

Estudio de la hemostasia primaria en un grupo de enfermos con insuficiencia renal crónica terminal en programa de hemodiálisis periódica

Ll. Font,* A. Jardí,** P. Angelet,*** V. Pérez,*** P. Miret *

Resumen

Se realiza un estudio de diversos parámetros de la hemostasia primaria, bioquímicos y hematológicos, en un grupo de 24 enfermos con insuficiencia renal crónica terminal en programa de hemodiálisis, con el fin de averiguar si se podía establecer algún tipo de correlación.

Constatamos un alargamiento del tiempo de sangría en 17 de los 24 enfermos. Una de las causas de dicha prolongación podría estar relacionada con una mayor concentración de urea plasmática, encontrando en nuestros enfermos un grado de significación ($p < 0,002$) al comparar ambos parámetros.

Las plaquetas de estos enfermos presentan hipoagregabilidad, en relación a las plaquetas normales, frente al colágeno ($2 \mu\text{g/ml}$) ($p < 0,001$) y frente al ADP ($3 \mu\text{M}$) ($p < 0,001$).

La agregación de las plaquetas de dichos enfermos frente al colágeno y al ADP está relacionada ($r = 0,71$; $p < 0,001$), como si la causa de estas alteraciones lesionara con similar intensidad la capacidad de reacción de las plaquetas frente a estos dos agentes.

Ante los valores hallados, deducimos que, aunque se haya escrito que la hemodiálisis corrige la disfunción plaquetaria en la uremia, en nuestros enfermos esto parece no confirmarse.

Study of primary hemostasia in a group of patients with terminal chronic renal failure on a programme of periodical hemodialysis

A study of diverse biochemical and hematological parameters of primary hemostasia is carried out on a group of 24 patients with terminal chronic renal failure on a programme of hemodialysis, for the purpose of ascertaining if any type of correlation could be established.

We confirmed a lengthening of the time of bleeding in 17 of the 24 patients. One of the causes of said prolongation could be related to a greater concentration of plasma-

tic urea, finding in our patients a significant difference ($p < 0.002$) on checking both parameters.

The platelets of these patients show hypoaggregativity, in relation to the normal platelets, as contrasted with collagen ($2 \mu\text{g/ml}$) ($p < 0.001$) and to the ADP ($3 \mu\text{M}$) ($p < 0.001$).

The aggregation of the platelets of said patients as contrasted with collagen and to the ADP is related ($r = 0.71$; $p < 0.001$), as though the cause of these irregularities injured the capacity of reaction of the platelets with similar intensity against these two agents.

In view of the values found, we deduce that, although it has been written that hemodialysis corrects platelet dysfunction in the uremia, in our patients this does not seem to be confirmed.

Introducción

Los pacientes urémicos tienen una cierta predisposición a presentar accidentes hemorrágicos. En estos enfermos se han descrito diversas alteraciones de la hemostasia que podrían explicar este fenómeno, siendo las más características el aumento del tiempo de sangría (8) y algunas alteraciones en el funcionalismo de las plaquetas, tales como una disminución de la adhesividad a las bolas de vidrio (5), hipoagregabilidad frente a la acción de distintos agentes agregantes (2, 15), disminución de la disponibilidad de factor 3 plaquetar (10) y descenso de los niveles de AMP cíclico intraplaquetar (20). Este conjunto de alteraciones ha dado origen al concepto de trombopatía urémica, a la cual se supone responsable de la tendencia hemorrágica de estos enfermos. Estas alteraciones podrían ser, en parte, atribuibles al acúmulo de ciertos metabolitos que se produce en el plasma de los pacientes urémicos, como la urea, el ácido guanidinsuccínico (6) y los compuestos fenólicos (11). Con la introducción de la hemodiálisis periódica

* Servicio de Hematología y ** Servicio de Análisis clínicos, Residencia «Verge de la Cinta». *** Servicio de Nefrología, Hospital de la Santa Cruz. Tortosa (Tarragona).

cabría esperar una corrección total o parcial de las alteraciones de la hemostasia, al producirse la eliminación o normalización de los metabolitos supuestamente responsables de tales trastornos.

El factor V. Willebrand es una fracción del factor VIII necesaria para la adhesión de las plaquetas a las estructuras subendoteliales (19). Se ha descrito una disminución de este factor en el plasma de los pacientes urémicos (7), aunque posteriormente este hallazgo no ha sido confirmado (13).

