



EFFECTOS DEL ALCOHOL SOBRE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA

Amada Domínguez¹, Gisela Bethancourt², José Young³

¹Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Departamento de Genética y Biología Molecular

²Universidad de Panamá, Instituto Especializado de Análisis

³Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Departamento de Fisiología y Comportamiento Animal

RESUMEN

El consumo de alcohol está asociado al riesgo de enfermedad tromboembólica y a complicaciones de enfermedad cardiaca las cuales en parte tienen su origen en la disfunción plaquetaria producida por la ingesta de alcohol. En un grupo de 15 sujetos se encontró inhibición de la agregación de las plaquetas en plasma rico en plaquetas medida con la técnica de agregometría luego del consumo moderado (13 gramos) de alcohol comercial, de manera aguda, con una concentración sanguínea media de 0,2133 g/L. La inhibición fue significativa ($p = 0,05$) en los casos de los agonistas epinefrina, ristocetina y ADP (13%; 7,3%; 4,8%; respectivamente). El efecto inhibitorio fue más acentuado en las mujeres que en los hombres. Este efecto se demostró independiente de flavonoides y taninos. La importancia del estudio radica en que el consumo de bajas dosis de alcohol podría contribuir a la prevención de procesos trombo-embólicos que generan infarto agudo de miocardio o isquemia cerebral.

PALABRAS CLAVES

Plaquetas, agregación, alcohol, tromboembolia, infarto.

ABSTRACT

Alcohol consumption is associated to higher risk for thromboembolic disease and heart disease complications produced in part by platelet impairment related to alcohol ingestion. Using the aggregometry technique, in a group of 15 individuals, acute inhibition of platelet aggregation was found in platelet rich plasma under moderate alcohol consumption (13 g) with a blood alcohol concentration of 0,2133 g/L. The inhibition of platelet aggregation was significant ($p = 0,05$) with epinephrine,

ristocetin and ADP (13%; 7,3%; 4,8%; respectively). The inhibitory effect was greater in women than in men. The study demonstrates a flavonoid or tannin independent effect. The importance of low alcohol consumption might be in the prevention of thrombo-embolic processes leading to myocardial infarction or stroke.

KEYWORDS

Platelet aggregation, alcohol, stroke, thrombus, emboli.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de enfermedades cardiovasculares y el consumo de alcohol ocupan cifras importantes en las estadísticas de salud de nuestra población. (OEA/CICAD 2003).

El alcohol tiene diversos efectos sobre el sistema cardiovascular, a nivel de las arterias coronarias, la presión arterial y los mecanismos trombóticos (Ballard 1997). Estos últimos son un factor sumamente importante en la génesis de la enfermedad isquémica cardiaca y cerebral. Se sabe que el consumo moderado de alcohol tiene acción sobre las plaquetas (Rand et al., 1990; Renaud & Ruf 1996; Zhang et al., 2000). La Asociación Americana de Medicina señala que el consumo de menos de 12 gramos de alcohol se relaciona con 20% menos riesgo de ataque isquémico y el consumo de más de 60 gramos incrementa el riesgo de ataque isquémico y hemorrágico. (Stampfer et al., 1988; Goldberg et al., 2001; Reynolds et al., 2003).

Además del efecto tóxico directo, el etanol posiblemente tenga acciones en varios mecanismos fisiológicos de la hemostasia y coagulación, los cuales varían con el tipo de bebida debido a la presencia de jugos de frutas y taninos; el tiempo de consumo y la interacción con la dieta (Numminen 2000; Rubin & Rand 1994; Pearson 1996). Los estudios sobre la relación alcohol - agregación plaquetaria inducida por trombina no ha mostrado resultados consistentes (Elmér et al., 1984; Hendriks et al., 1994). El uso terapéutico de la aspirina ha sido la regla para la prevención del desarrollo de los trombos, no obstante, el uso de alcohol a bajas dosis y de otras sustancias no alcohólicas podría ser importante en el control y la evolución de enfermedades hematológicas que se presentan en las personas que ingieren alcohol (Stein et al., 1999; Reynolds et al., 2003).

