

AVALIAÇÃO DA AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA EM PACIENTES DIABÉTICOS EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM BELÉM-PA1

EVALUATION OF PLATELETS AGGREGATION IN DIABETIC PATIENTS IN A CLINICAL ANALYSIS LABORATORY IN BELÉM- PA

Caroline Souza dos ANJOS² e Aritana Ferreira Santos BARBOSA³

RESUMO

Objetivo: Analisar o perfil de agregação plaquetária em pacientes diabéticos, correlacionando os resultados obtidos com as medicações utilizadas, idade, gênero e comorbidades. **Método:** estudo observacional e retrospectivo de casos, com a coleta do resultado da curva de agregação plaquetária de 544 pacientes diabéticos. Os dados foram extraídos de prontuários virtuais no período de Julho 2007 a Julho de 2008. A inferência estatística foi analisada através do teste qui-quadrado. **Resultados:** Entre os pacientes diabéticos usuários de drogas antiagregantes e/ou anticoagulantes, observou-se quanto à curva: 40,6% intensamente hipoagregante; 55,81% Hipoagregante e 46,5% normoagregante. No grupo de pacientes não usuários 60,9% foi hipoagregante, 26,2% intensamente hipoagregante, 8,5% normoagregante e 4,4% hiperagregante. Verificou-se significância estatística ($p=0,0093$) entre o uso das medicações citadas e a intensidade da hipoagregação da população estudada. **Conclusões:** Baseado em evidências clínicas, as drogas antiagregantes e /ou anticoagulantes devem ser utilizadas como tratamento profilático primário e secundário pelos pacientes diabéticos. Uma vez que, esta é uma população de risco para eventos cardiovasculares. Alerta-se ainda para a necessidade de condução de trabalhos científicos visando elucidar os reais mecanismos da hiperreatividade plaquetária dos diabéticos.

DESCRITORES: Diabetes mellitus, agregação plaquetária, drogas hipoagregantes.

INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica de etiologia diversa, decorrente da produção deficiente ou ausente de insulina e/ ou de alterações da ação deste hormônio nos tecidos periféricos.^{2,10,3}

A doença afeta mais de 5% da população mundial. No Brasil, acomete cerca de 8 a 10 milhões pessoas.

Cerca de 80% dos pacientes diabéticos morrem em consequência de complicações trombóticas relacionadas a eventos cardiovasculares, a distúrbios vasculares periféricos e cerebrovasculares.^{9,2}

Inúmeros distúrbios hemostáticos são encontrados

em pacientes com diabetes mellitus. Alguns estudos realizados acerca das plaquetas verificaram sua associação às complicações macro e micro vasculares constatadas na maioria dos pacientes diabéticos. Nesse sentido, três linhas principais de investigação são desenvolvidas como estudos de agregação plaquetária e de glicoproteínas de membrana, alterações bioquímicas e atividade procoagulante.^{1,7}

A agregação plaquetária analisa a função das plaquetas sob diversas vias de ativação *in vitro*, resultando em traçados de ondas equivalentes a essa agregação. A agregação ocorre devido a formação de

¹ Trabalho realizado em Laboratório particular de Análises Clínicas em Belém-PA.

² Médica Graduada pela Universidade Federal do Pará. Residente de Cancerologia Clínica no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP.

³ Médica Graduada pela Universidade Federal do Pará. Residente de Dermatologia pela Universidade do Estado do Pará

pontes de fibrinogênio formando um complexo estável na superfície das plaquetas em presença de cálcio. A conversão do ácido aracdônico em endoperóxidos cíclicos e posteriormente em tromboxane A2 (TXA2) também promove ativação da agregação plaquetária. A continuidade da agregação se dá pela formação de agregados de plaquetas e a liberação de adenosina difosfato (ADP) e de outras substâncias ativas das organelas plaquetárias.^{11,1}

Foi observada em pacientes diabéticos - tipo 1 e tipo 2 – a presença de agregação irreversível em resposta a baixas concentrações de ADP, epinefrina, colágeno e ácido aracdônico, em comparação com plaquetas controles, as quais apresentaram uma agregação reversível, expressando assim a existência de uma hipersensibilidade plaquetária nesta enfermidade.⁴

A ativação, adesão e agregação plaquetária estão alteradas em pacientes diabéticos e hiperglicêmicos. A hiperativação plaquetária presente em pacientes portadores de diabetes mellitus (DM) estabelece um estado pró-trombótico que poderá contribuir para o surgimento de alterações aterotrombóticas, incrementando assim, o risco cardiovascular associado a essa doença.^{13,11}

OBJETIVO

Analisar o perfil de agregação plaquetária em pacientes diabéticos, relacionando com medicamentos usados, idade, gênero e comorbidades, utilizando dados do prontuário virtual do sistema de informática de um laboratório de análise clínicas.

