

## AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA EM DIABÉTICOS INSULINODEPENDENTES

Maria Antonieta González

Serviço de Medicina 1. Hospital de Santa Maria. Lisboa. Portugal.

### RESUMO

Foi feito o estudo da agregação plaquetária com ADP em 14 doentes diabéticos do sexo masculino controlados com insulina e os resultados comparados com o padrão normal. Verificou-se que a principal característica da curva de agregação nestes doentes consiste numa dificuldade de desagregação, independente da velocidade ou amplitude da curva, traduzindo uma estabilidade do trombo plaquetário. Esta anomalia não estava relacionada com os níveis de glucose ou colesterol.

Na posse de meios que permitem manter o seu equilíbrio metabólico, o diabético de hoje aumentou notavelmente a sua longevidade, ainda que à custa de um pesado tributo — a vasculopatia. O prognóstico da diabetes depende, actualmente, da extensão das suas lesões vasculares e o melhor conhecimento da sua patogénese permitirá oferecer a estes doentes uma maior e melhor sobrevivência.

A explicação para a maior incidência de lesões vasculares e fenómenos trombóticos no diabético tem sido objecto de vários trabalhos de investigação visando quer os aspectos morfológicos e bioquímicos da parede dos vasos,<sup>1-3</sup> quer outras causas que possam determinar a formação do trombo, tais como dislipidémias<sup>4, 5</sup> ou o aumento dos níveis plasmáticos de factores de coagulação.<sup>6, 7</sup> Mais recentemente se tem chamado a atenção para o papel das plaquetas quer na génese das lesões vasculares, quer como *primum movens* na formação do trombo. Efectivamente, trabalhos prévios sobre a agregação plaquetária *in vitro*, têm demonstrado haver no diabético uma resposta plaquetária anormal a vários estímulos.<sup>9-11</sup>

Dada a controvérsia sobre os resultados publicados e a impossibilidade de comparação dos mesmos pela diversidade dos métodos usados e a heterogeneidade dos doentes incluídos, propusemo-nos fazer um estudo sobre um grupo seleccionado de doentes que pelas suas características permitissem uma comparação com o padrão normal já previamente obtido.<sup>12</sup>

### MATERIAL

Dadas as flutuações de valores dos parâmetros da curva de agregação plaquetária no sexo feminino em relação com a função ovárica, decidimos estudar apenas indivíduos do sexo masculino. Assim, incluímos neste trabalho 14 doentes do sexo masculino, todos controlados com insulina, com uma idade média ( $\pm$  SEM) de 36,6 (3,6) anos e tempo médio de duração da doença ( $\pm$  SEM) de 8,1 (2,0) anos.

Em todos os doentes foi colhido sangue para a determinação da glucose e colesterol simultaneamente com a colheita para a agregação plaquetária.

## MÉTODOS

O estudo da agregação plaquetária foi feito em plasma rico em plaquetas (PRP) obtido mediante centrifugação a 450 g de sangue venoso periférico citratado. Em cada uma das amostras deste plasma foi determinado o número de plaquetas pelo método de Brecker e Cronkite.<sup>12</sup>

A agregação foi medida fotometricamente com registo contínuo da transmissão luminosa, com o agregómetro EEL — Evans Electroselenium acoplado a um registador (Servoscribe — RE 511.20 Potentiometric Recorder) e respeitando as condições óptimas para a sua realização.<sup>13</sup>

O registador era calibrado de forma a que a transmissão luminosa de todas as amostras desse 10 % da deflexão total da escala.

Como substância agregante utilizou-se o adenosino, 5, difosfato (ADP) da Sigma Chemical Company, na concentração final de 1,1  $\mu$ M.

Antes de adicionar a substância agregante fazia-se o registo da transmissão luminosa durante um minuto apenas com a agitação do plasma, com o fim de excluir a existência de autoagregação.

O registo da curva foi feito durante 15 minutos após a adição do ADP, sendo a velocidade do papel de 1 cm por minuto.

Os parâmetros analisados na curva foram: velocidade de agregação no primeiro minuto ( $V_{A\ 1^{\circ}\ min}$ ), amplitude máxima ( $A_{max}$ ), tempo de duração da agregação máxima ( $T_{max\ A}$ ) e percentagem de desagregação (% D). Este último parâmetro foi determinado pela fórmula  $D / A_{max} \times 100$  em que D é a amplitude da desagregação ao fim de 15 minutos.

A glicemia e a colesterolemia foram determinados no Autoanalyser.

Os resultados foram comparados com o padrão normal e estatisticamente analisados mediante a determinação da média (M) e erro padrão (SEM). O nível de significância foi determinado pelo teste de Student.

