

ACCION DE LOS CAMBIOS HORMONALES SOBRE LA FUNCION PLAQUETARIA EN NATIVOS DE LA ALTURA

Armando Rodríguez - Biotecnólogo *
Patricia C. de Trigo - Bióloga **
Roxana de Escobar***
Patricia Alvarado ****
Patricia Alvarez ****
Johanna Sandoval ****
Fidel Trujillo ****
Oscar Sanchez ****

RESUMEN

El objetivo de nuestro trabajo, sobre las hormonas sexuales Progesterona y Estrógenos, tiene por finalidad ver que cambios producen en la función plaquetaria, tanto en su parte cualitativa y cuantitativa, ya que se observa con mucha frecuencia la presencia de hematomas, fragilidad capilar (petequias) en el sexo femenino, por lo que estudiamos 50 mujeres, en las que se tomó muestra de sangre pre y post menstruación, en edades comprendidas entre 18 a 30 años, comparando con mujeres menopáusicas y varones de las mismas edades. En todos los casos se realizó una Ficha Clínica.

Los parámetros estudiados fueron la prueba de Rumpell-Lee, la agregación plaquetaria con inductores tales como el ADP a diferente concentración, colágeno y además la relación genética con la determinación de grupo sanguíneo.

Los resultados nos demuestran que existe una fragilidad capilar aumentada después del ciclo: 15 petequias, a 20 cm Hg (Normal de 2-6; $p < 0.05$), el conteo plaquetario en P.R.P. está bajo $< 300.000 \times \text{mm}^3$; $p < .001$), en relación a los varones $> 500.000 \times \text{mm}^3$ y mujeres menopáusicas que no tienen los ciclos hormonales ováricos; la agregación con A.D.P. a 2,5 μM final es de 50% ($p=0.05$) antes, y 40% después. Estos demuestran primeramente la hipoagregación del nativo de altura y la acción hormonal por la que observamos la presencia de hematomas y fragilidad capilar.

En cuanto al grupo sanguíneo, en nuestro muestreo los grupos sanguíneos O, es de 60% de agregación;

el grupo A, un 47%, tanto en un grupo B y AB, un 35%. Con estos datos concluimos que la acción genética muestra que es más baja la agregación en los grupos a-b-ab. Finalmente, los valores hormonales en nuestro medio dados por el Instituto de Medicina Nuclear es: para Estradiol= 30 pg/ml y Progesterona = 30 ng/ml.

PALABRAS CLAVES

Hormonas, plaquetas, hematomas, agregación. PRP, PPP

INTRODUCCION

En la mujer el ciclo menstrual produce cambios hormonales cíclicos de interés fisiológico y clínico, de una duración promedio de 28 días.

En la primera mitad del ciclo, se produce la ovulación. En esta etapa, hay aumento Estrogénico y, en la segunda mitad del ciclo o fase post-ovulatoria, se produce un aumento progestacional (Cuadro 1), que provoca cambios fisiológicos en el organismos (1, 2, 3, 4).

Los estrógenos y progestinas, son esteroides producidos principalmente por el ovario y poseen actividad estrogénica, con 18 átomos y 21 átomos de carbono respectivamente.

Estudios sobre la función de las plaquetas en los nativos del altiplano de ambos sexos, en edades comprendidas entre 4 a 40 años (5, 6) han demostrado que existe una hipoagregabilidad plaquetaria y desagregación muy significativa, en comparación con sujetos que viven a nivel del mar.

Este estudio se realizó en las mismas condiciones que a nivel del mar y utilizando la misma metodología (7).

El objetivo de este trabajo, es determinar los cambios provocados en el sexo femenino durante el ciclo

* Responsable Dpto Hematología I.B.B.A. - U.M.S.A.

** Responsable Dpto. Embriología I.B.B.A. - U.M.S.A.

*** Tecnología Dpto. Embriología I.B.B.A. - U.M.S.A.

**** Universitarios Fac. Bioquímica - U.M.S.A.

mestrua, sobre la fisiología plaquetaria, especialmente la agregación, debido a que se observa con frecuencia, hematomas y petequias de la piel en nuestro medio; por lo tanto, consideramos que este estudio contribuirá a interpretar mejor los problemas que presenta la mujer en la altura.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó en el presente trabajo, 50 mujeres en edades comprendidas entre 18 y 30 años, sanas, sin alteraciones del ciclo mestrua, 20 mujeres menopáusicas y 20 varones de edad similar nativos de la altura. Todos los casos tuvieron una Ficha de Encuesta Clínica, para determinar edad, menarquia, duración del ciclo y no utilización de ningún fármaco (anticonceptivos).