MÉTODO

Estudo observacional, retrospectivo e transversal, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará em 11 de dezembro de 2008.

Casuística

Foram selecionados 544 pacientes diabéticos submetidos à análise da curva de agregação plaquetária no período de Julho de 2007 a Julho de 2008. Tais pacientes não poderiam apresentar-se em tratamento quimioterápico e/ou radioterápico e nem possuírem hepatopatia diagnosticada. Todos os procedimentos estão de acordo com a declaração de Helsinki.

Agregação Plaquetária

Análise foi realizada pelo método espectrofotométrico com registro das alterações na densidade óptica de uma suspensão de plaquetas mantidas sob condições constantes de temperatura e

agitação. O agente agregante plaquetário utilizado no teste foi adrenalina.

Coleta de dados

Realizada a partir do registro de dados, em prontuário eletrônico, cedidos por um laboratório de análise clínicas na rede privada da cidade de Belém. A partir de um questionário padrão foram levantados dados como idade, gênero, comorbidades, medicações utilizadas e resultado da curva de agregação plaquetária dos pacientes da amostra estudada.

Análise dos dados

Aplicaram-se métodos estatísticos descritivos e inferenciais.

A inferência estatística foi implementada através de teste de hipótese: Teste qui-quadrado. Estabeleceu-se previamente o nível de significância $\alpha = 0.05$ para rejeição da hipótese de nulidade e uma confiabilidade de 95%. Todo o processamento estatístico foi realizado sob o suporte computacional do software, Epi info2000 versão 3.5.1 e Microsoft Office Excel 2007.

RESULTADO

A pesquisa realizada agrupou 544 pacientes diabéticos que realizaram o exame da curva de agregação plaquetária em um laboratório da rede privada de análises clínicas em Belém/PA, no período de Julho de 2007 a Julho de 2008. Destes, apenas 86 (15,8%) recebiam drogas antiagregantes e/ou anticoagulantes para profilaxia primária e/ou secundária de eventos cardiovasculares relacionados à doença de base.

Agregação plaquetária

Dentre os pacientes diabéticos da amostra, quanto à curva de agregação plaquetária, observou-se 59,9% com resultado hipoagregante; 28,5% Intensamente hipoagregante; 7,9% Normoagregante e 3,7% Hiperagregante.

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes diabético da amostra quanto ao resultado da curva de agregação plaquetária.

| Curva de agregação | Casos | % |
|----------------------------|-------|--------|
| Hipoagregantes | 326 | 59,9% |
| Intensamente Hipoagregante | 155 | 28,5% |
| normoagregante | 43 | 7,9% |
| Hiperagregante | 20 | 3,7% |
| Total | 544 | 100,0% |

Fonte: Protocolo de pesquisa no período de Julho de 2007 a Julho de 2008.

Os pacientes usuários de drogas anticoagulante/antiagregante, 54,7% mostraram curva hipoagregante; 40,7% intensamente hipoagregante; 4,6% normoagregante e nenhum paciente obteve curva de agregação hiperagregante.

Tabela 2 - Distribuição dos pacientes diabéticos usuários de drogas antiplaquetárias quando à curva de agregação

| Curva de Agregação | Anticoagulante/antiagregante plaquetário | | | | Total |
|----------------------------|--|-------|---------|-------|-------|
| | Como Uso | % | Sem Uso | % | |
| Hipoagregante | 47 | 54,7% | 279 | 60,9% | 326 |
| Intensamente Hipoagregante | 35 | 40,7% | 120 | 26,2% | 155 |
| Normoagregante | 4 | 4,6% | 39 | 8,5% | 43 |
| Hiperagregante | 0 | 0,0% | 20 | 4,4% | 20 |
| Total | 86 | 100% | 458 | 100% | 544 |

Fonte: Protocolo de Pesquisa no período de julho de 2007 a julho de 2008.