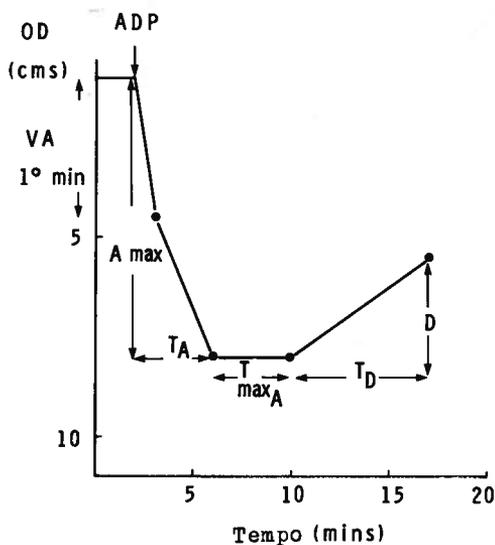


Fig. 1 — Representação esquemática de uma curva de agregação plaquetária (OD — transmissão luminosa).

## RESULTADOS

Analisámos em primeiro lugar os valores das contagens de plaquetas, tendo-se verificado haver uma pequena flutuação dos mesmos nos vários plasmas estudados. A transmissão luminosa através de um plasma é proporcional ao número de plaquetas,<sup>14</sup> todavia pequenas variações não interferem nos resultados<sup>15</sup> pelo que a população estatística dos nossos dados foi considerada homogênea sob este aspecto.

Os resultados dos vários parâmetros da curva de agregação plaquetária dos diabéticos estudados bem como os valores normais para indivíduos do sexo masculino, estão expressos no Quadro 1.

Quadro 1

*Resultados da agregação plaquetária em indivíduos normais e diabéticos controlados com insulina (M ± SEM)*

	V <sub>A 1,0 min</sub>	A <sub>max</sub>	T <sub>max A</sub>	% D
Normais (n = 20)	2.32 ± .28	6.32 ± .86	1.34 ± .23	61.5 ± 9.9
Diabéticos (n = 14)	2.18 ± .37	5.62 ± .88	3.84 ± 1.12	30.56 ± 10.77

Comparando os resultados dos doentes diabéticos com os dos indivíduos normais verifica-se que não há diferença significativa quer na velocidade inicial de agregação, quer na amplitude máxima da curva de agregação. Em contrapartida, a duração da agregação (T<sub>A</sub>) e a percentagem de desagregação (% D) são significativamente menores nos diabéticos (Quadro 3), traduzindo uma dificuldade de desagregação, exprimindo assim uma maior estabilidade do trombo plaquetário.

Quadro 2

*Comparação entre a agregação obtida em indivíduos normais e diabéticos insulino-dependentes (N/S — não significativo)*

	t	p
V <sub>A 1,0 min</sub>	+ .302	N/S
A <sub>max</sub>	+ .102	N/S
T <sub>max A</sub>	- 2.545	.02
% D	+ 2.552	.02

Os valores médios da glucose e colesterol no sangue deste grupo de doentes foram respectivamente 175 ± 11.4 mg / 100 ml e 235.2 ± 11.1 mg / 100 ml.

Para cada doente foi feita a correlação entre estes valores e T<sub>max A</sub> e % D, não se tendo encontrado correlação estatisticamente significativa.

## DISCUSSÃO

Tem havido nos últimos anos um interesse cada vez maior no estudo da resposta plaquetária aos estímulos agregantes na diabetes, numa tentativa de estabelecer uma interdependência entre a hiperagregabilidade e a tendência *trombótica* destes doentes. Efectivamente, há vários trabalhos publicados em que se refere a existência de um comportamento anormal das plaquetas na diabetes<sup>7, 16-18</sup> mas a natureza exacta desta anomalia e a sua relação com a doença em si ou com as suas complicações mantem-se obscura.

A maior parte dos trabalhos publicados dizem respeito exclusivamente à fase inicial da agregação ou à amplitude máxima da curva. São em regra utilizadas concentrações elevadas de ADP, o que permite obter curvas amplas, com respostas máximas mas pouco discriminativas. No nosso trabalho procurámos fundamentalmente estudar o comportamento das plaquetas frente a solutos fracos e visando não só a fase inicial da agregação como também a desagregação, tendo verificado que é precisamente esta última que apresenta diferenças significativas entre os diabéticos e os indivíduos normais. Assim, encontra-se um aumento da  $T_D$  e redução da  $\% D$ , exprimindo uma dificuldade de desagregação do trombo plaquetário, uma vez formado. Sabemos que a desagregação está em parte dependente da velocidade com que se formou o agregado, bem como da amplitude máxima da curva, ou seja do número de plaquetas que aderiram ao trombo. Todavia, no nosso trabalho esta maior estabilidade do trombo plaquetário não é o resultado directo do aumento de amplitude ou da velocidade, porquanto estes valores são basicamente idênticos aos da população normal. Daqui se conclui que nestes doentes há um comportamento anormal das plaquetas que se traduz por dificuldade na desagregação. Esta anomalia que poderá depender de um defeito plaquetário ou ser secundária a uma alteração do meio plasmático, não está nos nossos doentes em relação com os níveis de glucose ou colesterol.

