

# Płytki krwi w przewlekłych chorobach wątroby

## Blood platelets in liver diseases

Anatol Panasiuk

Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska

**Summary:** Chronic hepatic diseases are a local and systemic processes. Etiologic factors (viruses, toxins, autoimmunity), inducing liver failure, also influence other organs leading to consequences distant in time and localization. Changes in the liver depend on the kind and force of the damaging stimulus. Homeostasis disturbances caused by hepatic diseases have many consequences as far as blood platelets are concerned. Blood platelets, due to their short lifetimes, are sensitive cellular elements of the peripheral blood. Thus, severity of hepatic diseases can be evaluated by observing platelets disturbances. Morphological tests of blood, as the directly accessible tissue, can indirectly assess the stage of chronic hepatic disease advancement.

**Słowa kluczowe:** płytki krwi • choroby wątroby • interferon alfa

**Key words:** blood platelets • liver diseases • interferon alfa

**Adres do korespondencji:** Anatol Panasiuk, Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok, Polska, e-mail: anatol@panasiuk.pl

### Wstęp

Płytki krwi są elementami morfotycznymi krwi powstającymi w wyniku trombocytopoezy i stanowią bezjądrzasty fragment cytoplazmy megakariocytów. Trombocyty powstają w szpiku kostnym i łożysku naczyniowym płuc [1]. Płt odgrywają rolę w transporcie, adhezji, wydzielaniu oraz aktywowaniu osoczowych czynników krzepnięcia. W wyniku pobudzenia płt uruchamiane są procesy degranulacji ziarnistości płytkowych z uwolnieniem do otoczenia substancji aktywnych. Płt zużywane są w procesach hemostatycznych stosunkowo w małych ilościach, większość ulega eliminacji w wyniku naturalnych procesów starzenia się [2].

Kluczową rolę w regulacji produkcji płt odgrywa trombopoetyna (TPO) [3]. TPO produkowana jest głównie w wątrobie, a jej poziom zmniejsza się w chorobach wątroby. Mniejsze ilości TPO powstają w nerkach, śledzionie i szpiku. Istotną rolę w trombocytopoezie odgrywa czynnik wzrostowy hepatocytów produkowany w dużych ilościach w ostrych chorobach infekcyjnych jak posocznica, grypa, zapalenie płuc czy w ostrych zapaleniach wątroby [4]. Przewlekłym zapaleniom wątroby zwykle towarzyszą niskie stężenia HGF, nie osiągając wartości jak u osób zdrowych. Obserwuje się zależność między stężeniem HGF a aktywnością trombocytopoezy i liczbą płytek krwi w przewlekłych chorobach wątroby. Megakariocytopenię reguluje wiele czynników, które wymieniono w Tabeli 1.

Czas przeżycia płytek krwi w krążeniu wynosi maksymalnie 10 dni i ulega skróceniu w przypadku zwiększonego

**Tabela 1.** Czynniki wpływające na megakariocytopenię [5].

Wpływ pobudzający	<ul style="list-style-type: none"><li>• M-CSF (Megakaryocyte Colony Stimulating Factor)</li><li>• GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor)</li><li>• Interleukiny: IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, IL-12</li><li>• Trombopoetyna (TPO)</li><li>• Erytropoetyna (EPO)</li></ul>
Wpływ hamujący	<ul style="list-style-type: none"><li>• Czynniki płytkowy 4 (PF 4)</li><li>• TGF-<math>\beta</math> (Transforming Growth Factor beta)</li><li>• PDGF (Platelet Derived Growth Factor)</li><li>• TNF alfa (Tumor Necrosis Factor alfa)</li></ul>

zapotrzebowania organizmu na aktywność płt, zwiększonego zużycia. Nadciśnienie wrotne z zastojem w łożysku naczyniowym śledziony powoduje zwiększony i wydłużony kontakt płt z komórkami USS śledziony i sprawia, że znaczna większość płt jest eliminowana z krążenia prowadząc trombocytopenię [6].

