

EFFECTO DEL CIGARRILLO EN LA AGREGACION PLAQUETARIA DE PERSONAS JOVENES

Milagros Bracho, Angela Luzardo, Sonia Manzol
y María Diez-Ewald*

* Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.
Apartado Postal 1151. Maracaibo 4001-A. Venezuela.

RESUMEN

Se estudia la agregación plaquetaria en 18 personas jóvenes fumadoras habituales y se compara con la de 15 personas no fumadoras de la misma edad. En las personas fumadoras se observa un aumento significativo en la velocidad inicial de agregación, cuando ésta se estimula con ADP. Al separar los individuos de acuerdo al sexo, se pudo establecer que la mayor agregación entre los fumadores ocurría en las mujeres. A siete personas fumadoras se les hizo el estudio antes e inmediatamente después de fumar un cigarrillo y se encontró un aumento de la velocidad inicial de la agregación con ADP y un aumento aún más considerable de la velocidad inicial, cuando se agregaba con epinefrina.

Los hallazgos permiten pensar, que las plaquetas de las mujeres son más sensibles a los efectos del cigarrillo que las de los hombres, y que la reactividad plaquetaria a la epinefrina exógena, aumenta inmediatamente después de fumar.

INTRODUCCION

Es un hecho comprobado que el hábito de fumar tiene efectos adversos en el sistema cardiovascular, siendo los problemas tromboembólicos uno de los más importantes (1, 2, 9, 18). Entre las posibles causas de estos hallazgos, se han señalado las modificaciones de las plaquetas, tanto en número como en función (1, 5, 11, 19). La mayoría de los autores coinciden en señalar, que el cigarrillo causa un aumento en la adhesividad plaquetaria, y Erikssen y cols (7) hallaron también aumento significativo del conteo plaquetario en fumadores consuetudinarios de edad mediana. Los estudios de Grignani y cols (8), comparando el efecto del cigarrillo en fumadores sanos de diferentes edades y enfermos por problemas cardiovasculares que tenían entre 40 y 75 años de edad, demostraron que solo los fumadores jóvenes, mostraban mayor agregación plaquetaria cuando ésta era estimulada *in vitro* con ADP; en cambio, en las personas de más de 40 años, padecieran enfermedades cardiovasculares o no, no se registraban cambios.

Aunque el trabajo de Grignani y cols (8), es el más completo en lo que a agregación plaquetaria y cigarrillo se refiere, los autores solo muestran en él, el efecto inmediato de fumar, pero no investigan si hay un efecto mantenido en el fumador crónico; por otro lado, en ninguno de los trabajos citados, se hace mención a la existencia de diferencias con respecto al sexo. En el presente estudio se pretende investigar ambos puntos. Si el efecto del cigarrillo en la agregación plaquetaria es mantenido y si hay una diferencia, dependiente del sexo, en la respuesta. Además se desea observar si los cambios hallados cuando se utiliza ADP como inductor de la agregación, también están presentes cuando se utiliza epinefrina.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 33 personas de ambos sexos y de edades comprendidas entre 18 y 25 años. 18 individuos (10 mujeres y 8 hombres) eran fumadores habituales, aunque ninguno alcanzaba a 20 cigarrillos diarios, y 15 individuos (8 mujeres y 7 hombres) nunca habrían fumado. En ningún caso había antecedentes personales o familiares de enfermedades donde se encuentre modificado el funcionamiento plaquetario. A todas las personas se les instruyó de no ingerir ningún tipo de fármaco o alcohol durante los diez días previos al estudio y se tuvo especial cuidado en descartar las mujeres que ingirieran anticonceptivos orales. A los fumadores se les indicó que se abstuvieran de fumar durante las últimas 24 horas. A cada individuo se le extrajo sangre en ayunas, utilizando técnica de doble jeringa plástica y Cateter con aguja N° 21. El contenido de la

primera jeringa se utilizó para la observación de la retracción del coágulo y el de la segunda se colocó en tubos plásticos que contenían 3,8% de citrato de sodio; para cada volumen de anticoagulante, se colocaban nueve volúmenes de sangre.

Siete de las personas fumadoras, fumaron un cigarrillo después de la extracción sanguínea y de nuevo se procedió a la toma de una muestra de sangre en las mismas condiciones señaladas anteriormente.

Se preparó el plasma rico en plaquetas (PRP) mediante centrifugación de la sangre citratada a 180G, a temperatura ambiente, durante 10 minutos. El plasma pobre en plaquetas (PPP) se preparó centrifugando el sedimento de la centrifugación anterior a 1500G durante 20 minutos. El PPP así preparado, solo se utilizó como blanco para la calibración del agregómetro.

