

PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOINMUNE. DIFERENCIA
ENTRE REMISION VERDADERA Y ESTADO TROMBOCITOLITICO
COMPENSADO MEDIANTE DETERMINACION DEL TIEMPO
DE REGENERACION PLAQUETARIA

Gilberto Vizcaíno y María Díez de Ewald

*Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.
Apartado Postal 1151. Maracaibo, Venezuela*

RESUMEN

Se determinó el tiempo de regeneración plaquetaria (TRP) en pacientes con diagnóstico de Púrpura Trombocitopénica Autoinmune (PTA) que habían alcanzado conteo plaquetario normal después de tratamiento con esteroides y/o esplenectomía, con el fin de diferenciar entre la remisión verdadera y estados trombocitoícticos compensados (ETC).

Se estudiaron 17 pacientes que llenaron los criterios diagnósticos de PTA y como grupo control se escogieron 17 sujetos normales de edad y sexo comparables. El TRP se determinó en cada sujeto midiendo la producción seriada de Malonildialdehído (MDA) después de administrar una sola dosis de aspirina (50 a 100 mg).

El TRP del grupo control fué de $4,8 \pm 1,0$ días y el de los pacientes fué de $4,18 \pm 1,1$ días. Sin embargo en 4 de estos estaba significativamente acortado, en relación al grupo control y al resto de los pacientes ($2,55 \pm 0,2$

días $p < 0,0001$) además estos mismos pacientes mostraron un incremento del número de macroplaquetas en sangre periférica ($20,75 \pm 7,18\%$ $p < 0,01$) y persistencia en todos de anticuerpos antiplaquetarios, por lo que fueron considerados como ETC.

Estos hallazgos indican que el estudio de sobrevida plaquetaria y porcentaje de macroplaquetas en sangre periférica, pudiera utilizarse como criterio diagnóstico para diferenciar entre estados trombocitolíticos compensados y remisión verdadera de la PTA.

INTRODUCCION

La Púrpura Trombocitopénica Autoinmune es considerada como un síndrome⁽¹²⁾ caracterizado por sobrevida plaquetaria acortada debido a la presencia de anticuerpos contra antígenos de la superficie de la membrana plaquetaria⁽¹⁵⁾, lo cual resulta en una rápida desaparición de las plaquetas circulantes por la acción del macrófago del Sistema Reticulo-endotelial⁽¹⁴⁾. La PTA es generalmente un desorden autolimitante de buen pronóstico, en el cual alrededor de un 80% de los pacientes logran una remisión completa^(12, 13, 14), sin embargo, en algunos de estos pacientes supuestamente en remisión con contaje plaquetario normal, se observa aumento en el número de macroplaquetas en sangre periférica, persistencia de anticuerpos antiplaquetarios y defecto funcional plaquetario. Esta condición fué denominada por Karpatkin y col como Estado Trombocitolítico Compensado (ETC)⁽¹⁰⁾, para distinguirla de la remisión verdadera en la cual, el contaje, la morfología y la función plaquetaria son normales. La diferencia entre estos dos cuadros clínicos radica principalmente en la sobrevida plaquetaria, la cual es normal en los casos en remisión verdadera y acortada en los casos con ETC, en estos últimos el recambio plaquetario acelerado compensa la sobrevida acortada manteniendo un número normal de plaquetas circulantes.

El propósito del presente trabajo es estudiar aquellos pacientes con diagnóstico de PTA que estuvieren en remisión (contaje plaquetario normal por más de 6 meses después de omitir el tratamiento inmunosupresor o después de esplenectomía) y determinar el tiempo de regeneración plaquetaria mediante la inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria con aspirina (ASA), con el fin de distinguir aquellos casos en remisión verdadera, de los considerados como ETC; al mismo tiempo de evaluar la función plaquetaria y detectar presencia de anticuerpos antiplaquetarios.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes.