Comorbidades

Com relação à presença de comorbidades, verificou-se na casuística que 36,4% dos pacientes diabéticos apresentavam diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (HAS). Em 30,5% não foi encontrada doença especificada associada ao diabetes. 20,5% dos pacientes associavam hipertensão e doença cardiovascular (DCV). 3,5% apresentavam hipertensão arterial e dislipidemia. Observou-se que 3,1% dos pacientes, eram portadores de hipertensão, doença cardiovascular e dislipidemia. Em 2,9% dos pacientes encontrou-se doença cardiovascular isolada. E em 2,2% dos pacientes identificou-se dislipidemia. Outras morbidades associadas foram doença cardiovascular e dislipidemia, na percentagem de 0,9%.

Tabela 3 - Distribuição dos pacientes diabéticos da amostra quanto as comorbidades

| Comorbidades | Casos | % |
|--|-------|--------|
| Hipertensão arterial sistêmica | 198 | 36,4% |
| Sem comorbidade especificada | 166 | 30,5% |
| HAS + doença cardiovascular | 111 | 20,4% |
| HAS + dislipidemia | 19 | 3,5% |
| HAS + doença cardiovascular + dislipidemia | 16 | 3,1% |
| Doença cardiovascular | 16 | 2,9% |
| Dislipidemia | 12 | 2,2% |
| Doença cardiovascular + dislipidemia | 5 | 0,9% |
| Total | 544 | 100,0% |

Fonte: Protocolo de pesquisa no período de julho de 2007 a julho de 2008.

Dentre os pacientes usuários de drogas antiagregantes/anticoagulantes na distribuição de comorbidades, encontramos: 23,3% com hipertensão arterial sistêmica; 11,6% não apresentava comorbidade identificada; 40,7% com hipertensão arterial e doença cardiovascular associada; 6,9% hipertensão e dislipidemia; 11,6% hipertensão, dislipidemia e doença cardiovascular; 3% com dislipidemia e 2% associavam doença cardiovascular e dislipidemia ao diabetes mellitus (DM).

Tabela 4 - Distribuição dos pacientes usuários de drogas antiagregantes e/ou anticoagulantes de amostra quando as comorbidades

| Comorbidades | como uso | % | sem uso | % | Total |
|--|----------|-------|---------|-------|-------|
| Hipertensão arterial sistêmica | 20 | 23,3% | 178 | 38,9% | 198 |
| Sem comorbidade identificada | 10 | 11,6% | 156 | 34,0% | 166 |
| HAS + doença cardiovascular | 35 | 40,7% | 76 | 16,6% | 111 |
| HAS + dislipidemia | 6 | 6,9% | 13 | 2,8% | 19 |
| HAS + doença cardiovascular + dislipidemia | 10 | 11,6% | 7 | 1,5% | 17 |
| doença cardiovascular | 0 | 0,0% | 16 | 3,5% | 16 |
| Dislipidemia | 3 | 3,5% | 9 | 2% | 12 |
| Doença cardiovascular + dislipidemia | 2 | 2,3% | 3 | 0,7% | 5 |
| Total | 86 | 100% | 458 | 100% | 544 |

Fonte: Protocolo de Pesquisa no período de julho de 2007 a julho de 2008.

Droga Antiagregante/Anticoagulante em uso

Em relação ao uso de drogas antiagregante e anticoagulantes, dentre o total de pacientes incluídos na amostra estudada (544), apenas 14,33% fazia uso de ácido acetil-salicílico; 0,73% warfarin; 0,36% clopidogrel e 0,36% anticoagulante não especificado. Não foi encontrada na amostra o uso associado dessas medicações.

Tabela 5 - Distribuição dos pacientes quanto a droga antiagregante e/ou anticoagulante utilizada

| Droga | Casos | %(n544) |
|---------------------------------|-------|---------|
| Acido acetilsalicílico | 78 | 14,33% |
| Warfarin | 4 | 0,73% |
| Clopidogrel | 2 | 0,36% |
| Anticoagulante não especificado | 2 | 0,36% |
| Total | 86 | 15,78% |
| Total | 544 | 100,0% |

Fonte: Protocolo de pesquisa no período de julho de 2007 a julho de 2008.

DISCUSSÃO

A hiperatividade e hiperagregação plaquetária têm papel central no desenvolvimento da angiopatia diabética. Muitos fatores são associados com a hiperativação nos DM tipo 2, incluindo o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (induzida pelos altos níveis de glicose), alteração na mobilização de cálcio e aumento na fosforilação da proteína tirosina, esta que acompanha a ativação plaquetária.⁶

A morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos, sobretudo os tipo 2, está grandemente associada à doença oclusiva micro e macrovascular, em que a trombose é a principal responsável. As plaquetas têm ação central na formação dos trombos e uma hiperreatividade das mesmas poderia explicar a incidência aumentada de doença trombo-embólica nos diabéticos. Entretanto estudos trazem resultados conflitantes. Uma vez que uns demonstraram um aumento da resposta plaquetária *in vitro* e outros, *in vivo*, sugerem reatividade plaquetária equivalente no grupo dos diabéticos e no grupo controle.¹¹

