

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PERSONALIDAD,
EVALUACION Y TRATAMIENTO PSICOLOGICO.
UNIVERSIDAD DE GRANADA

INCIDENCIA DEL TABAQUISMO EN JOVENES ESTUDIANTES DE
LA PROVINCIA DE GRANADA. UNA PRIMERA APROXIMACION

Miró Jodral, M. Jiménez Martín, J. Gil Roales-Nieto, J. Luna Adame, M.
y Carrasco Giménez, T.J.

RESUMEN

Mediante la determinación de los niveles de tiocianato en saliva y aplicando las técnicas analíticas propuestas por Densen, se realiza una evaluación del nivel de drogadicción tabáquica en cien alumnos de enseñanza media de la provincia de Granada (España), llegándose a la conclusión de que un 20% de los jóvenes presenta adicción en mayor o menor grado. Un 5% de los alumnos son intensamente fumadores. No se encontraron en ningún caso niveles de tiocianato por encima de 250 $\mu\text{g/ml}$.

SUMMARY

By means of the thiocyanate levels determination in saliva and using the Densen method of analysis, we investigated the tobacco addiction level in one hundred secondary education students of Granada (Spain). We conclude that 20% of youngs are adicted and 5% are heavy smokers. 250 $\mu\text{g/ml}$ was the larger thiocyanate level observed.

INTRODUCCION

El tabaquismo es una forma de drogadicción que, aunque afortunadamente tiende a disminuir, continúa jugando en la actualidad un importante papel en la mortalidad de la población adulta y en la morbilidad de toda la población.

Son muchas las patologías relacionadas con el hábito tabáquico, pero pueden resumirse en dos grandes capítulos: cancer y cardiopatías. Precisamente en 1989, que ha sido declarado por la OMS como "año de información contra el cáncer", hemos comenzado a realizar unos trabajos conjuntos entre los Departamentos de Farmacología y de Personalidad, Evaluación y Tratamiento Psicológico de esta Universidad, con objeto de comprobar el nivel de drogadicción tabáquica en distintos sectores de nuestra sociedad, para contribuir posteriormente a su deshabitación.

Los datos epidemiológicos sobre la incidencia del tabaquismo en una población no pueden basarse únicamente en lo referido en cuestionarios, sobre todo en jóvenes, pues es frecuente la tendencia a disminuir el número de cigarrillos fumados en un tiempo determinado, por parte del encuestado. Desde hace tiempo se vienen utilizando los análisis de diversos fluidos biológicos (sangre, orina, saliva, sudor...), que permiten detectar el nivel tabáquico de una persona, lo cual aumenta notablemente el valor de las encuestas (1). Los métodos más empleados son la determinación de nicotina, alcaloide del tabaco que se inhala con el humo, y de su metabolito principal, la cotinina, en orina, saliva o sangre (2-7), la cuantificación de tiocianato en saliva, orina o sangre, procedente de la detoxificación por parte del organismo del ácido cianhídrico del humo (8-11) y la medida del monóxido de carbono en el aire espirado o de la carboxihemoglobina plasmática, ya que el humo del tabaco contiene CO y por tanto se elevan estos niveles (12-15).

Cuando es necesario evaluar un gran número de personas, no son recomendables los análisis del aire espirado, sangre u orina, ya que la toma de muestras es engorrosa y el coste de los tests elevado. Sin embargo, las determinaciones en saliva son susceptibles de practicarse en grandes poblaciones y además son muy apropiadas en los sectores juveniles, siempre que se les informe previamente y con detenimiento de la adecuada forma de proceder.

MATERIAL Y METODOS.-

En esta primera aproximación, se han evaluado cien individuos voluntarios, pertenecientes a una población de estudiantes de Bachillerato y Formación Profesional, con edades comprendidas entre los 13 y 17 años, pertenecientes el I.B. Illiberis y al Instituto de F.P., ambos en la ciudad de Atarfe (Granada). Las muestras se recogieron en mayo de 1989.