En este estudio se presentan resultados de los efectos del consumo agudo de alcohol a dosis bajas sobre la agregación de las plaquetas, medida a través de la técnica de agregometría con agonistas de uso clínico como la epinefrina, colágeno, ADP y ristocetina.

MATERIALES Y MÉTODOS

- A. **Sujetos:** un total de 15 sujetos (7 femeninos, 8 masculinos) fueron seleccionados, después de verificar a través de una entrevista, si cumplían con los criterios de no estar bajo medicación con antiinflamatorios, no haber ingerido bebidas alcohólicas al menos durante dos semanas, no padecer de enfermedad hematológica ni cardiovascular. A cada sujeto se le explicó detalladamente la investigación y firmó una proforma de consentimiento informado. El grupo comprendía edades entre 20-42 años y peso corporal entre 56,36 Kg. a 105,45 Kg.
- B. **Dosis de alcohol:** se utilizó alcohol comercial 35°-37° g/L de uso legal para consumo humano aprobado por el Ministerio de Salud. La dosis calculada fue de 0,3 g de alcohol/ Kg. de peso corporal (Bailey 1995). La concentración sanguínea de alcohol se calculó usando el programa *on line* de Craig Medical, Inc. USA con los datos de cada sujeto como punto de referencia.
- C. **Preparación del PRP, del PPP y pruebas de agregación plaquetaria:**
- i. Se extrajeron 10 mL de sangre venosa anticoagulada con citrato de sodio al 3,8%.
 - ii. Para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP) se centrifugó la muestra de sangre a 10g durante 5-7 minutos. El PRP se distribuyó en alícuotas de 450uL incubadas 3 min. a 37°C en el agregómetro y homogenizadas con un agitador metálico a 1200 rpm antes de la prueba.
 - iii. Para obtener el Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) se centrifugó la muestra a 20g durante 10 minutos. El sobrenadante se conserva como PPP y es usado como blanco.
 - iv. Agregación plaquetaria: Reactivos agregantes (Helena Laboratories, USA): epinefrina (300uM); colágeno (10ug/mL); ADP (20uM), ristocetina (1,5mg/mL); todas son concentraciones finales. Se utilizó un agregómetro Chronolog modelo 560 con interface 810/DR Aggro/link y programa

810 Aggro/link (Pennsylvania, USA) mezclando 450 uL de muestra con 50 uL de agregante.

D. **Procedimiento:** una vez seleccionados los sujetos, fueron pesados y su dosis de alcohol calculada. Se extrajo una muestra de sangre control (sin alcohol) y 45 minutos después de ingerir el alcohol se extrajo la segunda muestra. Ambas muestras fueron procesadas como se indica en el punto C y se procedió a la agregación plaquetaria con colágeno, epinefrina, ADP y ristocetina. Se obtuvieron los resultados de porcentaje de agregación y pendiente de la curva de agregación con cada agregante de cada muestra para su análisis posterior.

E. **Tratamiento estadístico:** prueba *t* para medidas repetidas con nivel de confianza 0,05. (Horvath, 1985).

Variable independiente: ingesta de alcohol
Variable dependiente: agregación plaquetaria

H₀: % de agregación sin alcohol = % de agregación con alcohol

H₁: % de agregación sin alcohol > % de agregación con alcohol

RESULTADOS

En todos los casos se observó inhibición de la agregación plaquetaria después de 45-60 minutos de la ingesta de alcohol; la media de ingesta de alcohol fue de $13,01 \pm 10,86$ gramos con una concentración sanguínea media calculada de $0,2133 \pm 0,012$ g/L de sangre. Las pruebas de agregación plaquetaria fueron realizadas siguiendo los estándares del Laboratorio de Hematología Especial del Complejo Hospitalario Metropolitano (CSS, Panamá). Fig 1,2,3.