Estudo utilizando ratos obesos Zucker Diabéticos, modelo de DM tipo II. Os resultados mostraram que, *in vivo*, as plaquetas dos ratos Zucker obesos eram significativamente mais responsivas à agregação induzida pelo ADP que as plaquetas dos ratos Zucker magros. O que não ocorria *in vitro*, quando a resposta plaquetária era semelhante em ambos os grupos. O estudo demonstra que a glicose *per se* não é a responsável pelas mudanças observadas na reatividade plaquetária, uma vez que uma elevação aguda nos níveis de glicose, *in vitro* e *in vivo*, não tiveram efeito significativo na resposta plaquetária induzida pelo ADP. Concluindo, o estudo demonstrou que a agregação plaquetária *in vitro* não reflete necessariamente a resposta plaquetária *in vivo*. Portanto a relevância fisiopatológica dos resultados da agregação plaquetária *in vitro*, isoladamente, deve ser interpretada com cautela.¹²

Estudo realizado *in vitro*, mostrou realce na adesão e agregação plaquetária de ratos diabéticos STZ (Streptozotocin treated rats- modelo de DM tipo I). Entretanto, em suspensão plasmática, plaquetas dos ratos diabéticos eram hiporreativas. Além disso, a mensuração da agregação plaquetária sanguínea *in vitro* demonstrava indução química a formação de trombos, *in vivo* mostram diminuição da reatividade plaquetária. Portanto, resultados inconsistentes. O estudo mostrou um aumento da reatividade plaquetária e do risco de trombose em ratos GK (Goto Kakizaki- ratos DM

espontaneamente, não insulino dependentes) sugerindo um estado protrombótico. Entretanto hiporreatividade foi vista em ratos STZ e em ratos OLETF, *in vivo* e *in vitro*. Neste e em estudos prévios, altos níveis de glicose e insulina são independentes do estado trombótico encontrado nos diabéticos.¹⁶

Indivíduos com diabetes mellitus têm duas a quatro vezes mais risco de apresentar doença aterosclerótica cardiovascular (ADA, 2004; MAINAR et al., 2007). Estudos têm demonstrado piores resultados entre pacientes com diabetes em relação a síndromes coronarianas agudas e procedimentos de revascularização coronária.^{2,14,15}

O uso diário de aspirina em pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) reduz significativamente a ocorrência de eventos cardiovasculares. A Associação Americana de Diabetes (ADA) recomenda o uso de aspirina para todos os pacientes diabéticos com mais de 40 anos de idade e/ou com fatores de risco para doença cardiovascular ou após a ocorrência de qualquer evento cardiovascular (independente da idade), na ausência de contra indicações.⁸

A utilização rotineira da aspirina é, provavelmente, a mais fácil e mais barata terapia disponível para prevenção de eventos cardiovasculares em pacientes com DM2. A administração de pequenas doses (menores que 325mg/dia) está associada a pequenos efeitos adversos e à redução do risco de infarto agudo do miocárdio e hipertensão arterial em pacientes diabéticos.¹⁶

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É inquestionável que a população diabética constitui um importante grupo de risco para eventos micro e macrovasculares durante a evolução natural da doença. Este fato justifica a realização, por parte dos mesmos, de terapia profilática (primária e secundária) com a utilização de drogas antiagregantes e/ou anticoagulantes.

Mesmo diante das evidências clínicas acerca dos benefícios da terapêutica, observa-se a subutilização da mesma por parte dos pacientes. Fato que contribui para maior morbidade e mortalidade da população abordada, aumentando gastos públicos com terapias para limitação de danos e internações hospitalares prolongadas.

Entretanto, apesar das evidências, o real mecanismo da hiperreatividade plaquetária dos diabéticos ainda não foi esclarecido em estudos experimentais. O que gera dúvidas na comunidade científica e trabalhos com resultados inconclusivos acerca do assunto.