Durante los últimos años se ha descrito en estos pacientes una alteración del metabolismo de las prostaglandinas a nivel plaquetario y vascular, produciéndose un aumento de los agentes antiagregantes (prostaciclina) y una disminución de los agentes agregantes (tromboxano) (1, 12, 14).

En el presente trabajo, se han estudiado diversos aspectos de la hemostasia primaria (tiempo de sangría, número de plaquetas y agregación «in vitro»), bioquímicos (urea, creatinina, sodio, potasio, calcio y colesterol) y hematológicos (hemoglobina, hematocrito) en un grupo de enfermos urémicos sometidos a hemodiálisis periódica, con el fin de averiguar si existía alguna relación significativa entre los diferentes parámetros examinados.

Material y métodos

Se ha estudiado un grupo de 24 enfermos con insuficiencia renal crónica terminal en programa de hemodiálisis. Ninguno de los pacientes había recibido medicamentos con acción antiagregante, durante los 10 días anteriores al de realizarse el estudio. La recogida de las muestras se efectuó inmediatamente antes de la diálisis.

Los controles para el estudio de la agregación plaquetar se efectuaron con sangre procedente de 13 voluntarios sanos, que no se encontraban en tratamiento con medicación antiagregante durante los 10 días previos al estudio.

Estudio de la agregación plaquetar

Se ha efectuado con sangre venosa citratada (3,8 %; 9:1). El plasma rico en plaquetas (P.R.P.) se obtuvo centrifugando a 1.000 r.p.m. durante 10 min. El plasma pobre en plaquetas (P.P.P.), mediante centrifugación a 3.000 r.p.m. durante 20 min.

El estudio de la agregación plaquetar se ha efectuado en un agregómetro óptico (Aggreg-pack™, Kagaku Co Ltd.). En una cubeta siliconada se han añadido 500 µl de P.R.P. y 50 µl del

agente inductor. La diferencia de transmisión óptica se ha registrado automáticamente durante 5 min. a partir de la adición del agente inductor, correspondiendo el 100 % de transmisión a la del P.P.P. y el 0 % de transmisión a la del P.R.P. El parámetro utilizado para el análisis de los resultados ha sido el porcentaje máximo de agregación. Como agentes inductores, se han utilizado ADP (1,0 µM y 3,0 µM), adrenalina (3 µg/ml) y colágeno (0,5 µg/ml y 2,0 µg/ml). Las concentraciones referidas son las finales.

El estudio de las muestras se ha efectuado en un plazo inferior a 4 horas de la extracción.

Tiempo de sangría

Previamente a la obtención de las muestras venosas, se ha efectuado un tiempo de Ivy modificado (Simplate bleeding time).

Hemograma

El número de plaquetas, el valor hematocrito, la concentración de hemoglobina y los diferentes parámetros eritrocitarios fueron obtenidos mediante un contador automático CC-800.

Bioquímica

Diversos parámetros bioquímicos se realizaron en un autoanalizador centrífugo «Gemini», utilizando técnicas enzimáticas (uv) (glucosa, urea, colesterol, triglicéridos), técnicas colorimétricas (creatinina, calcio). La determinación de iones sodio y potasio se realizó en un analizador de electrodos selectivos.

Estudio estadístico

La significación estadística se estudió aplicando el coeficiente de correlación lineal de Pearson y el coeficiente de correlación ordinal de Spearman. Ambos, evalúan el grado de relación lineal entre dos variables cuantitativas. La ley de Student-Fisher se aplicó en la prueba de comparación de dos medias en muestras pequeñas con datos independientes.