Se obtuvo muestra de 10 cc. de sangre venosa, pre y post mestrua y en los sujetos controles, en ayunas utilizando un volumen de citrato de sodio al 3.8% más 9 ml de sangre, en jeringas desechables de 12 cc.

También se realizó la prueba de Rumpell-Lee (angiosteroómetro) a una presión de 20 cm/Hg/1 min; al cabo del cual, se realizó la lectura de las petequias, dando la lectura por el sistema de Positividad (+).

Las muestras se procesaron de inmediato, centrifugando a 900 r.p.m./9 min a 4°C (centrífuga Jouan); con la cual obtenemos un primer sobrenadante y que se lo denomina "plasma rico en plaquetas (P.R.P.)", que se conserva en una cubeta con hielo.

Se procede a una segunda centrifugación entre 2.500 a 3.000 r.p.m./10 min a 4°C, con lo cual obtenemos "plasma pobre en plaquetas" (P.P.P.).

Con el P.R.P. se realiza una numeración de las plaquetas, en la cámara de Malazzes, las plaquetas son diluidas con el reactivo de Unopette (Becton Dickson, USA); estas plaquetas diluidas, se cargan en la cámara de conteo, dejando en reposo 20 minutos en cámara húmeda, y se observa al microscopio con aumento de 40X, con contraste de fase. Dicha numeración nos dará el número de plaquetas por mm³, la cual debe oscilar entre 200.000 ó más de 300.000 para realizar la agregación. Si existiera una mayor cantidad se realiza la dilución con su propio plasma (P.P.P.).

Los agentes inductores empleados fueron el A.D.P. (Adenosin 5-Difosfato-Sigma); colágeno (S.T.A.GO). El estudio de la función plaquetaria, se realizó por el método turbidimétrico de BORN a 37°C.

El equipo empleado fue un agregómetro (I.C.A.R.E.), con registrador y jeringas Hamilton. (ul).

La lectura se realiza sobre la gráfica que se observa en cada caso, midiendo la velocidad e intensidad, que se calcula con la fórmula.

Velocidad D.O.M. cm.

$$\delta = \text{-----} \times 100$$

Intensidad Area de Calibracion

Para el colágeno, se toma la velocidad e intensidad y el tiempo de latencia:

T lat = en minutos

Los métodos Estadísticos empleados fueron el test de Studente Anova.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran una variación en la fragilidad capilar. La prueba de Rumpell-Lee, 15 petequias después de la menstruación ($p=0.05$); la numeración de plaquetas, en el P.R.P., nos muestra diferencia cuantitativa de $<300.000 \times \text{mm}^3$ muy importante ($p=0.001$). (Cuadro 2).

La función cualitativa de la plaquetas en nuestro medio según estudios realizados, nos muestra una hipoadgregación con desagregación plaquetaria, (40%-60%) en la altura y (70%-100%) en la costa. Después de la menstruación, se observa la disminución de función plaquetaria, (40%-50%), en relación a los niveles hormonales de esteroides, que sufren una disminución evidente en este período. ($p=0.05$).

El plasma rico en plaquetas (P.R.P.) de todos los sujetos estudiados, fueron puestos en contacto con diferentes concentraciones de a.d.p., a 2,5 uM; 1,2 uM final y, colágeno a 100 gammas. (Cuadro 3).

DISCUSION

En función a los resultados, se demuestra una variación en la fragilidad capilar, lo que explicará la presencia de petequias por ruptura de capilares, produciendo una fragilidad significativa ($p=0.05$).

En cuanto al número de plaquetas, se observa una variación significativa ($p=0.001$), al igual que la parte cualitativa ($p=0.05$), donde encontramos una hipoadgregación plaquetaria después de la menstruación, en relación a los grupos controles. Se realizó el mismo estudio en las mujeres menopausicas y varones de las mismas edades los cuales no presentan ciclos hormonales.

Este fenómeno de hipoadgregación se lo conoce por trabajos realizados con el Prof. J. Caen, (Francia) en La Paz (Bolivia), donde se demostró que existen factores genéticos, nutricionales y ambientales, que coadyuvan a la ausencia de formación de trombos en los nativos de altura. Esta ausencia, se debe a que las plaquetas no agregan al igual que en la costa; lo que

trae como consecuencia, una hipoagregación y desagregación simultánea; es decir, que la cantidad de plaquetas llegan a valores altos (400.000 x mm³), pero estos no tienen la capacidad de agregación rápida, como se observa a nivel del mar.