En cada caso se realizaron los siguientes estudios:

Retracción del coágulo, observada a las dos horas de incubación de 2 ml de sangre total a 37°C y expresada de acuerdo al grado de retracción de una a cuatro cruces.

Contaje de plaquetas en el PRP, para ello se utilizó cámara de Neubauer y microscopio de contraste de fases.

Agregación plaquetaria utilizando un agregómetro (Chrono-Log Corp) provisto de filtro rojo con banda de absorción de 609 nm y agitación continua a 1100 rpm y a una temperatura de 37°C. Como inductores de la agregación se utilizaron epinefrina y ADP, cada uno a una concentración final de $3 \times 10^{-6} M$. La agregación máxima se calculó como el máximo aumento de la transmisión de la luz, registrado en un inscriptor lineal durante cinco minutos después de añadir el inductor al PRP. El resultado se expresó como porcentaje de transmisión de la luz. La velocidad inicial de la respuesta se midió como la tangente de la pendiente máxima de la primera curva de agregación y se expresó como porcentaje de transmisión de la luz en un minuto.

La probabilidad estadística se calculó mediante la t de Student.

RESULTADOS

La retracción del coágulo fué de cuatro cruces en todos los casos estudiados y el contaje plaquetario, aunque mostraba un promedio mayor en las personas fumadoras, no resultó estadísticamente diferente en ninguno de los grupos (Tabla I).

TABLA I

NUMERO DE PLAQUETAS EN EL PRP DE PERSONAS FUMADORAS Y NO FUMADORAS

Grupo	No Fumadoras		Fumadoras		P
	Plaquetas X 10 ⁵ /μl	$\bar{X} \pm D.E.*$	Grupo	Plaquetas X 10 ⁵ /μl	
Total (15)**	4,37 ± 0,90		Total (18)	4,76 ± 0,81	N.S.
Mujeres (8)	4,65 ± 1,03		Mujeres (10)	5,09 ± 0,66	N.S.
Hombres (7)	4,04 ± 1,04		Hombres (8)	4,30 ± 0,82	N.S.
			Antes de Fumar	Después de Fumar	
	Total (7)		5,04 ± 1,03	4,60 ± 0,93	N.S.
	Mujeres (4)		5,27 ± 1,06	4,69 ± 0,95	N.S.
	Hombres (3)		4,72 ± 1,12	4,48 ± 1,11	N.S.

* Promedio ± desviación estándar

** Número de Casos ()

En la tabla II se muestran los resultados de la agregación plaquetaria en personas fumadoras y no fumadoras. Se puede apreciar que aunque la diferencia no fué significativa, la agregación máxima fué mayor en el grupo fumador y la velocidad inicial de agregación después de añadir ADP, fué significativamente mayor en las personas fumadoras ($p < 0,05$). Esta diferencia se mantuvo cuando se consideraron las mujeres aparte (Tabla III), pero desapareció cuando se consideraron solo los hombres (Tabla IV). En la Fig. 1 puede observarse la agregación plaquetaria de una persona no fumadora (A) y la de una persona fumadora (B). Estos experimentos se repitieron en 4 personas de cada grupo, ajustando el PRP con PPP, hasta llevar el contejo plaquetario a $3,5 \times 10^5/\mu l$. Se pudo observar que la velocidad de agregación después de añadir ADP, era significativamente mayor en las mujeres fumadoras ($p < 0,05$), en cambio en las mujeres no fumadoras, la velocidad inicial era menor que en los hombres no fumadores ($p < 0,02$). (Tabla V).

TABLA II

AGREGACION PLAQUETARIA EN PERSONAS FUMADORAS Y NO FUMADORAS*

Grupo	Número de Casos	Epinefrina 3 X 10 ⁻⁶ M		ADP 3 X 10 ⁻⁶ M	
		Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min
Fumadoras	18	85,2±12,6	55,8±18,6	86,2±10,8	94,22± 8,1
No fumadoras	15	82,7±15,0	47,6±19,0	83,4±13,4	81,33±21,9
P		N.S.	N.S.	N.S.	< 0,05

* Promedio ± desviación estándar

TABLA III

AGREGACION PLAQUETARIA EN MUJERES*

Grupo	Número de Casos	Epinefrina 3 X 10 ⁻⁶ M		ADP 3 X 10 ⁻⁶ M	
		Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min
Fumadoras	10	87,1±14,9	60,6±15,0	90,5±11,1	97,6± 6,9
No fumadoras	8	79,8±17,6	47,8±18,6	82,3±14,5	73,6±25,6
P		N.S.	N.S.	N.S.	<0,05