Najbardziej zauważalnymi następstwami niedoboru płt są zaburzenia hemostazy z krwotocznością do skóry i błon śluzowych, z przewodu pokarmowego, do jam ciała. Następstwa immunologiczne wynikające z upośledzonej współpracy z komórkami immunokompetentnymi są mniej zauważalne. Opisano ponad 100 leków, witamin oraz produktów spożywczych wpływających uszkadzająco na płt. Większość z nich ma umiarkowany wpływ na funkcje płt, jedynie aspiryna zwiększa

istotnie ryzyko wystąpienia krwawień z powodu nieodwracalnego blokowania cyklooksygenazy płytkowej.

Wzrasta ilość danych wykazujących wielofunkcyjność plt, w tym udział w procesach zapalnych, autoimmunologicznych. Związane jest to z reakcją wydzielniczą plt, interakcją z innymi komórkami aktywnie uczestniczącymi w reakcjach zapalnych oraz ze zdolnościami fagocytarnymi plt. Procesy zakrzepowe i zapalne mają wspólne ogniwa biochemiczne i zaangażowane w nich są w większości te same elementy komórkowe, które tworzą układ odpornościowy organizmu [7]. Płytki zaangażowane w procesach zapalnych wydzielają substancje aktywne oddziałujące na inne komórki np.: PDGF, histaminę, P-selektynę.

### **Rola płytek krwi w patogenezie chorób wątroby**

Badania ostatnich lat dowodzą, że plt odgrywają dużą rolę w patogenezie uszkodzenia wątroby. Chorobom wątroby towarzyszą często ilościowe i jakościowe zaburzenia płytek krwi [8,9]. Stopień uszkodzenia plt zależy od ciężkości przebiegu choroby wątroby, a uszkodzenia mogą być częściowo odwracalne wraz z poprawą wydolności wątroby. Wpływ przewlekłych chorób wątroby na plt jest bardzo złożony i często trudny do interpretacji. Za przyczynę trombocytopenii w zaawansowanych chorobach wątroby zwykle uznawano wybiórcze gromadzenie i/lub uszkodzanie plt w śledzionie [10]. Jednakże splenektomia nie wpływa znacząco na wzrost liczby plt we krwi obwodowej. W przewlekłych wirusowych zapaleniach wątroby obserwuje się odwrotną korelację między liczbą plt a nadciśnieniem wrotnym i splenomegalią. Częściej trombocytopenia towarzyszy splenomegalii, natomiast wielkość śledziony uzależniona jest od stopnia nadciśnienia wrotnego. U chorych bez splenomegalii liczba plt odwrotnie koreluje ze stopniem nasilenia włóknienia wątroby. Liczba plt zmniejsza się istotnie statystycznie w stadium B oraz C niewydolności wątroby wg Childa-Pugh'a [11]. W marskości wątroby rozważany jest hamujący wpływ toksycznych produktów przemiany materii na aktywność hematopoetyczną szpiku [12]. Średni czas przeżycia płytek krwi ulega skróceniu <7 dni [13]. Płt są zużywane w wyniku subklinicznie rozwijającego się DIC, a także ulegają wzmożonej eliminacji przez układ siateczkowo-śródbłonkowy śledziony, wątroby [14]. Krótszy czas życia plt jest wynikiem ciągłej aktywacji przez cytokiny, których jest więcej w krążeniu (IL2, IL6, TNF alfa) u osób z chorobami wątroby [15]. Możliwy bezpośredni wpływ na plt mogą mieć czynniki etiologiczne chorób wątroby takie jak alkohol, wirusy hepatotropowe (HBV, HCV) czy też leki [16,17]. Powstające nadciśnienie wrotne sprawia, że krążenie w dorzeczu żyły wrotnej jest hiperkinetyczne, co wpływa aktywująco na płytki krwi i skraca czas ich przeżycia.

