

32. Salud Humana

Análisis de variable hemorreológica en pacientes diabéticos pediátricos

Canetti, Virginia María¹; Reus, Verónica²; Sosa, Mónica²

¹ autor; ² orientador

virgi94canetti@gmail.com; vreus@fcm.unl.edu.ar; msosa@fcb.unl.edu.ar

Facultad de Ciencias Médicas

Universidad Nacional del Litoral

Resumen

La Diabetes Mellitus (DM) es un trastorno metabólico que se presenta con diversas anormalidades hemorreológicas, una de ellas, la hiperagregación eritrocitaria. In vivo e in vitro, en presencia de macromoléculas plasmáticas, los eritrocitos se agregan naturalmente, formando agregados lineales como “pilas de monedas” conocidos como rouleaux. La formación alterada de éstos contribuye a las alteraciones microvasculares de la enfermedad. El objetivo de este trabajo es analizar la presencia y el patrón de la agregación eritrocitaria en un grupo de pacientes con diabetes del Hospital de Niños de Santa Fe “Dr. Orlando Alassia”. Para caracterizar el patrón de agregación eritrocitaria se utilizaron muestras de sangre anticoaguladas con EDTA/Na₂ de controles rutinarios de 14 niños diabéticos y 3 niños sanos. Las muestras fueron procesadas dentro de las 6 hs de su extracción. Se preparó una dilución de glóbulos rojos al 0,5% en plasma autólogo y 30 µl de ésta se colocaron en un portaobjetos excavado. Después de 5 minutos de reposo se estudió la agregación eritrocitaria por observación microscópica de los agregados y posterior captura de imágenes. Aplicando una metodología cualitativa morfológica, la agregación eritrocitaria se presenta en forma de un entramado de glóbulos rojos, formando apilados unidos entre sí, en forma tortuosa. Las imágenes correspondientes a niños sanos no poseen entramado, presentan pequeños rouleaux y eritrocitos aislados. Se presenta en este trabajo la primera etapa de la investigación, cuyo objetivo final será obtener la cuantificación de los agregados eritrocitarios en los niños diabéticos. Los resultados contribuirán a comprender las alteraciones hemorreológicas de pacientes diabéticos pediátricos.

Palabras clave: Diabetes Mellitus, agregación eritrocitaria, hemorreología, pediatría

Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por un déficit parcial o total de insulina, que produce como consecuencia una situación de hiperglucemia. La DM se presenta con numerosos parámetros hemorreológicos alterados. Entre éstos se encuentran el hematocrito, los niveles de proteínas plasmáticas, la agregación eritrocitaria y la deformabilidad de glóbulos rojos. Cuando estas variables aumentan la viscosidad plasmática y sanguínea se genera una elevada resistencia al flujo vascular, lo que incrementa las probabilidades de producir complicaciones microvasculares que ocurren en la DM, tales como microangiopatía, nefropatía y retinopatía. Puntualmente en este estudio se analiza la agregación eritrocitaria, un parámetro fundamental en las propiedades reológicas de la sangre. Es un fenómeno fisiopatológico reversible en el cual, in vivo e in vitro, en presencia de macromoléculas plasmáticas, los eritrocitos se agregan formando apilados lineales como “pilas de monedas” conocidos como rouleaux. La agregación eritrocitaria depende del balance entre fuerzas agregantes y desagregantes. Entre las primeras se encuentran la adsorción de macromoléculas plasmáticas como el fibrinógeno y la formación de

puentes intercelulares entre eritrocitos. Entre las segundas, las fuerzas de cizallamiento mecánico, la repulsión electrostática, entre otros. La agregación eritrocitaria aumentada ocurre cuando este balance se rompe.

La agregación excesiva es una característica prominente en pacientes con diabéticos (Foresto et al. 2009), sobre todo en aquellos con pobre control glucémico, ya que los agregados no pueden atravesar los capilares sanguíneos, causando las complicaciones vasculares anteriormente mencionadas.

La diabetes mellitus conlleva una importante carga social y económica ya que el número de pacientes afectados crece a un ritmo exponencial. En todo el mundo existen más de 500.000 niños y niñas con diabetes, el 90% de ellos sufre diabetes tipo 1. Se calcula que cada año, otros 86.000 niños en el mundo desarrollarán este tipo de diabetes. (International Diabetes Federation, 2015). Sin embargo, la diabetes tipo 2 también está comenzando a aumentar su prevalencia, afectando de igual forma a los países desarrollados y en vías de desarrollo, y se está convirtiendo en un problema de salud pública muy preocupante.