Quaisquer que sejam as considerações que se possam tecer sobre as possíveis causas da alteração da agregação plaquetária na diabetes, há que ter em conta que esta situação não é apenas um desequilíbrio metabólico resultante de uma deficiência de insulina. Para além das anomalias plasmáticas secundárias ao hipoinsulinismo e que de forma directa ou indirecta podem influenciar a resposta plaquetária anormal, há que ter em conta a possível interferência de outros factores, nomeadamente, o glucagon e a hormona do crescimento, que poderão condicionar o perfil da resposta das plaquetas aos estímulos.

## SUMMARY

*PLATELET AGGREGATION IN INSULIN-DEPENDENT DIABETICS*

Platelet aggregation with ADP has been studied in 14 diabetic patients under insulin control and their results compared with normal donors. Diabetic platelet aggregates were found to be more stable than normal ones with difficulty in disaggregation and no difference in the initial part of the curve. This was unrelated to glucose or cholesterol levels.

## BIBLIOGRAFIA

1. REGNAULT F, KERN P, LAURENT M: Dynamic studies of collagen and structural glycoproteins of connective tissues in the course of diabetes. Correlation with basement membrane modifications in capillaries. *Exp Eye Res* 1973; 17: 399.

2. ROMANI JD: Une approche semi-quantitative de la microangiopathie diabétique. Études des relations entre la durée du diabète et l'intensité de la microangiopathie. *Nouv Press Méd* 1973; 2: 3037.
3. BOUISSOU H, PIERAGGI MT, JULIAN M, BUSCAIL I, DENARD Y, DARNAUD J: Explication par l'atteinte du tissu conjonctif de la micro et la macro-angiopathie du diabète — *Nouv Press Med* 1974; 3: 259.
4. ALBRINK MJ, MEIGS JW, GRANOFF MA: Weight gain and serum triglycerides in normal men. *N Eng J Med* 1962; 266: 484.
5. PERRETT AD, ROWE AS, SHAHMANESH M, ALLISON SP, HARTOG M: Blood lipids in treated diabetics. *Diabetologia* 1974; 10: 115.
6. EGBERG O: The blood coagulability in diabetic patients. *Scand J Clin Lab Inv* 1963; 15: 533.
7. MAYNE EE, BRIDGES JM, WEAVER JA: Platelet adhesiveness, plasma fibrinogen and factor VIII in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1970; 6: 436.
8. BORN GVR, CROSS MJ: The aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1963; 1668: 178.
9. KWAAN HC, COLWELL JA, CRUS S, SUWANWELA N, DOBBIE JG: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1971; 50: 579.
10. DAVIS JW, YUE K, PHILIPS PE, McFIELD JR: Adenosinediphosphate induced platelet aggregation of hospitalized men. *Scand J Haemat* 1974; 13: 17.
11. PASSA P, BENSOUSSAN D, LEVY-TOLEDANO S, CREN J, CANIVET J: Étude de l'aggregation plaquettaire au cours de la retinopathie diabétique. *Atherosclerosis* 1974; 19: 227.
12. BRECKER G, CRONKITE EP: Morphology and enumeration of human blood platelets. *J Appl Physiol* 1950; 3: 3665.
13. GONZALEZ MA: Platelet aggregation in endocrine diseases. M. Sc. Thesis — Oxford 1975.
14. GONZALEZ MA: Estudo quantitativo da agregação plaquetária em indivíduos normais. *O Médico* 1980; 96: 422.
15. HOLDRINET A, EWALS M, REICHTER WJ, HAANEN C: Mathematical correlation between induced aggregation and subsequent disaggregation. A parameter for velocity of disaggregation. *Scand J Haemat* 1969; 6: 354.
16. SHAW S, PEGRUM GD, WOLF S, ASHTON WL: Platelet adhesiveness in diabetes mellitus. *J Clin Path* 1967; 20: 845.
17. HELLEM AJ: Adenosinediphosphate induced adhesiveness in diabetes mellitus with complications. *Acta Med Scand* 1971; 190: 291.
18. FERGUNSON JC, McKAY M, PHILIP JAD, SUMER DJ: Platelet and fibrinogen kinetic curves in diabetes mellitus. *Brit J Haemat* 1973; 25: 545.

Pedido de Separatas: *Maria Antonieta González*  
*Serviço de Medicina 1.*  
*Hospital de Santa Maria*  
*1600 Lisboa. Portugal.*