Płytki krwi ulegając aktywacji w procesach zapalnych, immunologicznych, w zaburzeniach hemostazy w wątrobie uwalniają z alfa ziarnistości płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet derived growth factor – PDGF) [18]. Istota znaczenia biologicznego tego związku tkwi w stymulującym wpływie na fibrogenezę i mitogenezę komórek Ito w wątrobie. W zapaleniu wątroby źródłem PDGF obok zaktywowanych płytek krwi są makrofagi oraz komórki Browicza-Kupffera. W wątrobie nieuszkodzonej PDGF oraz receptory dla PDGF (PDGF-R) występują na niewielkiej liczbie komórek mezenchymalnych w przestrzeniach wrotnych. Wraz z nasileniem się stopnia uszkodzenia wątroby wzrasta zawartość PDGF i PDGF-R.

Stwierdzono obecność PDGF-R w naciekach zapalnych oraz wzdłuż naczyń rozproszonych w tkance łącznej wątroby oraz na proliferujących komórkach Ito [19]. W przewlekłych zapaleniach wątroby wykazuje się wysoką korelację między ekspresją PDGF-R, aktywnością, zaawansowaniem zmian morfologicznych a odkładaniem się kolagenu. Zasadniczą rolę we włóknieniu wątroby odgrywają komórki satelitarne Ito (fat-storing cells). W warunkach doświadczalnych cholestatycznego zapalenia wątroby wykazano, że proliferacja komórek Ito ulegających przekształceniu w miofibroblasty jest regulowana głównie przez PDGF. Znaczącymi czynnikami wpływającymi na procesy włóknienia w wątrobie są cytokiny a ich źródłem są limfocyty, hepatocyty, osiadłe makrofagi, komórki endotelialne, komórki nabłonkowe dróg żółciowych, komórki Ito oraz płytki krwi. Wyróżnia się cytokiny o działaniu mitogennym – stymulującym proliferację komórek satelitarnej wątroby (TGF alfa, PDGF, IL-1, TNF alfa, ILGF) oraz fibrogennym – indukującym białka macierzy (TGF-beta, IL-6). Jedną z przyczyn trombocytopenii w przewlekłych chorobach wątroby jest powstawanie autoprzeciwciał przeciw płytkowym prowadzących do zwiększonej destrukcji plt [20].

Trombopoetyna jest cytokiną łączącą funkcję komórek wątrobowych z trombocytopenią, a ilość cytokiny pozostaje w ścisłym związku ze stopniem wydolności tych komórek. Zmniejszenie masy wydolnych czynnościowo hepatocytów w zaawansowanych chorobach wątroby prowadzi do zmniejszenia wytwarzania TPO [21]. W doświadczalnym uszkodzeniu wątroby lipopolisacharydami (LPS) obserwowano istotne zmniejszenie liczby plt i neutrofilii we krwi obwodowej a zwiększenie w wątrobie [22]. Pod wpływem endotoksemii plt ulegają aktywacji i przemieszczają się z krwi do przestrzeni zatokowych i okołozatokowych (Dissego) umiejscowionych pomiędzy hepatocytami a komórkami endotelialnymi. Rozwijająca się zakrzepica oraz pobudzenie komórek Browicza-Kupffera i makrofagów jest przyczyną ogniskowej martwicy hepatocytów [23].

### **Płytki krwi – interferon**

W przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C interferon alfa stosowany jest jako lek przeciwwirusowy, doprowadza bezpośrednio lub pośrednio (poprzez mechanizmy immunologiczne) do eliminacji wirusa. Jednym z powikłań tej terapii jest postępujące obniżenie liczby plt. Stosowany w dawkach terapeutycznych wywołuje po kilku dniach zmniejszenie liczby plt [24]. Przyczyny tego zjawiska nie są do końca poznane. Obserwacje Wadenvika i wsp. [25] wykazują, że jest to efektem głównie zmniejszenia produkcji plt przez megakariocyty, a w mniejszym stopniu skrócenia czasu życia plt. Średni czas życia plt u chorych z trombocytopenią leczonych IFN alfa wynosi około 8 dni [26]. Nie obserwuje się zmniejszenia liczby megakariocytów w szpiku pod wpływem interferonu alfa. Interferon alfa zmniejsza stopień aktywacji plt, hamuje reakcje uwalniania oraz powoduje upośledzenie procesów agregacji. U chorych z nadpłytkowością leczonych IFN alfa obserwowano znaczne zmniejszenie się stężenia  $\beta$ TG w surowicy, nie zmienia się jednak stosunek ilości  $\beta$ TG w surowicy do całkowitej zawartości w płytkach krwi. Trombocytopenia w następstwie IFN-terapii może być wynikiem zwiększonej eliminacji plt przez osiadłe makrofagi. Scheithauer i wsp. [27] wykazali zwiększoną ekspresję receptora Fc na plt co może sprzyjać łączeniu z immunoglobulinami IgG i wychytowi przez układ usś. U chorych leczonych interferonem alfa analiza kinetyki plt znakowanych