* Promedio ± desviación estándar

TABLA IV

AGREGACION PLAQUETARIA EN HOMBRES*

Grupo	Número de Casos	Epinefrina 3 X 10 ⁻⁶ M		ADP 3 X 10 ⁻⁶ M	
		Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min
Fumadores	8	82,8± 9,4	49,8±21,5	80,8± 8,1	90,1± 7,6
No fumadores	7	85,8±11,8	47,4±20,9	84,6±12,9	90,1±13,7
P		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

* Promedio ± desviación estándar

TABLA V

**AGREGACION PLAQUETARIA EN PERSONAS FUMADORAS Y NO FUMADORAS
(PRP = 3,5 X 10⁵ plaquetas/ μ l)**

Grupo	Número de Casos	Epinefrina 3 X 10 ⁻⁶ M		ADP 3 X 10 ⁻⁶ M	
		Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min
Fumadoras*		85,0± 9,6	56,9±31,2	89,1± 4,7	93,9± 7,7
Mujeres	4	88,7±11,0	72,3± 4,1	93,5± 4,7	97,8± 3,3
Hombres	4	79,0± 6,2	52,0±25,0	82,0± 5,8	87,0± 5,8
P		N.S.	N.S.	N.S.	<0,05
No Fumadoras*		79,5±18,2	53,8±13,2	80,3±14,4	68,1±18,7
Mujeres	4	78,3±24,4	56,5±16,6	82,3±17,3	53,5± 6,4
Hombres	4	80,8±13,2	51,0±11,9	78,5±13,2	77,3± 8,5
P		N.S.	N.S.	N.S.	<0,02

* La diferencia entre el grupo de personas fumadoras y no fumadoras, solo fue significativa con respecto a velocidad inicial, después de agregar ADP (P < 0,01).

En la tabla VI se presentan las respuestas de 7 personas antes y después de fumar un cigarrillo. Se observa que la velocidad inicial de la agregación plaquetaria después de añadir epinefrina, aumentó significativamente después de fumar ($p < 0,001$) y lo mismo la velocidad inicial de la respuesta después de añadir ADP, aunque aquí la diferencia fué de menor significación ($p < 0,05$). La Fig. 2 corresponde a la agregación plaquetaria de un fumador habitual, antes e inmediatamente después de fumar un cigarrillo.

TABLA VI

**EFFECTO INMEDIATO DEL CIGARRILLO EN LA AGREGACION
PLAQUETARIA DE SIETE FUMADORES HABITUALES***

	<u>Epinefrina $3 \times 10^{-6} M$</u>		<u>ADP $3 \times 10^{-6} M$</u>	
	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min	Agregación Máxima %	Velocidad Inicial %/min
Antes de fumar	80,4±14,3	66,4±13,8	80,9±11,0	91,7±3,8
Después de fumar	94,4± 6,3	93,4± 8,4	91,6± 6,3	99,6±0,8
P	N.S.	< 0,001	N.S.	< 0,05

* Promedio ± desviación estándar

DISCUSION

Contrario a lo encontrado por Erikssen y cols (7), en el presente trabajo no se halló un mayor número de plaquetas en las personas fumadoras con respecto a las no fumadoras. Una explicación para esta diferencia de hallazgos podría ser nuestro menor número de casos; quizás con una mayor casuística las diferencias de los promedios hubiesen alcanzado significación estadística, sin embargo, el número de plaquetas inmediatamente después de fumar, tampoco fué significativamente diferente al de antes de fumar y los valores promedio fueron bajos. El hecho de que nuestros sujetos eran menores de 26 años y que los de Erikssen eran mayores de 40 años, pudiera ser una razón de las diferencias halladas.

La agregación plaquetaria fué mayor en el grupo de personas fumadoras, siendo estadísticamente significativa en la velocidad inicial de la respuesta al ADP. Se pudo constatar que esta diferencia ocurría en las mujeres, ya que al comparar éstas entre sí, la diferencia se mantenía; mientras que al comparar solo los hombres, los resultados eran estadísticamente similares.