Si bien diversos estudios demuestran la presencia de alteraciones hemorreológicas en niños diabéticos

(Linderkamp, Ruef, Zilow & Hoffmann, 1999), existen también resultados contradictorios, por lo que se propone este estudio para colaborar en la interpretación fisiopatológica de las alteraciones microvasculares en pacientes diabéticos. Además no se han evidenciado aún estudios que caractericen el patrón de agregación eritrocitaria en estos niños, proporcionando datos objetivos mediante la microscopia, con los que se puede interpretar eficientemente la información que aparece en las imágenes.

Objetivos

Analizar la presencia y el patrón de agregación eritrocitaria en un grupo de niños con diabetes que asiste al Hospital de Niños de Santa Fe "Dr. Orlando Alassia". Obtener datos bioquímicos en el marco del control y seguimiento que se soliciten en estos pacientes.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, transversal. Para caracterizar el patrón de agregación eritrocitaria se utilizaron muestras de sangre anticoaguladas con EDTA/Na₂ de controles rutinarios de 14 niños diabéticos tipo 1 (n= 11) y tipo 2 (n=3), y 3 niños sanos. Las muestras de sangre fueron procesadas dentro de las 6 hs de su extracción. Se centrifugaron durante 5 minutos en microcentrífuga a

temperatura ambiente. Se preparó dilución de glóbulos rojos al 0,5% en plasma autólogo y 30 µl de ésta se colocaron en un portaobjetos excavado. Después de 5 minutos de reposo se estudió la agregación eritrocitaria por observación microscópica de los agregados y posterior captura de imágenes (Fontana et al. 2012). Se consideran criterios de inclusión niños entre 1 y 18 años, con diabetes tipo 1 o 2, sin ninguna otra patología.

Resultados y Discusión

Las siguientes características fueron evaluadas: edad $12,6 \pm 4,6$ años; tiempo de evolución de la enfermedad $32,8 \pm 22,2$ meses; índice de masa corporal (IMC) $23,3 \pm 6,5$; control metabólico correcto (hemoglobina glicosilada, HbA1c < 7,5%) 4 pacientes. Aplicando una metodología cualitativa morfológica, la agregación eritrocitaria se presenta en forma de un entramado parcial de glóbulos rojos, formando apilados unidos entre sí, en forma tortuosa y amorfa, como se observa en las imágenes 1 y 2. En niños sanos se observan pequeños rouleaux y glóbulos rojos aislados (Imagen 3).

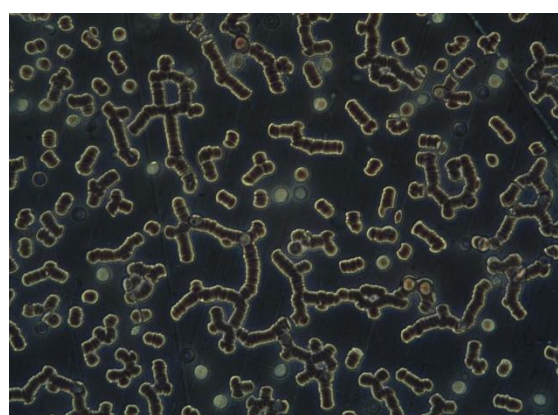
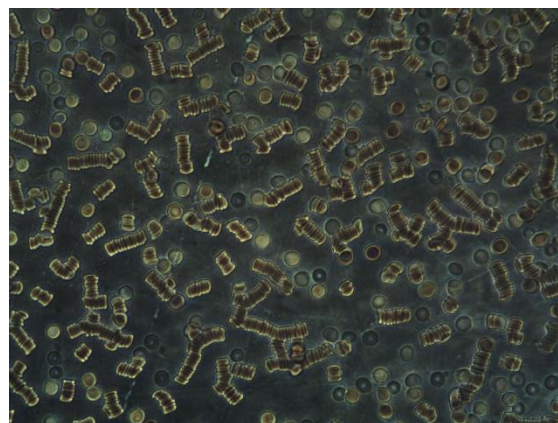
Según valores bioquímicos obtenidos, los niños diabéticos presentan valores de glucemia en ayunas de $2,04 \pm 1,13$ mg/dL; HbA1c de $8,95 \pm 2,91\%$; colesterol total $176,2 \pm 37,5$ mg/dL y triglicéridos $155,14 \pm 151$ mg/dL (Tabla 1).

El 71,4% de los pacientes diabéticos presenta un mal control metabólico, definido por una HbA1c $\geq 7,5\%$.

Según nuestras observaciones, los niños diabéticos presentan ya un trastorno marcado en la microcirculación evidenciado por un patrón alterado de agregación eritrocitaria. Presentan, por un lado, una agregación diferente a la observada en niños sanos, y por el otro, una agregación diferente a los adultos diabéticos, donde se describen agregados esferoidales conocidos como amas (Foresto, et al. 2009).

