos las situaciones descritas anteriormente (3 casos con Fp3 normal y agregación normal o acelerada y 6 casos con Fp3 anormal y agregación normal o acelerada).

La posibilidad de la existencia de una antitrombina (antitrombina III) elevada en pacientes con cirrosis hepática, es una hipótesis atractiva para

explicar el alargamiento del tiempo de trombina y subsecuentemente una agregación anormal; consideramos ésto motivo de estudios posteriores. No obstante, si sugerimos la existencia de una antitrombina elevada, es necesario mencionar que en aquellos individuos que presentaron hipoagregabilidad al mostrar alteración en varios de los parámetros investigados, es probable que existan factores coadyuvantes inhibitorios de la agregación: la presencia de un inhibidor plasmático (gammaglobulina?) puede ser uno de ellos, al igual que otros factores mencionados con anterioridad.

Por otra parte, la presencia de un solo factor que pudiera directa o indirectamente influir en la agregación plaquetaria, es posible que no sea suficiente como para producir una agregación alterada.

De ésto se deduce, que la alteración hemostática en los pacientes con cirrosis hepática cobra valor cuando varios factores de los mencionados anteriormente estén actuando simultáneamente, siendo mayor el peligro hemorrágico cuanto más factores condicionantes estén presentes.

En conclusión, todos los pacientes con cirrosis hepática presentaron alteraciones de la función plaquetaria, siendo las manifestaciones más frecuentes el déficit en la disponibilidad de Fp3 e hipoagregabilidad después de la adición de ADP.

#### Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a las Sras. Carmen de Suárez y Trina de Oroño, por su asistencia técnica y al Dr. Alvaro Badell Urdaneta del Servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario de Maracaibo, por su colaboración al facilitarnos los casos clínicos.

#### ABSTRACT

**Platelet function in hepatic cirrhosis.** *Vizcaino G (Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 526. Maracaibo, Venezuela). Diez-Ewald M. Invest. Clin. 18(3): 146-157, 1977.*— Platelet function in 15 patients with a diagnosis of hepatic cirrhosis, was compared with 15 healthy persons, used as controls. The relationship between alterations of platelet function and changes in the coagulation system was also studied. It was observed that in the cirrhotic patients, the availability of Pf3 was diminished and the frequency of defective platelet aggregation with epinephrine, ADP and collagen was higher than in the control subjects. The most evident change in the coagulation system was the increase of the prothrombin and thrombin times in the patients. The present results support the theory that defective coagulation may

result from primary alteration of platelet function. However, the existence of an inhibitor or elevated antithrombin must be ruled out.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BALLARD HS, MARCUS AJ: Platelet aggregation in portal cirrhosis. *Arch Intern Med* 136: 316-319, 1976.
- 2- CASTALDI PA, LARRIEU MJ, CAEN J: Availability of platelet factor 3 and activation of factor XII thrombasthenia. *Nature* 207: 422-424, 1965.
- 3- CLAUSS A: Gerinnungsphysiologische schnellmethode zur bestimmung des fibrinogens. *Acta Haemat (Basel)* 17: 237-243, 1957.
- 4- COLMAN RW, ROBBOY SJ, MINNA JD: Disseminated intravascular coagulation (DIC). An approach. *Am J Med* 52: 679-689, 1972.
- 5- DEYKIN D: Plasma cofactors in adenosine diphosphate-induced aggregation of human platelets. *Nature* 208: 296-298, 1965.
- 6- FLETCHER AP, BIEDERMANN O, MOORE D: Abnormal plasminogen-plasmin sistem activity (fibrinolysis) in patients with hepatic cirrhosis. Its causes and consequences. *J Clin Invest* 43: 681-695, 1964.
- 7- GAETANO G: Dissociation between platelet factor 3 availability and platelet aggregation. *Acta Med Scand* 525: 99-108, 1970.
- 8- GREEN G THOMSON NM, DYMOCK IW, POLLER L: Abnormal fibrin polimerization in liver disease. *Br J Haemat* 34: 427-439, 1976.
- 9- GUGLER, LUSCHER EF: Platelet function in congenital afibrinogenemia. *Thromb Diath Haemorrh* 14: 361-373, 1965.
- 10- HARDISTY RM, HUTTON RA: Platelet aggregation and the availability of platelet factor 3. *Br J Haemat* 12: 764-776, 1966.
- 11- HIRSCH J, DOERY JCG: Platelet function in health and disease. *Progr Haemat* 7: 185-234, 1971.
- 12- MANDEL EE, LAZERSON J: Thromboasthenia in liver disease. *New Engl J Med* 265: 56-61, 1961.

- 13- MIELKE CH Jr, KANESHIRO MM, WEINER JM, RAPAPORT SI: The standardized Ivy bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood* 34: 204-215, 1969.
  - 14- NIEWIAROWSKI S, POPLAWSKI A, LIPINSKI B, FARBISZEWSKI R: The release of platelet clotting factors during aggregation and viscous metamorphosis. *Exp Biol Med* 3: 121-128, 1968.
  - 15- NILEHN JE, NILSSON IM: Demonstration of fibrinolytic split products in human serum by immunological method in spontaneous and induced fibrinolysis states. *Scand J Haemat* 1: 313-330, 1964.
  - 16- SANFELIPPO M, STEVENS DJ, KOENIG RR: Protamine sulphate test for fibrin monomers. *Am J Path* 56: 166-173, 1971.
  - 17- SCHWARTZ JP, COOPERBERG AA, ROSENBERG A: Platelet function studies in patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Br J Haemat* 27: 273-280, 1974.
  - 18- SIXMA JJ, NIJESSEN JG: Characteristic of platelet factor 3 release during ADP-induced aggregation. *Thromb Diath Haemorrh* 24: 206-213, 1970.
  - 19- THOMAS D: Abnormalities of platelet aggregation in patients with alcoholic cirrhosis. *Ann NY Acad Sci* 201: 243-250, 1972.
  - 20- THOMAS D, REAM J, STUART K: Platelet aggregation in patients with Laennec's cirrhosis of the liver. *New Eng J Med* 276: 1344-1348, 1967.
  - 21- WALSH P: Platelet coagulant activities and hemostasis: A hypothesis. *Blood* 43: 597-603, 1974.
  - 22- WEISS HJ: Platelet aggregation, adhesion and adenosine diphosphate release in thrombopathia (platelet 3 deficiency). *Am J Med* 43: 570-578, 1967.
  - 23- WEISS HJ, EICHELBERGER JW: Secondary thrombocitopenia: Pf3 in various disease states. *Arch Intern Med (Chicago)* 112: 827-834, 1963.
  - 24- WEISS HJ, KOCHWA S: Studies of platelet function and proteins in 3 patients with Glazmann's Thromboasthenia. *J Lab Clin Med* 7: 153-165, 1968.
-