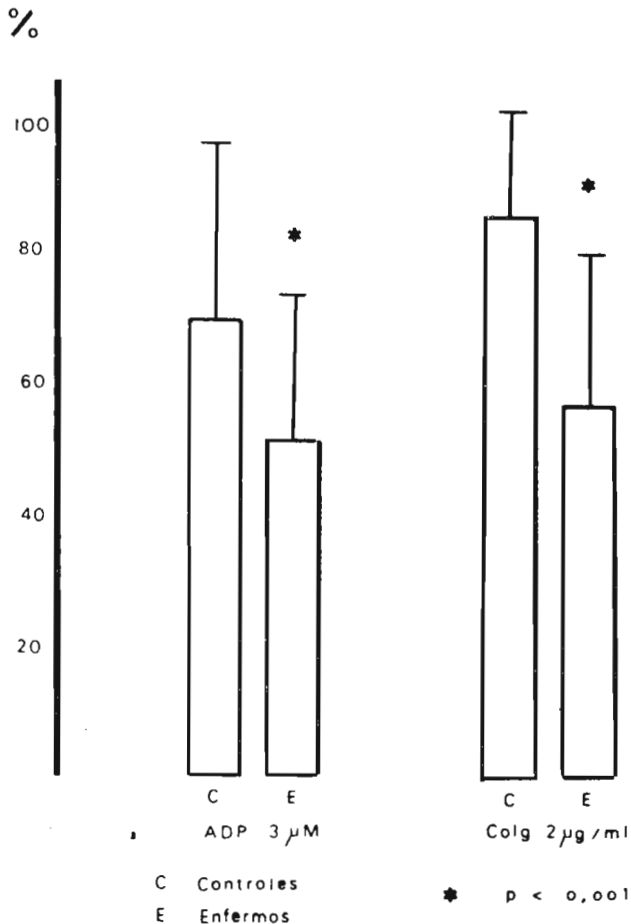
Resultados

De los 24 enfermos estudiados, 17 han presentado un tiempo de sangría mayor de 9 min. (cuadro I), que es el límite superior de la normalidad con el método utilizado.

CUADRO I

Valores de diferentes parámetros examinados en 24 enfermos urémicos

Pac.	Edad	T. sangría	Plaquetas × 10 ⁹ /l	ADP 3 μM	Adrenalina 3 μg/ml		mg/100 ml		mEq/l		Hemo- globina g/dl	Hemato- crito %
					% agre- gación	Colágeno 2 μg/ml	Urea	Creatinina	Sodio	Potasio		
J. L.	55	10'	225	58	63	43	156	11	144	7	8,2	27
R. D.	59	35'	129	39	10	41	244	9,6	146	4,8	5,8	18
S. P.	50	13'	265	36	53	39	169	14,4	138	6,1	8,2	24,5
F. M.	63	15'	314	49	—	56	179	9,5	135	6,1	5,5	17
B. A.	43	6'30"	121	40	42	51	208	15,2	143	5,7	8	23,5
F. R.	40	35'	124	30	—	12	220	15,6	141	5,6	5,6	21,6
J. B.	28	35'	177	49	—	35	232	17,8	139	5,5	4,3	15,6
J. Z.	34	16'30"	193	21	16	18	210	15,4	146	7,6	—	20,1
M. C.	45	22'	181	26	25	59	246	14,9	148	6,8	—	12,7
J. P.	53	6'10"	369	75	84	81	164	13	140	6,1	—	24,6
J. P.	62	23	241	56	37	73	124	12,3	142	6,3	—	17,9
R. R.	36	35	102	83	64	38	268	14,7	142	7,7	10,8	28,6
J. A.	32	7'25"	169	45	30	79	226	14,4	141	6,5	13,9	39,3
F. N.	59	11'45"	237	77	85	85	286	11,4	142	5,4	6,4	20,3
J. T.	56	35'	222	88	84	85	246	12,4	144	5,7	8,8	28,4
J. P.	64	6'30"	148	41	58	68	210	14,4	145	7,2	8,8	31,2
A. I.	27	7'50"	136	22	15	49	200	12,1	—	—	7	21,4
J. A.	61	7'	99	52	18	68	206	14,6	—	—	11,5	35,7
R. F.	52	35'	168	17	26	29	268	14,7	137	5,3	10	31
R. M.	59	35'	219	72	76	71	174	11,6	—	—	6,2	19,7
J. L.	44	35'	158	45	31	42	270	14,3	—	—	4,7	15,6
M. P.	63	12'	168	36	39	38	200	7,5	—	—	7,1	22,1
J. S.	70	7'	314	85	83	88	125	9,9	147	4,6	8,2	24,8
J. F.	37	15'30"	209	91	83	95	99	9,9	145	4,9	9,8	30,1



Se ha encontrado una relación significativa ($r_s = 0,954$; $p < 0,002$) entre el tiempo de sangría y la concentración de urea.

No se ha encontrado ningún grado de relación entre el tiempo de sangría y los siguientes parámetros: hematocrito, concentración de creatinina y número de plaquetas en sangre total.