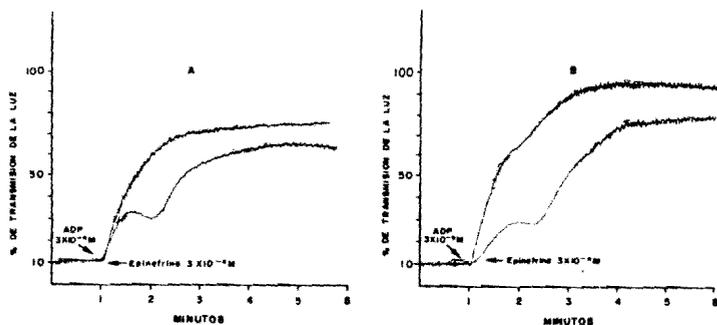


FIG. 1.—AGREGACIÓN PLAQUETARIA CON ADP Y EPINEFRINA EN UNA PERSONA NO FUMADORA (A) Y UNA PERSONA FUMADORA (B)

Fig. 1.— Agregación plaquetaria con ADP y Epinefrina en una persona no fumadora (A) y una persona fumadora (B).

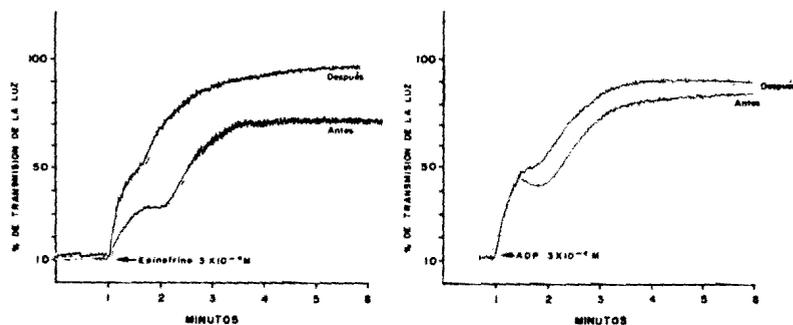


FIG. 2.— CASO G.A. ANTES E INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE FUMAR UN CIGARRILLO

Fig. 2.— Caso G.A. antes e inmediatamente después de fumar un cigarrillo.

La mayor sensibilidad de las plaquetas de las mujeres, a los agregantes habituales, ha sido descrita por otros autores (12, 14, 16). Recientemente Kelton y cols (13) señalaron que no existe una mayor sensibilidad plaquetaria en las mujeres, sino que al tener éstas menor hematocrito que los hombres, el citrato usado como anticoagulante, quedaba diluído en un mayor volumen de plasma, por lo tanto había mayor concentración de calcio y de ahí una mayor agregación. Aunque estos hallazgos parecen valederos *in vitro* y en condiciones normales, los hechos clínicos demuestran que esa no es la única razón; por ejemplo, los trabajos cooperativos sobre el efecto de la aspirina en la prevención de fenómenos tromboembólicos, mientras dieron resultados esperanzadores en los hombres, mostraron resultados negativos en las mujeres con riesgo de infarto (17) y lo mismo sucedió en la profilaxis de tromboembolismo en operaciones por fractura de la pelvis (10). En el presente trabajo no se puede invocar el menor hematocrito para explicar la mayor reactividad de las plaquetas de las mujeres después del cigarrillo, ya que se comparan las mujeres y los hombres por

separado; y por el contrario, la agregación plaquetaria de hombres y mujeres no fumadores, no fué significativamente diferente. Nosotros, al igual que Nordoy y cols (14), nos inclinamos a pensar que el sexo esté directamente involucrado en la reactividad plaquetaria, como lo sugiere el hecho de que en situaciones en las cuales el nivel de estrógenos sube, como en el embarazo y durante el uso de anticonceptivos orales, la función plaquetaria se encuentra aumentada (4, 15) y el riesgo a fenómenos tromboembólicos en estos casos, aumenta considerablemente si la mujer fuma (15).

Nuestros hallazgos indican que el hábito de fumar, tiene un efecto mantenido de aumento de la agregación plaquetaria inducida in vitro por ADP y un efecto inmediato donde se registra una gran sensibilidad plaquetaria a la epinefrina, probablemente debida esta última al efecto combinado de la epinefrina exógena y al aumento de la liberada por el organismo como resultado de fumar (6). Estos cambios son significativamente más evidentes en las plaquetas provenientes de mujeres, siendo aparentemente independientes de los valores del hematocrito o de una variación del conteo plaquetario.

Agradecimiento

Este trabajo fué realizado en parte, mediante una subvención del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia.