Se ha elegido el método del análisis de tiocianato en saliva, por la comodidad que supone la recogida de muestras, por la rapidez, economía y seguridad de los tests de laboratorio y por la elevada permanencia del citado metabolito en el organismo ($t_{1/2}$ =10-14 días). La metodología la describió inicialmente Densen (8) y luego ha sido seguida por otros autores (9). Consiste en introducir en la boca un rollo de algodón dental, de aproximadamente 4 cm. de longitud, y mantenerlo allí durante un período de 3 minutos, sin morderlo, masticarlo ni succionarlo. Transcurrido ese tiempo, se extrae de la boca y se coloca en un tubo de plástico provisto de tapón de rosca, que se encuentra

previamente tarado. Se etiqueta el tubo con un código especial para cada individuo, en el que consta el curso que estudia y su fecha de nacimiento, lo cual permite garantizar en todo momento su anonimato y al mismo tiempo poder comparar los datos de laboratorio con los resultados de un cuestionario rellenado por el alumno, en el que figura el mismo código. En ésta primera aproximación no figuran dichos resultados, que se expondrán en una próxima publicación.

Los códigos comienzan por un número, que indica el curso, seguido de la inicial del grupo, cuando son alumnos de Bachillerato (A, B, C, D, E) o de la clave de los estudios, cuando son alumnos de F.P. (Ad = Administrativo; Ac = Curso de Acceso). El número que se sitúa a continuación expresa la fecha de nacimiento (día, mes y año, sin ningún signo que los separe).

Antes de proceder a la toma de muestras, los alumnos habían asistido a la proyección de un vídeo, realizado por nosotros, en el que se les explica detalladamente la forma de colocarse el algodón en la boca. Además, el vídeo contiene un resumen de la técnica analítica que se va a seguir con su saliva, haciendo hincapié en que independientemente de lo que digan en sus autoinformes, al final se sabrá con datos objetivos si el individuo es fumador o no y en qué magnitud. Lógicamente esta técnica, denominada "Bogus Pipeline" (16), incrementa la veracidad de los autoinformes (17).

Una vez finalizada la toma de muestras, los tubos con la saliva se pesaron y se congelaron a -20°C . En estas condiciones, la saliva permanece inalterable durante al menos tres meses. En el momento del análisis, las muestras eran descongeladas cuidadosamente, a temperatura ambiente, colocándose luego cada algodón en el interior de una jeringa desechable de 5 cc., con objeto de poder exprimirlo y separar así la saliva. En un tubo graduado de centrifuga se colocan 0,5 ml de saliva (en algunos casos, señalados con un asterisco, sólo se pudieron colectar 0,1 ml de saliva, por lo que los resultados correspondientes se encuentran multiplicados por cinco), añadiéndose 0,75 ml de agua destilada y 1,25 ml de ácido tricloroacético al 20%, para precipitar las proteínas. Se agita, se centrifuga durante cinco minutos a 1.600 rpm y se filtra. A 1,25 ml del filtrado se le adicionan 1,25 ml del reactivo "nitrato férrico-ácido nítrico", cuya composición es: $(\text{NO}_3)_3\text{Fe}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ al 16% en NO_3H 1N.

El catión Fe^{3+} reacciona con seis aniones de SCN^- , dando lugar a un complejo de color rojo-anaranjado, cuya intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de tiocianato, realizándose la lectura a 460 nm en un fotocolorímetro digital Spectronic-20, siempre a los 10 minutos exactos de la adición del reactivo, ya que la intensidad del color varía con el tiempo. En estudios previos comprobamos que dicha intensidad se encuentra dentro de los límites máximos en el tiempo indicado.

Posteriormente se realiza una recta patrón, con cantidades conocidas de tiocianato sódico y se calcula el valor de la recta de regresión, para lo cual se utiliza un programa de estadística (Epistat), procesándose los datos en un ordenador Mitac 286 SL. Los datos de absorbancias obtenidos en los ensayos

problema se interpolan en dicha recta, obteniéndose de esta forma las concentraciones de tiocianato en saliva.