Se estudiaron 17 pacientes (3 de sexo masculino, 14 de sexo femenino) con diagnóstico de PTA en remisión (contaje plaquetario normal). Ninguno de los pacientes presentaban manifestaciones clínicas de hemorragia. La edad osciló entre los 5 y 85 años (6 niños y 11 adultos). Uno de los niños y 4 adultos habían sido esplenectomizados. Como controles se escogieron 17 sujetos normales voluntarios. A todos los individuos se les instruyó de abstenerse de cualquier tipo de medicación durante los 10 días previos al comienzo del estudio. El tiempo de regeneración plaquetaria fue determinado midiendo la producción de MDA plaquetario después de la ingestión de una sola dosis de aspirina (50 mg a los niños, 100 mg para los adultos). Las determinaciones fueron hechas diariamente usando el método de Stuart y col (17) empleando como agente inductor Araquidonato de Sodio 2 mM (1, 5). La media vida plaquetaria (T 1/2) o TRP, fue considerada como el tiempo que tardan las plaquetas en producir el 50% de MDA basal o previo a la inhibición por ASA.

Otras pruebas practicadas en todos los sujetos fueron: contaje plaquetario bajo microscopía de contraste de fase, tiempo de sangría según el método de Ivy modificado por Mielke (16), agregación plaquetaria utilizando como agentes inductores epinefrina, ADP y colágeno (6), frecuencia de macroplaquetas en sangre periférica venosa anticoagulada con EDTA. La medición se realizó con ocular micrométrico Zeiss KpL-W10 x/18 en 100 plaquetas consecutivas siguiendo un patrón zig-zag, (se consideraron como macroplaquetas aquellas que poseían un diámetro mayor de 3 micras). La detección de anticuerpos antiplaquetarios fué hecha en forma indirecta por el método histoquímico de inmunoperoxidasa (18). El análisis estadístico consistió en el cálculo de probabilidad (p) mediante la t de Student.

RESULTADOS

El contaje plaquetario osciló entre $152 \times 10^3/\text{ul}$ y $420 \times 10^3/\text{ul}$ en el grupo de pacientes y entre $215 \times 10^3/\text{ul}$ y $358 \times 10^3/\text{ul}$ en los controles. Los pacientes esplenectomizados mostraron un aumento del contaje plaquetario que no fué estadísticamente significativo.

Los niveles de MDA basal fueron similares en los pacientes y en los controles ($7,9 \pm 2,3$ y $7,3 \pm 2,5$ nM/ 10^9 plaquetas respectivamente). Tampoco se encontró diferencia significativa en el porcentaje de inhibición de

MDA 24 horas después de la administración de ASA entre los grupos de estudio ($82,0 \pm 7,2$ y $82,3 \pm 11,4$ respectivamente), ni con la relación a las dosis de ASA administradas.

El TRP (T 1/2) fué de $4,18 \pm 1,1$ días en los pacientes de y $4,8 \pm 1,0$ en los controles (Tabla I), sin embargo, 4 pacientes adultos (1 de sexo masculino, 3 de sexo femenino) mostraron un TRP acortado con una diferencia de más de dos desviaciones standar con respecto al grupo control (Tabla II). Estos pacientes con TRP acortado fueron catalogados como ETC y el resto de los pacientes como remisión verdadera.

TABLA I
TIEMPO DE REGENERACION PLAQUETARIA EN PACIENTES
CON PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOINMUNE. COMPARACION
CON CONTROLES NORMALES

Grupos	MDA basal nM/10 ⁹ plaquetas	% de inhibición de la producción de MDA 24 hrs después de ASA	Tiempo de regeneración plaquetaria T 1/2 (días)
Pacientes (17)	$7,9 \pm 2,3$	$82,0 \pm 7,2$	$4,18 \pm 1,1$
Controles (17)	$7,53 \pm 2,5$	$82,3 \pm 11,4$	$4,8 \pm 1,0$
P	NS	NS	NS

* Valores expresados como promedio \pm DS

() Número de casos.

El grupo con ETC reveló un incremento significativo en el porcentaje de macroplaquetas en sangre periférica ($p < 0.01$) y en todos ellos se demostraron anticuerpos antiplaquetarios circulantes. En el resto de los pacientes el porcentaje de macroplaquetas estuvo dentro de los límites normales y solo en un 23% se encontraron anticuerpos antiplaquetarios positivos (Tabla II).