ABSTRACT

Effect of cigarette smoking on platelet aggregation in young people. *Bracho M., Luzardo A., Manzol S., Diez-Ewald M. Instituto de Investigaciones Clínicas. Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela). Invest Clín 22(1): 3-12, 1981.*— Platelet aggregation in eighteen young smokers and fifteen non smokers of similar age was compared. A significant increase in the initial velocity of aggregation after ADP was observed in the group of smokers. When the population was further separated according to sex, it was found that the observation of increased aggregation in smokers was due to the presence of women in the group. Seven persons were studied before and immediately after smoking one cigarette, and again the initial velocity of aggregation with ADP was increased, but a more significant increment was found in the initial velocity of aggregation with epinephrine. Our findings are in accordance with the assumption that in women, the platelets are more sensitive to the effect of cigarette smoking than in men, and that the platelet reactivity to epinephrine increases after smoking one cigarette.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ASHBY P, DALBY AM, MILLAR JHD: Smoking and platelet stickiness. *Lancet* 2: 158-159, 1965.
- 2- ASTRUP P: Carbon monoxide, smoking and atherosclerosis. *Postgrad Med* 49: 697-706, 1973.
- 3- BALL K, TURNER R: Smoking and the heart: The basis for action. *Lancet* 2: 822-826, 1974.
- 4- BIEREMBAUM ML, FLEISCHMAN AI, STIER A, WATSON P, SOMOL H, NASO AM, BINDER M: Increased platelet aggregation and decreased high-density lipoprotein cholesterol in women on oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 134: 638-641, 1979.
- 5- BREDDIN K, KRZYWNEK HJ, BALD M, KUTSCHERA J: Is enhance platelet aggregation a risk for thromboembolic complications in atherosclerosis. In: *Platelet aggregation and drugs*. Caprino L, Ross EC, eds., p. 197. Academic Press. New York, 1974.
- 6- CRYER PE, HAYMOND MW, SANTIAGO JV, SHAH SD: Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med* 295: 573-577, 1976.
- 7- ERIKSSON J, HELLEM A, STORMORKEN H: Chronic effects of smoking on platelet count and platelet adhesiveness in presumably healthy middle-aged men. *Thrombos Haemostas* 38: 606-611, 1977.
- 8- GRIGNANI G, GAMBA G, ASCARI E: Cigarette smoking effect on platelet function. *Thrombos Haemostas* 37: 423-428, 1977.
- 9- HAMMOND EC, HORN DJ: The relationship between human smoking habits and death rates. *JAMA* 155: 1316-1328, 1954.
- 10- HARRIS WH, SALZMAN EW, ATHANASOULIS CA: Aspirin prophylaxis of venous thromboembolism after total hip replacement. *N Engl J Med* 297: 1246-1249, 1977.
- 11- HAWKINS RI: Smoking platelets and thrombosis. *Nature* 236: 450-452, 1972.
- 12- JOHNSON M, RAMEY W, RAMWELL PW: Sex and age differences in human platelet aggregation. *Nature* 253: 355-357, 1975.
- 13- KELTON JG, POWERS P, JULIAN J, BOLAND V, CARTER CJ, GENT M, HIRSCH J: Sex related differences in platelet aggregation: influence of the hematocrit. *Blood* 56: 38-41, 1980.

- 14- NORDOY A, SVENSSON B, HAYCRAFT D, HOAK JC, WIEBE D:
The influence of age, sex and the use of oral contraceptives on the
inhibitory effects of endothelial cells and PGI₂ (prostacyclin) on
platelet function. Scand J Haematol 21: 177-187, 1978.
 - 15- PETTITI DB, WINGERD J, PELLEGRIN F, RAMCHARAN S: Risk
of vascular disease in women. Smoking, oral contraceptives, noncon-
traceptives estrogens, and others factors. JAMA 242: 1150-1154,
1979.
 - 16- ROPER P, DREWING MD, HASLER D, JONHSTON D, HESTER
J, FREIREICH EJ: Effects of time, platelet concentration and sex
on the human platelet aggregation response. Am J Clin Path 71: 263-
268, 1979.
 - 17- THE CANADIAN COOPERATIVE STUDY GROUP: A randomized
trial of aspirin and sulfinpyrazone in threatend stroke. N Engl J Med
299: 53-59, 1978.
 - 18- WHO TECHNICAL REPORT SERIES: Smoking and its effects on
health. Report of a WHO expert committee. WHO Technical report
series N° 568 WHO, Ginebra.
 - 19- WU KK, HOAK JC: A new method for the quantitative detection of
platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. Lancet 2:
924-926, 1974.
-