Las cantidades de tiocianato detectadas no son por sí mismas indicativas al 100% de que una persona fuma y en qué magnitud, ya que pueden existir "falsos positivos", debidos fundamentalmente a la dieta (alimentos con heterósidos cianogénicos, tales como los rábanos, rabanillas, nabos, coles, coliflor, almendras...), al hecho de haber estado en ambientes cerrados con fumadores ("fumadores pasivos") o simplemente a la idiosincrasia de ciertos individuos que fisiológicamente poseen unos niveles de tiocianato superiores a los normales (9).

En principio, podemos considerar que los no fumadores poseen cifras de tiocianato en saliva inferiores a 50 µg/ml (8). En cambio, el 55% de los fumadores de más de un paquete por semana y el 67% de los que fumaron más de 10 cigarrillos en las últimas 24 horas, presentarán valores de tiocianato en saliva superiores a 100 µg/ml (9).

Según Cummings (18), el nivel de tiocianato a partir del cual podemos considerar que una persona es fumadora varía con el número de fumadores de la población, estableciéndose en 140 µg/ml para un 20% de fumadores y disminuyendo si aumenta el número de adictos. Como presuponemos una población de tabaco-adictos, en la comunidad investigada, cercana al 20%, podemos aplicar la cifra de 140 µg/ml para detectar a los individuos fumadores, sin temor a equivocarnos.

RESULTADOS.-

La recta patrón de tiocianato (Figura 1) se efectuó con los datos recogidos en la Tabla I, obteniéndose al procesarlos la siguiente ecuación de la recta de regresión:

$$Y = 2,64607 \cdot 10^{-2} + 5,260772 \cdot 10^{-3} X$$

(Coeficiente de correlación de Pearson = 0,995343)

TIOCIANATO EN SALIVA RECTA PATRON

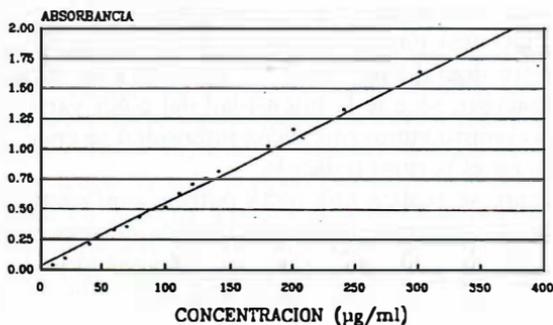


FIGURA 1

Tubo n°	SCN ⁻ (µg/ml)	T	A
1	10	92,0	0,036
2	20	81,0	0,091
3	40	62,4	0,204
4	60	47,6	0,323
5	70	44,0	0,357
6	80	37,2	0,430
7	90	32,0	0,496
8	100	31,0	0,516
9	110	23,6	0,628
10	120	19,8	0,704
11	130	17,6	0,756
12	140	15,4	0,812
13	180	9,4	1,025
14	200	6,8	1,160
15	240	4,8	1,320
16	300	2,4	1,640
17	400	0,8	1,999

Tabla I.- Datos de elaboración de la recta patrón.
(T = Transmitancia; A = Absorbancia).

Los resultados correspondientes al análisis de las muestras quedan recogidos en la Tabla II. En dicha tabla se incluye el código de cada muestra, la cantidad de saliva recogida en gramos (S), la transmitancia (T) y absorbancia (A) registradas en el fotolorimétrico y la concentración de tiocianato (C) correspondiente a la interpolación de dichas absorbancias en la recta de regresión (recta patrón). Las concentraciones correspondientes a los códigos marcados con un asterisco (*) van multiplicadas por cinco, como ya se indicó anteriormente.