La Tabla III muestra los valores comparativos en 11 pacientes adultos de la agregación plaquetaria antes y 96 horas después de la administración de ASA, del grupo en remisión verdadera y del grupo con ETC. Aunque no hubo diferencia significativa, este último grupo mostró una disminución en la agregación con ADP bajo condiciones basales y con todos los agentes inductores a las 96 horas después de ASA. Aunque no se muestra la agregación a las 24 horas, existe una disminución o desaparición de la 2a. onda de agregación, que luego se recupera a las 96 horas una vez superado el

TABLA II

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PACIENTES CON PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOINMUNE
EN REMISION VERDADERA Y ESTADOS TROMBOCITOLITICOS COMPENSADOS

Grupos	Tiempo de regeneración plaquetaria T 1/2 (días)	% Macroplaquetas	Presencia de anticuerpos antiplaquetarios %
Remisión verdadera (13)	4,61 ± 1,1	9,16 ± 6,28	23
Estados Trombocitólitos compensados (4)	2,55 ± 0,29***	20,75 ± 7,18**	100
Control (17)	4,8 ± 1,0	7,17 ± 3,81	0

() Número de casos

* Valores expresados como $\bar{X} \pm DS$

** p < 0.01 en relación con el grupo control y < 0.05 en relación con el grupo en remisión verdadera.

*** p < 0.0001 en relación con el grupo control y pacientes en remisión verdadera.

TABLA III

AGREGACION PLAQUETARIA ANTES Y 96 HORAS DESPUES DE ADMINISTRACION DE ASPIRINA (100 MG)
EN PACIENTES CON PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOINMUNE EN REMISION

Grupo	Epinefrina (3×10^{-9} M)		P	ADP (3×10^{-6} M)		P	Colágeno (6 ug/ml)	
	Basal %	Después de ASA %		Basal %	Después de ASA %		Basal	Después de ASA
Remisión verdadera (11)	90,7 ± 9,5	83,1 ± 9,7	NS	89,5 ± 9,4	75,9 ± 16,9	NS	79,6 ± 8,9	86,4 ± 10,4
Estados tromboci- tolíticos compensados (4)	80,3 ± 32,0	62,6 ± 13,5	NS	56,3 ± 17,0	55,2 ± 6,7	NS	75,9 ± 30,0	69,7 ± 8,3

() Número de casos

efecto ASA sobre la misma. En un paciente en remisión verdadera y otro con ETC se encontraron los tiempos de sangría alargado (9 minutos y 11 minutos respectivamente).

DISCUSION

El presente trabajo muestra que entre los pacientes con PTA en remisión existen algunos casos que aunque poseen contaje plaquetario normal, presentan un tiempo de regeneración plaquetario (TRP) acortado cuando se comparan con controles normales. Estos pacientes también presentan un elevado porcentaje de macroplaquetas y anticuerpos antiplaquetarios positivos, pudiendo ser clasificados de acuerdo con la descripción hecha por Karpatkin y col como estados trombocitolíticos compensados (10). Por otra parte aquellos pacientes con TRP normal, macroplaquetas en sangre periférica dentro de límites normales y baja frecuencia de anticuerpos antiplaquetarios con considerados con PTA en remisión verdadera. La agregación plaquetaria no mostró diferencias significativas entre los grupos, antes o 96 horas después de la administración de ASA.

Aunque existe controversia respecto al uso del efecto inhibitorio de ciclooxigenasa por la aspirina, como un método para medir sobrevida plaquetaria (2) existen trabajos que demuestran su reproductibilidad y resultados similares a los obtenidos cuando se usan métodos isotópicos (5), con las ventajas de un menor costo y de no necesitar de la manipulación de productos radioactivos.