Esto conlleva una verdadera protección contra las enfermedades trombóticas, ya que las plaquetas después de agregarse, se desagregan rápidamente, lo cual explicaría la menor incidencia de accidentes trombóticos en la altura.

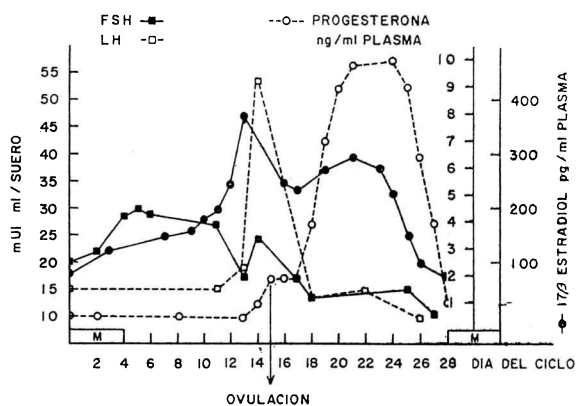
Nuestro objetivo fue comprobar la influencia de las Hormonas Sexuales (estrógenos y progesterona) en la función plaquetaria de mujeres cíclicamente activas, menopáusicas y en varones, y su relación con la hipoagregación en la altura. Utilizamos estos grupos, para demostrar que el sexo femenino presenta con mayor frecuencia una fragilidad capilar elevada respecto al sexo masculino, (petequias, hematomas).

Según Punnoven et al. 1975, los niveles de 17 B-estradiol pg/ml de plasma se encuentran en su nivel máximo en el período previo a la ovulación (24 horas), y los niveles de Progesterona en ng/ml de plasma, encuentra un "plateau" entre los días 20 y 24 del ciclo, previo al período menstrual.

En la altura, según valores del INAMEN, los niveles de Estradiol son de 30 pg/ml y Progesterona de 30 ng/ml; y en la costa, los niveles de Progesterona en la fase lútea son de 1.2-20 ng/ml, y en la fase folicular, 2 ng/ml.

Los estrógenos a nivel Basal, de 20-60 pg/ml y en la subida ovulatoria, 200 pg/ml.

Tabla I



Variación en la concentración de gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) y de esteroides ováricos (17 B estradiol y Progesterona) a través del ciclo menstrual en la mujer (Punnoven et al. 1975. Arrau, J. et al.: Biología de la Reproducción Animal.

Tabla 2

Valores obtenidos para la fragilidad capilar con angioterómetro y recuento de plaquetas en plasma Rico (P.R.P.), antes y después de ciclo menstrual.

Numero	Antes	Despues	Significancia (p)
Fragilidad Capilar (Petequias)	4	15	0,05
Recuento en P.R.P. X mm ³	450.000	288.000	0,001

Tabla 3

Valores sobre la agregación inducida por adenosina 5-Difosfato, A.D.P. 2.5 p. M y 1.2 p. M final y COLAGENO a 100 J, antes y después del ciclo menstrual.

	2.5 P. M Final	1.2 P. M. Final	Colageno
Antes	62%	51%	66%
Despues	53%	41%	61%
Significancia (p)	0,05	0,05	n. s.

AGRADECIMIENTOS

- A las personas que nos colaboraron con la donación de muestras.
- A los Estudiantes de Bioquímica, 1er. 2º 4º y 5º Año.
- Por la transcripción del trabajo, a la Sra. Carmen R. de Bohorquez.

REFERENCIAS

- 1) Arrau, J. et al.-Biología de la Reproducción Animal. Ed. Andrés Bello, Capítulo VI, 1981: 113-133.
- 2) Caen J., Michel, H., Ergueta J., Rodríguez A. Estudio de la Fisiología y agregación plaquetaria con adp Enciclopedia. Med. Quirúrgica 1972-Sang.
- 3) Caen J., Samama M., Larriou L. L' Hemostase: Méthodos de exploración y diagnóstico práctico 1976.: 54-75.
- 4) Drouet L., Rodríguez A., Dosne A., Caen J. Estudio de una población a bajo riesgo vascular en la altura. INSERM. 1976; 63:477-494.
- 5) Ergueta J., Rodríguez A. Dosificación del co-factor de la heparina en habitantes de la altura. Anuario IBBA-1970: 173-184.
- 6) Punnoven R. et al. Composite Picture at the normal Menstrual Cycle. Acta abst, Gynec Scand, Suppl 1975; 51: 65-70.