CODIGO	S	T	A	C
4Ad19967	2,37	69,2	0,160	25,38
Ac1672*	0,84	98,2	0,080	50,88
Ac4172*	1,04	98,2	0,080	50,88
4Ad141068	1,49	4,6	1,340	249,69
4Ad24969	1,46	84,0	0,750	137,53
Ac181172	2,56	74,8	0,126	18,92
4Ad17170	2,73	72,0	0,142	21,96
4Ad27271	1,72	72,0	0,142	21,96
4Ad8770	2,42	77,0	0,114	16,64
4Ad26270	2,54	79,8	0,100	13,97
4Ad2371*	1,08	98,2	0,009	0,00
4Ad8869	1,47	10,6	0,975	180,30
4Ad201270*	1,16	90,0	0,045	17,62
Ac61071	2,13	79,8	0,098	13,60
4Ad16171	2,55	81,4	0,090	12,08
4Ad11070	1,77	50,8	0,295	51,04
Ac191172	2,02	84,8	0,072	8,65
Ac91072	1,19	87,2	0,060	6,37
4Ad28268	1,49	38,2	0,416	74,04
Ac15371	2,45	77,4	0,112	16,26
4Ad27970	3,07	84,4	0,730	133,73
4Ad12570	2,72	79,2	0,101	14,17
4Ad301068	1,59	73,8	0,131	19,87
4Ad2170*	1,10	93,0	0,031	4,31
1A201073	1,80	56,4	0,248	42,11
1A201269	1,16	69,8	0,156	24,62
2D11773	2,59	72,0	0,143	22,15
1A6970	1,42	66,2	0,179	28,99
2D271073*	1,02	100,2	0,000	0,00
1A21274	2,72	75,2	0,123	18,35
2D2573	2,32	75,8	0,120	17,78
2D6473	2,50	80,0	0,970	179,35
1A30474	2,75	90,0	0,460	82,41
2D20173	1,80	72,8	0,137	21,01
1A5873*	1,04	96,0	0,180	145,93
1A4674	2,21	40,0	0,398	70,62
1A4374	2,14	90,6	0,043	3,14
1A24973	2,61	92,8	0,032	1,05
1A81273	1,56	57,2	0,242	40,97
2D20372	2,14	82,8	0,082	10,56
1A11574	2,64	76,4	0,117	17,21
1A11274	2,47	87,2	0,060	6,37
2D91272	1,18	86,8	0,061	6,56
1A2174	1,61	62,0	0,208	34,51
1A21974	1,35	75,0	0,125	18,73
1A231274	1,73	79,0	0,102	14,36
1A4474	2,41	72,8	0,137	21,01
2D201269*	0,78	89,6	0,048	20,47
1A311073	3,38	84,6	0,072	8,66
2D31873	2,65	63,4	0,197	32,42

Tabla II.- Tabla de resultados [S = Saliva (g); T = Transmít.; A = Absorb.; C = Conc. SCN⁻ (µg/ml)].

CODIGO	S	T	A	C
2D4773	2,29	79,4	0,100	13,98
1A111175*	1,18	91,8	0,037	2,00
2D28972	1,36	72,2	0,142	21,96
1A27174	3,25	75,0	0,116	17,02
2D181273	2,21	94,4	0,025	0,00
2D23572*	0,90	93,8	0,027	0,10
2D17373	0,72	89,4	0,049	4,28
1A251073	1,23	19,4	0,712	130,31
2D241173	2,92	86,2	0,064	7,14
2D13173	1,80	72,6	0,139	21,39
1A11272	2,27	81,8	0,088	11,70
1A25674	2,01	85,2	0,070	8,27
2D251171*	0,82	91,4	0,039	11,92
1A51273*	0,99	90,0	0,046	18,57
2D3672	2,62	33,6	0,474	85,07
2D311071	2,18	83,6	0,780	143,24
2D15973	1,99	84,0	0,075	9,23
2D10671	2,03	78,0	0,108	15,50
1A181274	3,01	92,0	0,036	1,81
2D27373	1,77	77,4	0,111	16,07
1A9473	2,78	86,2	0,065	7,32
2D201273	2,56	63,2	0,199	32,80
2D30672*	0,64	92,4	0,034	7,17
1A251074	2,34	86,4	0,064	7,14
1A31073	3,77	85,2	0,070	8,28
1A24574	3,45	80,4	0,095	13,03
3A11472	2,71	78,6	0,115	14,93
3A16372*	1,23	87,4	0,060	31,88
3D26572	2,36	82,4	0,083	10,75
1C6674	2,64	77,4	0,111	16,07
1E51074	3,24	73,0	0,138	21,20
3A11972*	1,19	90,6	0,043	15,72
1C19474	2,24	68,8	0,163	25,95
3A21271	1,43	69,8	0,155	24,43
3D291268	2,29	79,8	0,980	181,25
3A71172	2,95	76,6	0,116	17,02
3B281072	2,80	14,8	0,825	151,79
2E30373	2,07	80,2	0,096	13,22
2E18473	2,35	86,2	0,064	7,14
1B12674*	0,97	93,6	0,029	2,41
2E151173	2,23	49,0	0,311	54,09
1B17874	2,77	83,6	0,770	141,34
3A16272	2,02	19,0	0,720	131,83
3A21272	2,29	66,4	0,178	28,80
3B21671	2,28	77,8	0,110	15,88
1B171074*	1,08	90,8	0,042	14,77
3C19972	1,48	82,0	0,086	11,32
1C22674*	0,95	90,6	0,043	15,72
3A7670	3,24	81,2	0,091	12,27
3A24372	3,16	70,6	0,150	23,48