Las bajas dosis de aspirina utilizadas en este trabajo permiten inhibir la síntesis de prostaglandinas plaquetarias sin ejercer mucha influencia en la generación de prostaglandinas por la pared vascular (4), así como tampoco afectan la vía del ácido araquidónico en las nuevas plaquetas (7). Estas dosis de ASA fueron sin embargo suficientes para inhibir la ciclooxigenasa de las plaquetas circulantes y permitir la determinación del T 1/2 de regeneración plaquetaria. El aumento de las macroplaquetas en sangre periférica, probablemente plaquetas jóvenes y activas (9), con contaje plaquetario normal, hallazgo este encontrado en algunos pacientes con PTA en remisión, sugiere un recambio plaquetario acelerado (8) y puede ser considerado como criterio menor para sospechar ETC. Es interesante notar que todos los pacientes catalogados como ETC fueron adultos, esta observación permite afirmar que los niños que alcanzan remisión clínica en PTA, su pronóstico es favorable al presentar remisiones verdaderas o curación.

La existencia de defecto funcional plaquetario en PTA en remisión ha sido previamente reportada, y es atribuida a la presencia de anticuerpos (3,

11) que posiblemente afectan la membrana plaquetaria causando pérdida parcial del contenido intraplaquetario (21); sin embargo, en 5 de los pacientes estudiados que presentaron anticuerpos antiplaquetarios positivos, no se evidenció defecto funcional plaquetario, lo que sugiere que posiblemente su concentración no fuese lo suficientemente alta como para provocar un defecto (20).

En conclusión, es posible establecer una diferencia diagnóstica entre PTA en remisión verdadera y aquellos casos sospechosos de ETC mediante la determinación del tiempo de regeneración plaquetaria. El TRP pudiera ser de utilidad en pacientes con PTA, que alcanzaron conteaje plaquetario normal pero que presenten manifestaciones hemorrágicas o se evidencie un TS alargado; en aquellos casos en remisión que posean una agregación anormal o que se evidencie en el frotis un número elevado de macroplaquetas o se demuestre persistencia de anticuerpos antiplaquetarios.

Este método posee las características de ser simple, no isotópico y de bajo costo. Un criterio menor para sospechar ETC puede ser el hallazgo de un incremento de macroplaquetas en sangre periférica.

La mayoría de los pacientes con PTA en remisión clínica presentan un funcionalismo plaquetario normal aún aquellos considerados como ETC los cuales aunque poseen una sobrevida plaquetaria acortada y persistencia de anticuerpos antiplaquetarios, mantienen un control eficaz de la Hemostasis.

Agradecimiento

Este trabajo fué financiado en parte por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) L.U.Z. y el CONICIT, Venezuela.

ABSTRACT

Autoimmune thrombocytopenic purpura. Distinction between true remission and compensated thrombocytopenic state by platelet regeneration time determination. Vizcaino G. (Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado Postal 1151, Maracaibo-Venezuela), Diez-Ewald M. *Invest Clín* 28(1): 35-45, 1987.— Platelet regeneration time (PRT) was determined in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP) that reached normal platelet counts after steroid therapy and/or splenectomy, in order to differentiate a true remission from compensated thrombocytopenic states (CTS). Seventeen

patients, who fulfilled diagnostic criteria for ATP, were compared with 17 healthy volunteers. Platelet malondialdehyde (MDA) production was initially measured in each subject and then serially after low doses of aspirin (ASA: 50-100 mg). PRT was determined as the length of time regulated for MDA to reach 50% of basal values. More than 80% inhibition of MDA production was observed in all subjects 24 hrs after ASA. A significant shortening in PRT was observed ($2,55 \pm 0,2$ days, $p < 0,0001$) in four patients in comparison with patients in true remission and controls. Those four patients, considered as CTS, also showed an increase in the percentage of megathrombocytes in peripheral blood smears ($20,75 \pm 7,18\%$ $p < 0,01$) and persistence of antiplatelet antibodies in serum, while antibodies were detected in only 23% of the patients in true remission. Bleeding time, platelet aggregation and recovery of platelet aggregation after ASA were normal or very moderately altered in all cases. The present findings suggest that the determination of PRT and the frequency of megathrombocytes in peripheral blood could be used as diagnostic criteria in differentiation of true remission from compensated thrombolytic states in ATP.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AROCHA F., DIEZ-EWALD M., DURANGO A.I., SULBARAN T.: Platelet activity in mitral valve prolapse: A study of platelet aggregation, Malondialdehyde production and plasma B-Thromboglobulin. *Am J Hematology* 19: 21-25, 1985.
- 2- BONEU A., SIE P., BUGAT R., CARANOBE C., EBER M., CAZENAVE J.P., BONEU B.: Platelet regeneration time after aspirin ingestion and platelet survival time after labeling with 51 chromium and 111 Indium oxine. A comparative study. *Thromb Haemost* 53: 260-263, 1985.
- 3- CLANCY R., FIRKIN B.: Qualitative platelet abnormalities in idiopathic thrombocytopenic purpura, *New Eng J Med* 286: 622-626, 1972.
- 4- DAVI G., CUSTRO N., NOVO S., MATTINA A., STRANO A.: The effect of two low doses of aspirin on whole blood thromboxane and prostacyclin generation in healthy subjects. *Thromb Haemost* 50: 669-670, 1983.
- 5- DE HAAS H.A., CLARK S.E., ZAHAVI J., KAKKAR V.V., WHITE A.M.: A modified non-radioisotope method for measurement of platelet production time, *Br J Haematol* 43: 137-141, 1979.
- 6- DIEZ-EWALD M., LIAN E.C., NUÑEZ R., DEYKIN R., HARKNESS D.R.: Circulating anticoagulant in a family with prolonged