Las plaquetas de los enfermos urémicos presentan una significativa hipoagregabilidad, en relación a las plaquetas normales, frente al colágeno (2 μg/ml) ($p < 0,001$) y frente al ADP (3 μM) ($p < 0,001$) (fig. 1).

Esta hipoagregabilidad no se demuestra cuando se utiliza adrenalina como agente inductor, ni tampoco frente a las menores concentraciones de colágeno (0,5 μg/ml) y de ADP (1 μM).

Se ha demostrado una relación significativa ($r = 0,71$; $p < 0,001$) entre la intensidad de agregación de las plaquetas de los enfermos urémicos frente al colágeno (2 μg/ml) y al ADP (3 μM) (fig. 2).

Fig. 1. Valores medios de la intensidad máxima de agregación frente al ADP (3 μM) y al colágeno (2 μg/ml) de las plaquetas de 24 enfermos urémicos (E) y 13 voluntarios sanos (C).

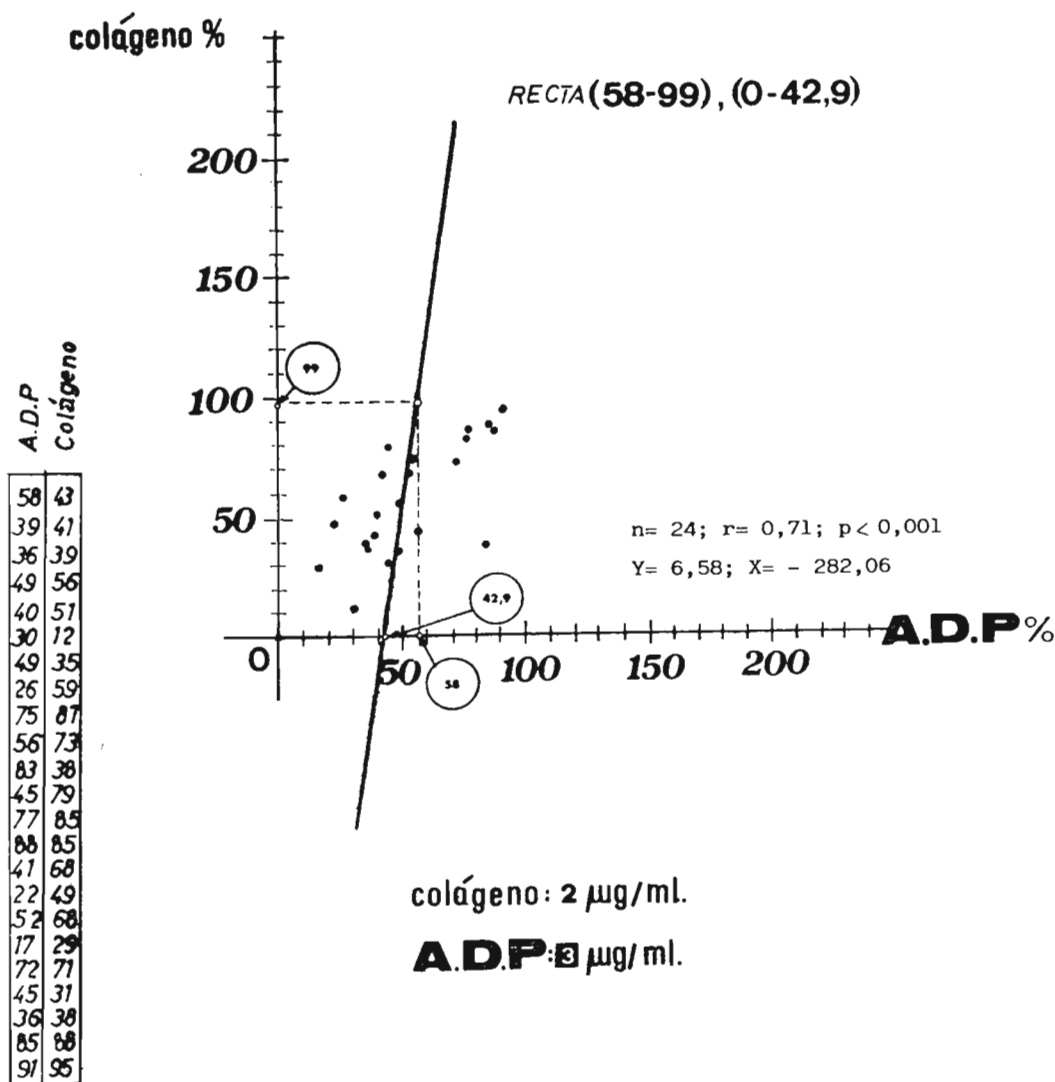


Fig. 2. Relación entre la intensidad máxima de agregación frente al ADP (3 µM) y al colágeno (2 µg/ml) de las plaquetas de 24 enfermos urémicos.