Tabla II (Cont.).- Tabla de resultados [S = Saliva (g); T = Transmit.; A = Absorb.; C = Conc. SCN⁻ (µg/ml)].

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Los datos obtenidos muestran un 8% de individuos claramente fumadores ($SCN \geq 140 \mu\text{g/ml}$), si aplicamos el "cutoff" sugerido por Cummings (18).

Si además nos basamos en los artículos de Densen (8) y Luepker (9), podríamos suponer que existe un 70% de individuos no fumadores ($SCN \leq \mu\text{g/ml}$), un 10% de dudosos o muy poco fumadores ($SCN >25$ y $<50 \mu\text{g/ml}$), un 8% de fumadores moderados ($SCN >50$ y $<100 \mu\text{g/ml}$), un 7% de fumadores de intensidad media ($SCN >125$ y $<150 \mu\text{g/ml}$) y un 5% de fumadores de alta intensidad ($SCN \geq 150 \mu\text{g/ml}$).

El individuo que aparentó poseer un mayor grado de adicción presentaba cifras de $SCN = 249,69 \mu\text{g/ml}$ de saliva, por encima de las cuales no hemos obtenido ninguna otra.

Por otra parte, podemos citar que los volúmenes de saliva recogidos suponen una cantidad media de 2,02 ml ($\sigma = 0,73$), lo cual es más que suficiente, si tenemos en cuenta que para el análisis sólo necesitamos 0,5 ml. No obstante, en 18 ocasiones fué necesario utilizar la quinta parte, debido a la escasez de saliva, por lo que los resultados lógicamente se multiplicaron por la misma magnitud.

Un dato a destacar es que en tres ocasiones hemos obtenido una ausencia total de tiocianato en saliva, lo cual no sólo indica que estos individuos no son fumadores, sino que han tenido la suerte de no estar últimamente en contacto con humos procedentes de fumadores y además que no han ingerido en la dieta ningún alimento generador de tiocianatos, o bien que son individuos con una gran facilidad para eliminar este metabolito.

En definitiva, hemos constatado un 20% de alumnos posiblemente fumadores, con edades comprendidas entre 13 y 17 años, lo cual por una parte es alentador, si pensamos que estas cifras tienden a disminuir, pero por otra suponen una llamada de atención a todo el personal educador y sanitario para que intente colaborar en la deshabituación de esos jóvenes, lo que sin duda repercutiría notablemente en su calidad de vida actual y futura y en una mayor prosperidad de toda la comunidad.

AGRADECIMIENTO.-

Deseamos agradecer la colaboración prestada a los alumnos que voluntariamente se ofrecieron a la experiencia, a todo su profesorado y a los alumnos de cuarto curso de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada que contribuyeron al análisis de las muestras (Luis Malfaz Vázquez, Encarnación Enríquez Ruiz, M.^a José Parera Carretero, Amelia Sánchez Capelo, Francisco Ruano García, Javier Hernández Sansalvador y Rogelio Zaragoza Noguera).