SUMMARY

EVALUATION OF PLATELETS AGGREGATION IN DIABETIC PATIENTS IN A CLINICAL ANALYSIS LABORATORY IN BELÉM- PA

Caroline Souza dos ANJOS e Aritana Ferreira Santos BARBOSA

Objective: To analyze the profile of platelets aggregation in diabetic patients, linking the results with used medications, age, sex and comorbidities. **Method:** observational and retrospective study of cases, with the collection of platelet aggregation test of 544 diabetic patients. The data were extracted from virtual handbooks in a particular laboratory of clinical analyses in Belem-PA in the period of July 2007 to July of 2008. The statistical inference was studied through test of hypothesis: Qui-square test. **Results:** Between diabetics patients who use platelet aggregation inhibitors drugs and/or anticoagulant drugs, were observed, about the platelet aggregation test: 40,6% with intense hipoaggregation test; 55,81% with hipoaggregation test and 4,65% with normoaggregation test. In non users, 60,9% had hipoaggregation test, 26,2% had intense hipoaggregation test, 8,5% normoaggregation test and 4,4% hiperaggregation test. Statistical signification happened ($p=0,0093$) between the use of related medications and the intensity of hipoaggregation in studied population. **Conclusion:** Based on clinical evidences, platelet aggregation inhibitors drugs and/or anticoagulant drugs must be used for primary and secondary preventive treatment for the diabetic patients. As soon as, this is a population with higher cardiovascular risk. It is still alerted for the necessity of driving scientific works aiming to elucidate the real mechanisms of platelet hyperreactivity in diabetics.

KEY WORDS: Diabetes mellitus; Platelets aggregation; Platelet aggregation inhibitors drugs

REFERÊNCIAS

1. Almagro PC. Alteraciones de La Hemostasia em La diabetes mellitus. Rev. Cub. Hematol. Imunol. Hemoter., v. 21, n. 1, 2005.
2. American Diabetes Association . Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, v. 26, n. supl 1, jan 2003.
3. Alves C. et al. Mecanismos Patogênicos da Doença Periodontal associada ao Diabetes Mellitus. Arq. Bras. Endocrinol. Metab., v. 51, n. 7, p. 1050-1057, 2007.
4. Bernadi OSM, Moreira HW. Análise dos traçados de onda de agregação plaquetária em pacientes com doenças cardiovasculares em uso do ácido acetil salicílico comparados a doadores de sangue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter, v. 26, n.4, out/dez 2004.
5. Colwell JA. Platelet adhesion and aggregation in diabetes mellitus. Metabolism, v. 28, p. 394-400, 1975.
6. Haouri M, Rosado JA. Platelet signaling abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: A review. Blood cells, molecules, and diseases, vol. 41.p. 119-123. 2008.
7. Jneid H, Bhatt DL, Corti R, Badimon J J, Fuster V, Francis GS. Aspirin and clopidogrel in acute coronary syndromes: therapeutic insights from the CURE study. Arch Intern Med, v.163, p.1145-53. 2003.
8. Leitão CB, Krahe AL, Nabinger G, Picon PX, Pecis M, Zaslavsky LM, Gross JL, Canani LH. Aspirin therapy is still underutilized among patients with type 2 diabetes. Arq Bras Endocrinol Metav, v.50, n.6, dez.2006.
9. Manna TD. Not every diabetic child has type 1 diabetes mellitus. Jornal de Pediatria, vol.83, n. 5, p. 178-183, 2007.
10. McLellan KCP, et al. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. Rev. Nutr., v. 20, n. 5, p. 515-524, set/out, 2007
11. Natarajan A, Zaman AG, Marshall SM. Platelet hyperactivity in type 2 diabetes: role of antiplatelet agents. Diabetes and vascular disease research, v.5, n.2, p. 138-44, junho 2008.

12. Paul W, Queen LR, Page CP, Ferro A. Increased platelet aggregation in vivo in the Zucker diabetic fatty rat: Differences from streptozocin diabetic rat. *British journal of Pharmacology*, v.150, p. 105-111. 2007.
13. Sagel J, et al. Increased platelet aggregation in early diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, vol. 82, p. 733-8. 1975
14. Serruys PW, Unger F, Sousa JE. Comparison of coronary-artery bypass surgery and stenting for the treatment of multivessel disease. *N Engl J Med*, v. 344, p. 1117-24, 2004.
15. Sicras-Mainar A, et al. Use of aspirin for primary and secondary prevention of cardiovascular disease in diabetic patients in an ambulatory care setting in Spain. *BMC family practice*, v. 8, 2007.
16. Taka T, et al. Platelet reactivity in spontaneously diabetic rats is independent from blood glucose and insulin levels. *Platelets*, vol. 13. p. 313-316. 2002.

Endereço para correspondência:

carolinesanjos@gmail.com

Recebido em 10.02.2015 – Aprovado em 12.03.2015