Discusión

Nuestro grupo de pacientes presenta algunas de las alteraciones hemostáticas descritas en los enfermos urémicos. En 17 de los 24 enfermos estudiados, encontramos una prolongación del tiempo de sangría. El alargamiento del tiempo de sangría se ha descrito en presencia de alteraciones cuantitativas y cualitativas de las plaquetas, en la enfermedad de V. Willebrand y en los pacientes con hematocrito bajo. En nuestro estudio, el tiempo de sangría no presenta relación significativa con el número de plaquetas, ni con la intensidad de agregación plaquetar frente a los agentes utilizados. A pesar de que en un grupo de enfermos urémicos se ha descrito una relación inversa entre tiempo de sangría y hematocrito (4), en nuestro estudio no ha sido confirmado.

Sí hemos encontrado una relación significativa entre el tiempo de sangría y el nivel de urea plasmática, la cual ya había sido descrita (17), aunque no confirmada por otros autores (2). La urea tiene una acción tóxica sobre las plaquetas «in vitro», disminuyendo su agregabilidad (3). No obstante, no parece ser a través de este mecanismo por el cual la uremia prolonga el tiempo de sangría, ya que no hemos encontrado ninguna relación significativa entre la intensidad de la agregación plaquetar frente a los agentes utilizados y el tiempo de sangría.

Las plaquetas de los enfermos estudiados presentan una significativa hipoagregabilidad frente al ADP ($p < 0,001$) y al colágeno ($p < 0,001$), al compararlos con las plaquetas de voluntarios sanos. Los mecanismos mediante los cuales el ADP y el colágeno inducen la agregación plaquetar no se conocen por completo. Cuando las pla-

quetas entran en contacto con el colágeno, se establecen una serie de uniones entre las fibras de colágeno y la membrana plaquetar. Este conjunto de uniones da la señal desencadenante de la agregación (16). El ADP también se une a unos receptores específicos de membrana. Esta unión da lugar a un cambio de forma de la plaqueta, produciéndose la exposición de unos receptores para el fibrinógeno; en presencia de esta sustancia y de cationes divalentes se produce la agregación plaquetar (9). La intensidad de agregación frente al ADP y al colágeno de las plaquetas de los enfermos estudiados en nuestro trabajo se encuentran relacionados, como si el factor o factores responsables de estas alteraciones lesionaran con similar intensidad la capacidad de reacción de las plaquetas frente a estos dos agentes.

Se ha descrito que la hemodiálisis corrige parcialmente la disfunción plaquetaria en la uremia (2, 5, 18). En nuestros enfermos, esto no parece confirmarse, aunque es posible que si el estudio se hubiese efectuado en el período inmediatamente posterior a la diálisis, las alteraciones encontradas hubieran sido menos intensas.

En conclusión, la causa de las alteraciones hemostáticas que se encuentran en los enfermos urémicos no se conoce y tal vez sea multifactorial. Aunque en nuestro estudio hemos encontrado una relación entre el tiempo de sangría y el nivel de urea plasmática, sería aventurado deducir una relación de causa y efecto. Podría ser que el tóxico (o tóxicos) responsable de estas alteraciones estuviera a su vez relacionado con el nivel de urea y el catabolismo proteico. En cuanto a la hipoagregabilidad frente al ADP y al colágeno podría especularse con que las lesiones se hubieran producido a nivel de receptores de membrana. Tal vez un estudio bioquímico de la membrana de las plaquetas de estos enfermos, podría contribuir a mejorar el conocimiento de la etiopatogenia de estos trastornos.