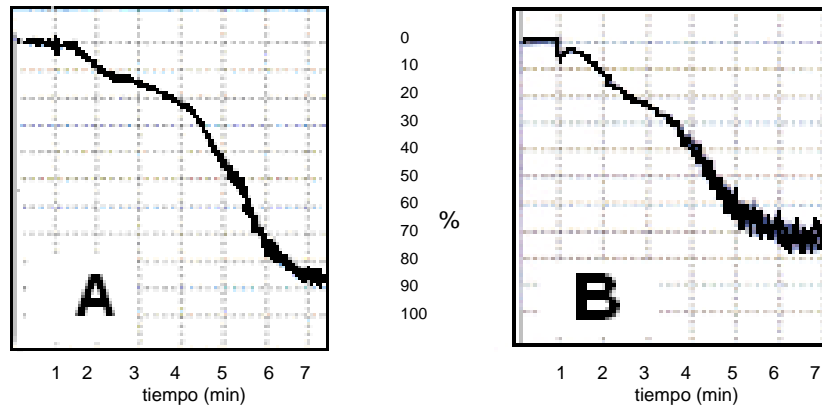


Fig. 1. Curvas representativas de porcentaje de agregación plaquetaria, en mujeres, estimulada por epinefrina, **A**: control (88%); **B** experimental (77%).

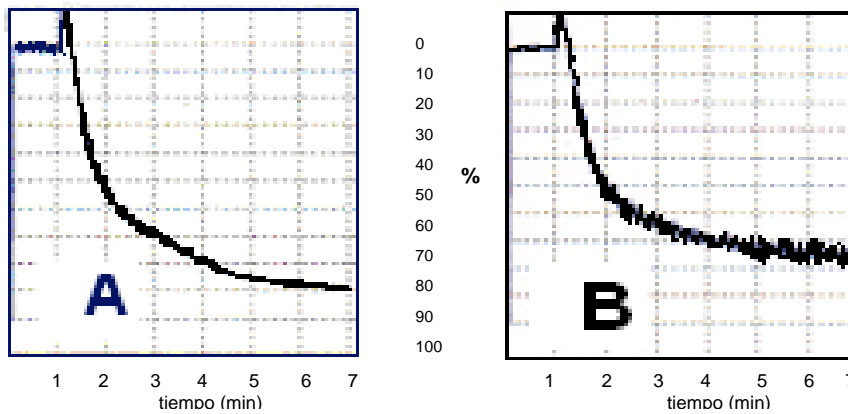


Fig. 2. Curvas representativas de agregación plaquetaria, en mujeres, estimulada por ADP. **A**: control (87%); **B** experimental (79%).

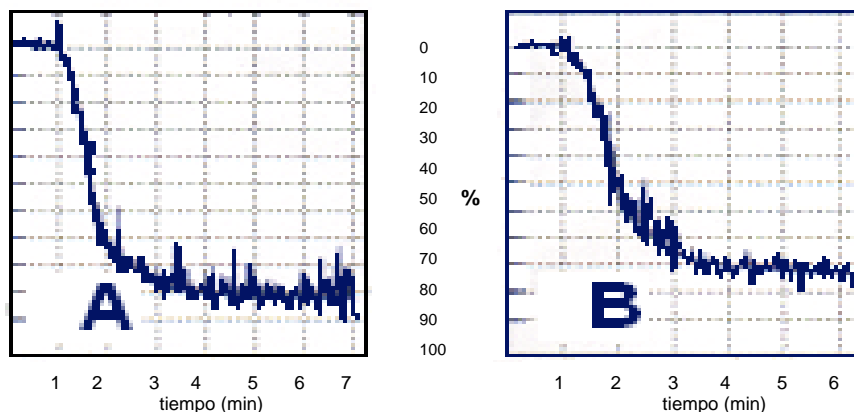


Fig. 3. Curvas representativas de agregación plaquetaria, en mujeres, estimulada por ristocetina. **A**: control (93%); **B** experimental (80%).

La mayor variación porcentual se observó en el caso de la agregación plaquetaria inducida por epinefrina (13%), seguida de ristocetina (RIPA) (7,3%), ADP (4,8%) y colágeno (2,3%). Fig 4.