BIBLIOGRAFIA

- (1) Haley, N.J., Axelrad, C.M. and Tilton, K.A. Validation of self-reported smoking behavior: biochemical analyses of cotinine and thiocyanate. *Am. J. Public Health* 1983; 73:1204-1207.
- (2) Watson, I.D. Rapid analysis of nicotine and cotinine in the urine of smokers by isocratic HPLC. *J. Chromatog* 1977; 143:203-206.
- (3) Maskarinec, M.P., Harvey, R.W. and Caton J.E. A novel method for the isolation and quantitative analysis of nicotine and cotinine in biological fluids. *J. Anal. Toxicol.* 1978; 2:124-126.
- (4) Jacob III, P., Wilson, M. and Benowitz N.L. Improved GC method for the determination of nicotine and cotinine in biological fluids. *J. Chromatog.* 1981; 222:61-70.
- (5) Benowitz, N.L., Kuyt, F., Jacob III, P., Jones, R.T., and Osman, A.L. Cotinine disposition and effects. *Clin. Pharmacol Ther* 1983; 34(5):604-611.
- (6) Jarvis, M.J., Russell, M.A.H., Benowitz, N.L. and Feyerabend, C. Elimination of cotinine from body fluids: implications for noninvasive measurement of tobacco smoke exposure. *Am. J. Public Health* 1988; 78(6):696-698.
- (7) Carey, K.B. and Abrams, D.B. Properties of saliva cotinine in young adult light smokers. *Am. J. Public Health* 1988; 78(7):842-843.
- (8) Densen, P.M., Davidow, B., Bass, H.E. and Jones E.W. A chemical test for smoking exposure. *Arch Environ Health* 1967; 14:865-874.
- (9) Luepker, R.V., Pechacek, T.F., Murray, D.M., Johnson, C.A., Hund, F. and Jacobs, D.R. Saliva thiocyanate: a chemical indicator of cigarette smoking in adolescents. *Am. J. Public Health* 1981; 71(12):1320-1324.
- (10) Swan, G.E., Parker, S.D., Chesney, M.A. and Rosenman, R.H. Reducing the confounding effects of environment and diet on saliva thiocyanate values in ex-smokers. *Addictive behaviors* 1985; 10:187-190.
- (11) O'Connell, K.A., Gerkovich, M.M., Fears, B.A. and Cook, M.R. The influence of salivary stimulation on the validity of thiocyanate as an index of smoking status. *Addictive Behaviours* 1988; 13:383-386.
- (12) Vogt, T., Selvin, S. Widdowson, G. and Hulley, S.B. Expired air carbon monoxide and serum thiocyanate as objective measures of cigarette exposure. *Am. J. Public Health* 1977; 67:545-549.
- (13) Cohen, J.D. and Bartsch, G.E. A comparison between carboxyhemoglobin and serum thiocyanate determination as indicators of cigarette smoking. *Am. J. Public Health* 1980; 70:284-286.
- (14) Vesey, C.J. Blood carboxyhemoglobin, plasma thiocyanate, and cigarette consumption: implications for epidemiological studies in smokers. *Br. Med. J.* 1982; 284:1516-1518.
- (15) Jarvis, M.J., Tunstall-Pedoe, H., Feyerabend, C., Vesey, C. and Saloojee Y. Comparison of tests used to distinguish smokers from nonsmokers. *Am. J. Public Health* 1987; 77:1435-1438.
- (16) Jones, E.E. and Sigall, H. The Bogus Pipeline: a new paradigm for measuring affect and attitude. *Psychol Bull* 1971; 76(5):349-364.
- (17) Evans, R.I., Hansen, W.B. and Mittelmark, M.B. Increasing the validity of self-reports of smoking behavior in children. *J. Appl. Psychology* 1977; 62(4):521-523.
- (18) Cummings, S.R. and Richard R.J. Optimum cutoff points for biochemical validation of smoking status. *Am. J. Public Health* 1988; 78(5):574-575.