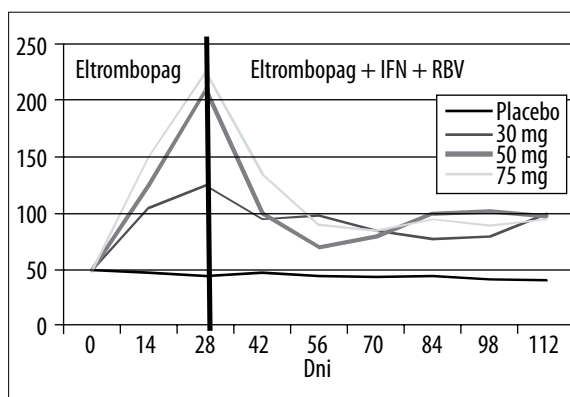
11In wykazała, że w pierwszej dobie kumulują się one głównie w śledzionie, a w wątrobie maksymalna kumulacja występuje w 7 dobie [26].

Wpływ IFN alfa na zjawiska immunologiczne powoduje, że u około 70% chorych powstają immunoglobuliny (platelet-associated immunoglobulins) PAIg klasy IgM i u około 30% chorych IgG [28]. Nie wykazano korelacji statystycznej między stężeniem PAIg a liczbą plt. Inkubacja PAIg pobranych od chorych leczonych IFN alfa z płytkami osób zdrowych nie wpłynęła w istotny sposób na niszczenie plt. Nie stwierdza się również we frakcji PAIgM i PAIgG autoprzeciwciał przeciwplateletowych. Istnieją doniesienia o pojawianiu się autoprzeciwciał przeciwplateletowych w czasie długo stosowanej IFN terapii [29,30]. Pod wpływem IFN alfa wzrasta ekspresja receptorów glikoproteinowych na plt (GPIV), trombospondyny oraz agregacja plt. Stosowanie interferonu alfa powoduje zmniejszenie liczby płytek krwi, wpływa stabilizująco na płytki, zmniejsza ich aktywację, wzmacnia aktywność bakteriobójczą oraz cytotoksyczną [31].

Wystąpienie trombocytopenii w trakcie terapii interferonem jest powodem do rozważenia redukcji dawki, wprowadzenia przerwy w leczeniu a nawet przerwania stosowania leku.

## Postępowanie w trombocytopenii

Leki pobudzające megatrombocytopoezę są w trakcie badań klinicznych. Obecnie brak jest dostępnych na rynku czynników wzrostowych i/lub leków stymulujących produkcję płytek. Zostały wycofane z badań klinicznych postaci rekombinowane i pegylowane tromboopoetyny z powodu działań niepożądanych. Zaawansowane badania kliniczne III fazy (ENABLE 1,2; ELEVATE) nad eltrombopagiem, niepeptydowym mimetykiem receptora TPO wykazały, że może być skutecznym lekiem zwiększającym liczbę plt w trakcie terapii interferonem. Preparat ten stosowany codziennie w formie doustnej zwiększa liczbę plt już od 5. dnia terapii pozwalając kontynuować terapię interferonem u chorych z trombocytopenią. Eltrombopag stwarza nadzieję na zwiększenie



Rycina 1. Etlrombopag w leczeniu pwzw C z trombocytopenią [32].

skuteczności leczenia i uzyskanie SVR w większej populacji chorych z hepatitis C i trombocytopenią (Rycina 1) [32].