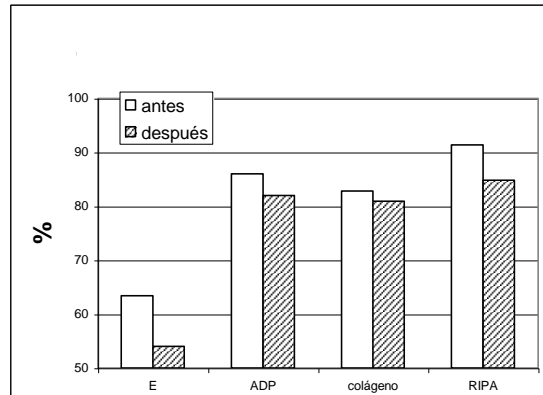


Fig. 4. Cambios del porcentaje de agregación plaquetaria.

Cuando se agrupan los valores de acuerdo al sexo se observa en las mujeres (n=7) un efecto más pronunciado ya que el mayor porcentaje de inhibición con la epinefrina fue de 16,05% y con el ADP 6,99%, mientras que el sexo masculino (n=8) las variaciones fueron menores. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Disminución porcentual de la agregación plaquetaria después de la ingesta de alcohol según sexo.

	Porcentajes de disminución			
	Epinefrina	ADP	Colágeno	RIPA
TOTAL (n=15)	13,00	4,80	2,30	7,30
Valor <i>t</i>	2,503*	2,67*	0,7608 ^{ns}	3,11**
Mujeres (n=7)	16,05	6,99	2,14	5,64
Hombres (n=8)	3,47	2,48	1,73	8,72

ns: no significativo; *: $p = 0.05$; **: $p = 0.01$

DISCUSIÓN

La Organización Mundial de la Salud define el alcoholismo como la ingestión diaria de más de 50g de alcohol en las mujeres y más de 70g en los hombres, estas cantidades producirán en muchos casos hepatopatía alcohólica. El organismo tolera sin problemas dosis moderadas de alcohol las cuales son consideradas entre 10-30g diarios (Consumer 2002), esta “tolerancia” se explica porque el hígado a través de la deshidrogenasa alcohólica lo metaboliza en aproximadamente una hora. En nuestro estudio utilizamos una dosis de 13g de alcohol, lo cual es considerado un consumo moderado, con esta cantidad encontramos inhibición de la agregación plaquetaria con la epinefrina, ADP, colágeno y ristocetina hecho que es importante en la prevención del desarrollo de enfermedad tromboembólica y estaría asociado a los hallazgos de disminución del riesgo relativo de enfermedad coronaria y de ataques isquémicos (Stampfer et al., 1988). El mecanismo exacto de esta disminución permanece elusivo, se ha sugerido aporte del óxido nítrico (NO), de la adenosina y los flavonoides (Demrow et al., 1995). Se sabe que el consumo moderado no tiene efecto significativo sobre alteraciones del plasminógeno, fibrinógeno, tPA tipo 1, el factor VII ni el factor von Willebrand (Dunn et al., 1981; Lijnen & Collen 1995; Rimm 2000) sin embargo, ya se habían publicado reportes (Hendriks 1994) de que la ingesta moderada de alcohol junto con una comida aumentaba los niveles de activador del plasminógeno. El mecanismo por el cual el alcohol actúa disminuyendo la agregación plaquetaria podría ser por inhibición de la liberación de TXB₂ o por aumento de PGI₂ ya que el acetaldehído producto de la acción de la alcohol deshidrogenasa aumenta los niveles de PGI₂, por consiguiente el efecto neto del alcohol residiría en un desbalance de la relación PGI₂/TXB₂ que llevaría a una inhibición de la agregación con disminución del riesgo de enfermedad trombótica. Estamos de acuerdo con otros autores (Zhang et al., 2000; Goldberg et al., 2001) que el alcohol *per se* tiene efectos antiagregantes ya que usamos alcohol sin taninos o flavonoides a los cuales se les adjudica la acción inhibitoria (Stein 1999) y encontramos inhibición con significancia estadística en tres de los cuatro ensayos (n = 15) (Cuadro 1). Una inhibición plaquetaria significativa que se logra si la concentración sanguínea de alcohol supera 0,15g/L (Séller & Folts 1990), logramos la inhibición con una concentración media de alcohol en sangre de 0,21± 0,012g/L.