- bleeding time and Factor VIII deficiency. *Blood* 49: 799-860, 1977.
- 7- DE MINNO G., SILVER M.J., MURPHY S.: Monitoring the entry of new platelets into the circulation after ingestion of aspirin. *Blood* 61: 1081-1085, 1983.
 - 8- GARG S., LACKNER H., KARPATKIN S.: The increase percentage of megathrombocytes in various clinical disorders. *Ann Intern Med* 77: 361-369, 1972.
 - 9- KARPATKIN S.: Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Semin. Hematol* 22: 260-288, 1985.
 - 10- KARPATKIN S., GARG S., SISKIND G.W.: Autoimmune thrombocytopenic purpura and the compensated thrombocytolytic state. *Am J Med* 51: 1-10, 1971.
 - 11- KARPATKIN S., LACKNER H.L.: Association antiplatelet antibody with functional platelet disorders. Autoimmune thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus and thrombopathia. *Am J Med* 59: 599-604, 1975.
 - 12- KOLLER C.A.: Immune Thrombocytopenic Purpura, *Med Clin N Amer* 64: 761-773, 1980.
 - 13- LEON M.: Púrpura Trombocitopénica Idiopática. *Historia Natural. Rev Fac Med LUZ.* 5: 106-116, 1972.
 - 14- McMILLAN R.: Chronic Idiopathic Thrombocytopenic purpura. *New Engl J Med* 304: 1135-1147, 1981.
 - 15- McMILLAN R.: Platelet autoantigens in chronic ITP. *Br J Haematol* 57: 1-4, 1984.
 - 16- MIELKE Ch, KAHESHIRO M.M., MAHER I.A., WEINESS J.M., RAPAPORT S.I.: The standardized normal Ivy bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood* 34: 204-215, 1969.
 - 17- STUART M.J., MURPHY S., OSKY F.A.: A simple non-radioisotope technique for the determination of platelet life-span. *New Eng J Med* 292: 1310-1313, 1975.
 - 18- TATE D.Y., SORENSON R.L., GERRARD J.M., WHITE J.G., KRIVIT W.: An immunoenzyme histochemical technique for the detection of platelet antibodies from serum of patients with idiopathic (autoimmune) thrombocytopenic purpura. *Br J Hematol* 37: 265-275, 1977.

- 19- TAKAYAMA H., OKUMA M., UCHINO H.: The recovery of platelet malondialdehyde production after a single intake of aspirin. The effect of dosage. *Thrombo Haemost* 48: 13-17, 1982.
 - 20- VIZCAINO G., DIEZ-EWALD M.: Autoimmune thrombocytopenic purpura. Comparison of three different methods for the detection of platelet antibodies. *Am J Hematol* 14: 279-283, 1983.
 - 21- WEISS H.J., ROSAUVE, M.H., LAGES B.A., KAPLAN K.: Acquired storage pool deficiency with increased platelet-associated IgG. *Am J Med* 69: 711-717, 1980.
-