U chorych z pwz C z trombocytopenią w trakcie leczenia nie ma wskazań do transfuzji płytek ze względu na krótki czas przeżycia przetoczonych płytek krwi (ok. 4 godzin). Dlatego celowość przetaczania masy płytkowej poza pilnym przygotowaniem do zabiegów chirurgicznych jest kontrowersyjna.

## Wnioski

Płytki krwi są wrażliwym elementem komórkowym w przewlekłych schorzeniach wątroby. Często, przy prawidłowych markerach niewydolności wątroby są one jedynym wskaźnikiem wskazującym na zaawansowaną chorobę wątroby. Liczba płytek krwi koreluje ze stopniem uszkodzenia wątroby, dlatego może ona stanowić czynnik predykcyjny skuteczności leczenia chorób wątroby. Niekiedy wskazana jest modyfikacja postępowania terapeutycznego ze względu na liczbę plt. U znacznej części chorych po przeszczepie wątroby (OLT) magakariocytopenia staje się efektywna i normalizuje się liczba plt [33]. U części osób po OLT utrzymuje się trombocytopenia, a przyczyną jest włóknienie szpiku spowodowane czynnikiem toksycznym (np. alkohol).

## Piśmiennictwo:

- Behnke O, Forer A: From megakaryocytes to platelets: platelet morphogenesis takes place in the blood stream. *Eur J Haematol*, 1998; 60: 3-23
- Clemetson KJ: Platelet activation: signal transduction via membrane receptors. *Thromb Haemost*, 1995; 74: 111-16
- Kaushansky K: Thrombopoietin and hematopoietic stem cell development. *Ann N Y Acad Sci*, 1999; 872: 314-19
- Giannini E, Botta F, Borro P i wsp.: Relationships between thrombopoietin serum level and liver function in patients with chronic liver disease related to hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*, 2003; 98: 2516-20
- Vadhan-Raj S, Cohen V, Bueso-Ramos C: Thrombopoietic growth factors and cytokines. *Current Hematology Reports*, 2005; 4: 137-44
- Laschke MW, Doid S, Menger MD i wsp.: Platelet dependent accumulation of leukocytes in sinusoids mediates hepatocellular damage in bile duct ligation-induced cholestasis. *Br J Pharmacol*, 2008; 153: 148-56
- Iannacone M, Sitia G, Isogawa M i wsp.: Platelets mediate cytotoxic T lymphocyte-induced liver damage. *Nat Med.*, 2005; 11: 1167-69
- Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V i wsp.: Coagulation disorders in liver disease. *Semin Liver Dis*, 2002; 22: 83-96
- Witters P, Freson K, Verslype C i wsp.: Review article: blood platelet number and function in chronic liver disease and cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008; 27: 1017-29
- Kajihara M, Okazaki Y, Kato S i wsp.: Evaluation of platelet kinetics in patients with liver cirrhosis: similarity to idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007; 22: 112-18
- Rios R, Sangro B, Herrero I i wsp.: The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 2005; 100: 1311-16
- Adinolfi LE, Giordano MG, Andreana A i wsp.: Hepatic fibrosis plays a central role in the pathogenesis of thrombocytopenia in patients with chronic viral hepatitis. *Br J Haematol*, 2001; 113: 590-95
- Panasiuk A, Prokopowicz D, Żak J, Panasiuk B: Reticulated platelets as a marker of megakariopoiesis in liver cirrhosis; relation in thrombopoietin and hepatocyte growth factor serum concentration. *Hepatogastroenterology*, 2004; 51: 1124-28
- Aoki Y, Hirai K, Tanikawa K: Mechanism of thrombocytopenia in liver cirrhosis: kinetics of indium - 111 tropolone labelled platelets. *European Nuclear Med.*, 1993; 20: 123-29
- Fujii T, Shimomura T, Fujimoto TT i wsp.: A new approach to detect reticulated platelets stained with thiazole orange in thrombocytopenic patients. *Thromb Res*, 2000; 97: 431-40
- Panasiuk A, Kemona A, Prokopowicz D: Blood and bone marrow in inflammatory liver cirrhosis. *Med Sci Monit*, 1997; 3: 158-62
- Panasiuk A, Kemona A: Bone marrow failure and hematological abnormalities in alcoholic liver cirrhosis. *Rocz Akad Med Białymst*, 2001; 46: 100-5