El efecto agregante de la epinefrina sobre las plaquetas es directo debido a la presencia de receptores α_2 y β_2 los cuales varían su densidad relativa de acuerdo a la especie (Rifkind et al., 1984). En nuestro estudio se obtuvo la mayor inhibición de la agregación tanto en hombres como en mujeres (13%; $p= 0,05$) lo que puede explicarse porque la exposición de las plaquetas intactas a la epinefrina reduce la afinidad aparente de los receptores α_2 . (Hollister et al., 1983; Siess 1989; Wang & Cheng 1999). Esta exposición a epinefrina endógena, que es efectiva por 1-2 horas, sería suficiente para disminuir la agregación observada en el estudio y que pudo haberse iniciado desde el pesaje del sujeto y la extracción de la muestra. Con los agonistas ristocetina y ADP fue menor el porcentaje de inhibición de la agregación. Los reportes con ADP son controversiales (Renaud & Ruf 1996; Zhang et al., 2000) dado el hecho de que el ADP es convertido por las plaquetas a adenosina la cual a su vez se metaboliza en AMP y ATP. El consenso es una inhibición de la agregación epinefrina dependiente ya que ésta última aumenta la afinidad del receptor que sería el resultado que se encontró en nuestro estudio. La ristocetina es un antibiótico que se usa en estudios clínicos de evaluación de pacientes con alteraciones de la fisiología del factor von Willebrand (vW) por su interacción con el receptor de glicoproteína Ib (GPIb). Se ha reportado inhibición de la agregación plaquetaria inducida por ristocetina y de la formación de trombos al inhibir la interacción de la GPIb con el factor vW con el uso de flavonoides (Mruk et al., 2000). En nuestro estudio se encontró inhibición de la agregación inducida por ristocetina a bajas dosis de alcohol e independiente de flavonoides.

CONCLUSIÓN

El consumo moderado agudo de alcohol comercial (13 gramos) inhibe la agregación de las plaquetas en PRP inducida por epinefrina (13%; $p = 0,05$), ristocetina (7,3%; $p = 0,01$) y ADP (4,8%) ($p = 0,05$). El efecto es independiente de taninos o flavonoides y más notable en el sexo femenino (16% de inhibición con epinefrina).

REFERENCIAS

Ballard, H. 1997. Haematological complications of alcoholism. *Alcohol Health & Res. World* 21(1):42-52.

Bailey, W. 1995. Fact line on Alcohol Doses, Measurements and blood Alcohol, Levels. Indiana Prevention Resource Center. The Trustees of Indiana University.

Consumer (editorial). 2002. Alcohol en la alimentación, afecta al organismo más de lo que creemos. Revista N° 61. España.

Demrow, H.S., P.R. Slane & J.D. Folts. 1995. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation*. 91: 1182–1188.

Dunn, E.L., R.G. Cohen, E. E. Moore & R. D. Hamstra. 1981. Acute alcohol ingestion and platelet function. *Arch. Surg.* Vol 116 (8):1082-1083.

Elmér, O. G. Göransson & E. Zoucas. 1984. Impairment of primary hemostasis and platelet function after ethanol ingestion in man. *Haemostasis* 14:223-228.

Goldberg, I.J. L. Mosca, E. Fisher & M.R. Piano. 2001. AHA Science Advisory: Wine and your heart: a science advisory for healthcare professionals from the Nutrition Committee, Council on Epidemiology and Prevention, and Council on Cardiovascular Nursing of the American Heart Association. *Circulation* 103: 472–475.

Hendriks, H.F., J. Veenstra, Veithuiste Wierick EJM, G. Schaafsma & C. Kluft. 1994. Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. *Br Med J*. 308:1003-1006.