Según Linderkamp et al. (1999), si bien se utilizó una metodología automatizada para la medición de la agregación eritrocitaria, los niños con diabetes tipo I presentan esta variable hemorreológica normal, sin diferencias significativas respecto a la de niños sanos.

Koscielny, Latza, Wolf & Kiesewetter (1998) reportan, a través de un método automatizado, una agregación eritrocitaria normal. Sólo niños con diabetes pobremente controlados tuvieron un 20% de aumento en la agregación eritrocitaria a través de un parámetro semicuantitativo. Cabe destacar el pobre control metabólico que presentan nuestros pacientes diabéticos, lo que motiva a continuar con la investigación para generar una correlación estadística entre esta variable y el patrón de agregación.



Imágenes 1 y 2. Patrón de agregación eritrocitaria en niños diabéticos, 40x.

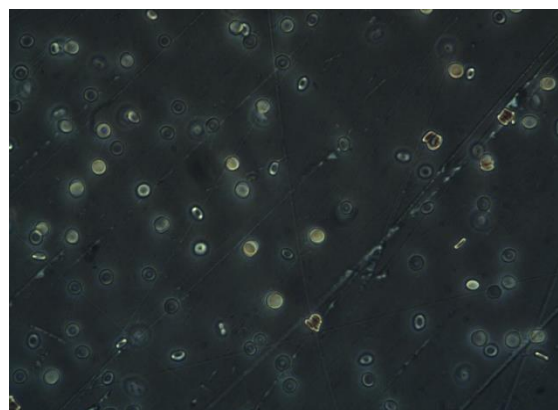


Imagen 3. Patrón de agregación en niño sano, 40x.

	Glucemia (mg/dl)	HbA1c	Col. Total (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)
Media	2,04	8,95	176,21	155.14
Mediana	1,92	8,9	170	125
DS	± 1,13	± 2,91	± 37,5	± 151

Tabla 1. Variables bioquímicas en pacientes diabéticos pediátricos

Este trabajo conforma el inicio de un estudio que pretende cuantificar la agregación eritrocitaria en niños con diabetes.

Conclusión

Los resultados de este estudio contribuyen así a comprender las alteraciones hemorreológicas en pacientes diabéticos pediátricos. Con este trabajo se logró identificar objetivamente el patrón de agregación eritrocitaria que presentan niños diabéticos, mediante la obtención de imágenes microscópicas, lo que resulta en un aporte sustancial para futuras posibles aplicaciones clínicas.

Bibliografía

Cho, Y. I., Mooney, M. P., Cho, D. J. (2008). Hemorheological Disorders in Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2(6), 1130–1138.

Federación Internacional de Diabetes. (2015). Atlas de Diabetes 7^o edición. Bruselas, Bélgica.

Fontana, A. B., Lerda, N., Delannoy, M. M., Alessi, A. C., Riquelme, B. D. (2012).

Técnica de cuantificación de la agregación eritrocitaria por análisis digital de imágenes. *Acta Bioquim. Clín. Latinoam.*, 46(1), 47-52.

Foresto, P., D'Arrigo, M., Carrera, L., Cuezco, R. E., Valverde, J., Rasia, R. (2000). Evaluation of red blood cell aggregation in diabetes by computerized image analysis. *Medicina*. 60(5), 580-572.

Koscielny, J., Latza, R., Wolf, S., Kiesewetter, H., Jung, F. (1998). Early rheological and microcirculatory changes in children with type I diabetes mellitus. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 19(2), 139-50.

Lebensohn, N., Re, A., Carrera, L., Barberena, L., D'Arrigo, M., Foresto, P. Ácido siálico sérico, carga aniónica y agregación eritrocitaria en pacientes diabéticos e hipertensos. (2009). *Medicina*, 69(3), 331-334.

Linderkamp, O., Ruef, P., Zilow, E. P., Hoffmann, G. F. (1999). Impaired deformability of erythrocytes and neutrophils in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetología*, 42(7), 865-869.

Moggi, L. (2011). Hemorreología y microcirculación. *Rev Argent Anesthesiol.*, 69(1), 61-84.

Singh, M., Shin, S. (2009). Changes in erythrocyte aggregation and deformability in diabetes mellitus: A brief review. *Indian J Exp Biol.*,47(1),7-15.

Ziegler, O., Guerci, B., Muller, S., Candiloros, H., Mèjean, L., Donner, M., Stoltz, J. F., Drouin, P. (1994). Increased erythrocyte aggregation in insulin-dependent diabetes mellitus and its relationship to plasma factors: A multivariate analysis. *Metabolism*, 43(9), 1182-1186.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Médicas de la UNL, especialmente a la Doctora Larisa Carrera, directora del proyecto en el cual se enmarca la presente investigación; al Servicio de Bioquímica y al Servicio de Endocrinología del Hospital de Niños “Dr. Orlando Alassia”. A mi familia y amigos.