Bibliografía

1. Carreras, L. O.; Chamone, D. A. F.; Vermylen, J.: Niveles elevados de prostaciclina circulante en pacientes con insuficiencia renal crónica. *Sangre*, 26: 427, 1981.
2. Castaldi, P. A.; Rozenberg, M. C.; Stewart, J. H.: The bleeding disorder in uraemia. *Lancet* ii, 66, 1966.
3. Davis, J. W.; Mc Field, J. R.; Philips, P. E.; Graham, B. A.: Guanidinosuccinic acid on human platelet. Effects of exogenous urea, creatinine and aggregation in vitro. *Blood*, 39: 388, 1972.
4. Donati, M. B.: The laboratory diagnosis of acquired defects of hemostasis. *Blood Coagulation and Haemostasis*, págs. 158-195. Livingstone, Ch. Ed. J. M. Tromson. Edimburgh, London and New York, 1980.
5. Eknayan, G.; Wacksman, S. J.; Glueck, H. I.; Will, J. J.: Platelet function in renal failure. *N. Eng. J. Med.*, 280: 677, 1969.
6. Horowitz, H. I.; Stein, J. M.; Cohen, B. C.; White, J. G.: Further studies on the platelet inhibitory effect of guanidinosuccinic acid and its role in uremic bleeding. *Am. J. Med.*, 49: 336, 1970.
7. Kazathkine, M.; Sultan, Y.; Caen, J. P.; Bariety, J.: Bleeding in renal failure: a posible cause. *Br. Med. J.*, 2: 612, 1976.
8. Kendall, A. G.; Lowenstein, L.; Morgan, R. O.: The hemorrhagic diathesis in renal disease (with special reference to acute uremia). *Can. Med. Assoc. J.*, 85: 405, 1961.
9. Marguerie, G. A.; Edgington, T. A.; Plow, E. F.: Interaction of fibrinogen with its platelet receptor as part of a multistep reaction in ADP-induced platelet aggregation. *J. Biol. Chem.* 255: 154, 1980.
10. Rabiner, S. F.; Hrodek, O.: Platelet factor 3 in normal subjects and patients with renal failure. *J. Clin. Invest.*, 47: 901, 1968.
11. Rabiner, S. F.; Molinas, F.: The role of phenol and phenolic acids on the thrombocytopeny and defective platelet aggregation of patients with renal failure. *Am. J. Med.*, 49: 346, 1970.
12. Remuzzi, G.; Livio, M.; Cavenaghi, A. E.; Marchesi, D.; Mecca, G.; Doanati, M. B.; de Gaetano, G.: Unbalanced prostaglandin synthesis and plasma factors in uremic bleeding: a hypothesis. *Tromb. Res.*, 13: 531, 1978.
13. Remuzzi, G.; Livio, M.; Roncaglioni, M. C.; Mecca, G.; Donati, M. B.; de Gaetano, G.: Bleeding in renal failure. Is Von Willebrand factor implicated? *Br. Med. J.*, 2: 359, 1977.
14. Remuzzi, G.; Marchesi, D.; Livio, M.; Cavenaghi, A. E.; Mecca, G.; Donati, M. B.; de Gaetano, G.: Altered platelet and vascular prostaglandin generation in patients with renal failure and prolonged bleeding time. *Thromb. Res.*, 13: 1.007, 1980.
15. Sánchez Casajús, A.; Lasierra, J.; Villader, E.: Agregación plaquetar en la insuficiencia renal crónica. *Rev. Clín. Esp.*, 153: 137, 1979.
16. Santoro, S. A.; Cunningham, L. W.: Collagen-mediated platelet aggregation. Evidence for multivalent interactions of intermediate specificity between collagen and platelets. *J. Clin. Invest.*, 60: 1.054, 1977.
17. Steiner, R. W.; Coggins, C.; Carvalho, A.C.A.: Bleeding time in uremia. A useful test to assess clinical bleeding. *Am. J. Hem.*, 7: 107, 1979.
18. Stewart, J. H.; Castaldi, P. A.: Uraemic bleeding. A reversible platelet defect corrected by dialysis. *Quart. J. Med.*, 36: 409, 1967.
19. Tschopp, T. B.; Weiss, H. J.; Baumgartner, H. R.: Decreased adhesion of platelets to subendothelium in Von Willebrand's disease. *J. Lab. Clin. Med.*, 83: 296, 1974.
20. Vlachoyannis, J.; Hedtler, H.; Schoppe, W.: Adenylate cyclase activity and cAMP content of human platelets in uremia. *Kidney Int.*, 13: 532, 1978.