Hollister, A.S., G.A. Fitzgerald, J.H. Nadeau, D. Robertson. 1983. Acute reduction in human alpha 2 adrenoreceptor affinity for agonist by endogenous and exogenous catecholamines. *J Clin. Invest.* 72(4):1498-1505.

Horvath, T. 1985. *Basic Statistics for Behavioral Sciences*. Little Brown and Co. USA.

Keller, J.W. & J. Folts. 1990. Combined inhibitory effects of aspirin and ethanol on adrenaline exacerbation of acute platelet thrombus formation in stenosed canine coronary. *Cardiovas. Res.* 24: 191–197.

Lijnen, H.R. & D. Collen. 1995. Mechanism of physiological fibrinolysis. *Clinical Haematology*. Bailliere Tindall Inc. pp 277-290.

Mruk, J., M. Webster, M. Heras, J. Reid, D. Grill, J. Chesebro. 2000. Flovone-8-acetic acid profoundly reduces platelet-dependent thrombosis and vasoconstriction after deep arterial injury in vivo. *Circulation*. 101(3):324.

Numminen, H. 2000. Actions of alcohol and ischemic brain infarction. Academic Dissertation. University of Oulu Library©, Finland.

OEA/CICAD, 2003. Organización de los Estados Americanos. Estudio comparativo del consumo de drogas en países americanos. Pág. 90-96.

Pearson, T. 1996. Alcohol and heart disease. American Heart Assoc. Scientific Statement. *Circulation* 94:3023-3025.

Rand, M.L., H.M. Groves, M.A. Packham, J.F. Mustard & R. L. Kinlough-Rathbone. 1990. Acute administration of ethanol to rabbits inhibits thrombus formation induced by indwelling aortic catheters. *Lab. Invest.*, 63, 742-745.

Renaud, S.C. & J.C. Ruf. 1996. Effects of alcohol on platelet functions. *Clin Chim Acta* 246:77-89.

Reynolds, K., L. Brian Lewis, J.D. Nolen, G.L. Kinney, B. Sathya & J. He. 2003. Alcohol consumption and risk of stroke: a meta – analysis. *JAMA* Vol. 289:579-588.

Rifkind, R., A. Bank, P. Marrks, H. Nossel & E. Rose. 1984. *Fundamentals of Hematology*. 2nd edition. Year Book Medical Publishers. USA.

Rimm, E.B. 2000. How does alcohol lower heart disease risk? *Br Med J*.319:1523-1528.

Rubin, R. & M. Rand. 1994. Alcohol and platelet function. *Alcohol Clin Exp Res* 18:105-110.

Siess, W. 1989. Molecular Mechanism of Platelet Activation. *Physiological Reviews* vol. 69 N° 1:58-159.

Stampfer, M.J., G.A. Colditz, W.C. Willet, F.E. Speizer, C.H. Hennekens. 1988. A prospective study of moderate alcohol consumption and the risk of coronary disease and stroke in women. *NEJM* vol. 319; N°5:267-273.

Stein, J.H., J.G. Keevil, D. Wiebe, S. Aeschlimann, J.D. Folts. 1999. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 100: 1050–1055.

Wang, Jong-Shyan & Lee-Ju Cheng. 1999. Effect of Strenuous, Acute Exercise on 2-Adrenergic Agonist–Potentiated Platelet Activation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 19:1559-1565.

Zhang, Q.H., S. Das, S. Siddiqui & A. Myers. 2000. Effects of Acute, Moderate Ethanol Consumption on Human Platelet Aggregation in Platelet Rich Plasma and.

Agradecimiento

Agradecemos mucho a todas las personas que se ofrecieron como voluntarios para las pruebas. Este proyecto se realizó gracias a la cooperación del Laboratorio de Hematología Especial del Complejo Hospitalario Arnulfo Arias Madrid de la Caja de Seguro Social, en especial a los licenciados Luis Ortiz y Pitágoras Ureña.

Recibido noviembre de 2003, aceptado junio de 2004.