18. Panasiuk A, Prokopowicz D, Żak J i wsp.: Activation of blood platelets in chronic hepatitis and liver cirrhosis P-selectin expression on blood platelets and secretory activity of  $\beta$ -thromboglobulin and platelet factor-4. *Hepagastroenterology*, 2001; 48: 818–22
19. Mannaioni PF, Di Bello MG, Masini E: Platelets and inflammation: role of platelet-derived growth factor, adhesion molecules and histamine. *Inflamm Res*, 1997; 46: 4–18
20. Panasiuk A, Żak J: Autoimmunologiczne przyczyny trombocytopenii w przewlekłych chorobach wątroby. *Merkuriusz Lekarski*, 2001; 61: 487–90
21. Ishikawa T, Ichida T, Matsuda Y i wsp.: Expression of hepatic thrombopoietin mRNA in primary cultured hepatocytes and in rats with acute liver injury or bone marrow suppression with or without cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 2000; 15: 647–53
22. Pearson JM, Schultze AE, Jean PA i wsp.: Platelet participation in liver injury from gram-negative bacterial lipopolysaccharide in the rat. *Shock*, 1995; 4: 178–86
23. Shibayama Y, Asaka S, Urano T i wsp.: Role of neutrophils and platelets in the pathogenesis of focal hepato – cellular necrosis in endotoxaemia. *Exp Toxic Pathol*, 1995; 47: 35–39
24. Li L, Han D-K, Lu J: Interferon- $\alpha$  induced severe thrombocytopenia: A case report and review of the literature. *World J Gastroenterol*, 2010; 16: 1414–17
25. Wadenvik H, Kutti J, Ridell B i wsp.: The effect of alpha-interferon on bone marrow megakaryocytes and platelet production rate in essential thrombocythemia. *Blood*, 1991; 77: 2103–8
26. Sata M, Yano Y, Yoshiyama Y i wsp.: Mechanisms of thrombocytopenia induced by interferon therapy for chronic hepatitis B. *J Gastroenterol*, 1997; 32: 206–10
27. Scheithauer W, Gisslinger H, Temsch EM i wsp.: Effect of recombinant interferon-alpha2C on reticuloendothelial function in patients with thrombocytosis. *J Interferon Res*, 1990; 10: 237–42
28. Kosugi S, Imai Y, Kurata Y i wsp.: Platelet – associated IgM elevated in patients with chronic hepatitis C contains no anti – platelet autoantibodies. *Liver*, 1997; 17: 230–37
29. Demirturk N, Cevik F, Demirdal T i wsp.: Autoimmune thrombocytopenia induced by PEG-IFN-alpha plus ribavirin in hepatitis C. *Platelets*, 2006; 17: 340–43
30. Medeiros BC, Seligman PA, Everson GT i wsp.: Possible autoimmune thrombocytopenia associated with pegylated interferon-alpha2a plus ribavirin treatment for hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*, 2004; 38: 84–86
31. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J i wsp.: Inhibition of activated blood platelets by interferon alfa2b in chronic hepatitis C. *Hepagastroenterology*, 2004; 51: 1417–21
32. McHutchinson JG, Duszheiko G, Shiffman ML i wsp.: Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med*, 2007; 357: 2227–36
33. Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Zacherl J i wsp.: Thrombopoietin induces rapid resolution of thrombocytopenia after orthotopic liver transplantation through increased platelet production. *Blood*, 2000; 95: 795–801

