

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
PARA LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

"ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DEL ERITROCITO EN PACIENTE CRÍTICO CON PROCESO SÉPTICO COMO MARCADOR TEMPRANO DE GRAVEDAD EN DISFUNCIÓN ORGÁNICA MÚLTIPLE"

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD DE:
MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRÍTICO
PRES EN TA:
DR. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA VILLAGÓMEZ



ASESOR DE TESIS DR. TIBURCIO LÓPEZ VALLE

MÉXICO, D.F.

0351544

2005



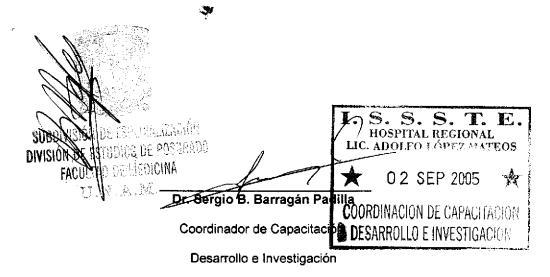


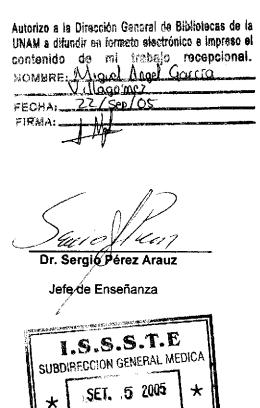
UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





SUBDIRECCION DE REGULACION Y ATENCION HOSPITALARIA ENTRADA



Dr. Othon Gayosso Cruz

Profesor Titular

Dr. Tiburció López Valle

Asesor de Tesis

Dr. Roberto Brugada Molina

Vocal de Investigación

AGRADECIMIENTOS:

A Dios.

A Azucena, mi esposa, que con su apoyo constante ha hecho mas llevaderos los momentos difíciles.

A Carolina, mi hija que con una sonrisa suya hace que todo esfuerzo valga la pena.

A profesores y compañeros que de alguna manera han contribuido en mi formación.

Al dr. Otón Gayosso por su apoyo en estos dos años de formación.

Al dr. López Valle por su ayuda en la realización de este proyecto.

INDICE:

RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	6
HIPÓTESIS	7
OBJETIVO	8
MATERIAL Y MÉTODOS	9
1. Diseño. Tipo de estudio	9
2. Recursos.	9
3. Grupo de estudio	9
4. Criterios de inclusión	10
5. Criterios de exclusión	10
6. Descripción General del Estudio	11
RESULTADOS	12
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	20
ANEXOS	.21
BIBLIOGRAFÍA	24

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Se han reportado alteraciones celulares en la línea roja y blanca (neutrófilos principalmente) como disminución de diámetro, incremento de rigidez de membrana, secuestro leucocitario y liberación de radicales de oxigeno junto con proteasas, alterando en conjunto la reología celular durante la respuesta al proceso séptico, presentándose desde las primeras horas de la respuesta hasta incluso semanas después del daño, siendo atribuidas en algunos estudios *in vitro* a toxinas y citoquinas.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó el estudio en pacientes hospitalizados en la UCI del HGR LALM y del HO CMN SXXI con diagnóstico de sepsis y falla orgánica múltiple, Se dividieron en grupos de acuerdo al número fallas organicas los 14 pacientes estudiados, comparándolos con 10 pacientes del grupo control. Se les toma muestra para frotis a su ingreso, a las 24 hrs y a las 72 hrs, reportándose alteraciones de morfología en eritrocitos.

RESULTADOS: Se reportó un incremento en la frecuencia de ovulocitos en el grupo de pacientes de una a tres fallas orgánicas, siendo 25% mas frecuente en el grupo de tres fallas orgánicas, 15% mas frecuente en el grupo de dos fallas orgánicas y 10 % en el de una falla orgánica respecto a los resultados obtenidos en el grupo control.

DISCUSIÓN: Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura, ya que de acuerdo a la fisiopatología de las alteraciones presentadas en la membrana celular del eritrocito, ésta va deformándose paulatinamente y proporcionalmente al número de fallas orgánicas reportadas de acuerdo a la escala de SOFA utilizada en este estudio, explicado por la disminución de la perfusión tisular.

CONCLUSIONES: Existe mayor frecuencia en porcentaje de equinocitos y ovulocitos en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple respecto a la población normal.

El incremento en frecuencia es proporcional al número de fallas orgánicas reportadas de acuerdo a la escala de SOFA.

El frotis es una herramienta útil como marcador temprano de gravedad en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple.

Palabras clave: eritrocitos, sepsis, falla orgánica

SUMMARY

INTRODUCTION: Cellular alterations in the red line have been reported and white line(neutrophils mainly) like diminution of diameter, increase of membrane rigidity, kidnapping leucocitary and liberation of radicals of oxygenate proteases along with, altering altogether the cellular rheology during the answer to the septic process, appearing from the first hours of the answer to even weeks after the damage, being attributed in some studies in vitro to toxins and citokines. MATERIAL AND METHODS: The study was made in patients hospitalized in the UCI of HGR LALM and HO CMN SXXI with sepsis diagnosis and fails organic manifold, divided in groups according to the number organicas faults the 14 studied patients, comparing them with 10 patients of the control group. Sample for frotis to its entrance, 24 hrs and 72 is taken them hrs, reporting alterations of morphology in red cells. RESULTS: An increase in the frequency of ovulocits in the group of patients of one to three organic faults was reported. being 25% but frequent in the group of three organic faults, 15% but frequent in the group of two organic faults and 10 % in the one of an organic fault with respect to the results obtained in the control group. DISCUSSION: These results agree with the reported thing in Literature, since according to the phisiopatology of the alterations presented displayed in the cellular membrane of the red cells, this one is become deformed gradually and proportionally to the number of reported organic faults according to the used scale of SOFA in this study, explained by the diminution of the tissue perfusion. CONCLUSIONS: It exists greater frequency in percentage of equinocitos and ovulocits in patients with sepsis and fails organic manifold with respect to the normal population. The increase in frequency is proportional to the number of reported organic faults according to the SOFA scale. Frotis is early marking a useful tool as of gravity in patients with sepsis and fails organic manifold.

Key words: red cells, sepsis, fail organic

INTRODUCCIÓN

La sepsis esta asociada a alteraciones hemodinámicas y a nivel de la microcirculación, generados por varios factores durante el curso de ésta. Varios estudios han reportado deformidades de las células rojas sanguíneas las cuales pueden contribuir a las alteraciones hemodinámicas características (1.2.3)

Estos cambios se han observado con diferentes técnicas como aspiración por micropipeta, filtración por microporo, entre otros. Las alteraciones de la morfología desencadenadas por la activación del proceso séptico son determinantes para el fluio sanguíneo. (2,3)

Se ha relacionado estas alteraciones con la presencia de las células blancas y rojas sanguíneas como lo demuestran diversos estudios, ya que influyen en la oclusión de poros en forma transitoria o permanente, produciendo alteraciones a nivel de la membrana y en consecuencia alteraciones morfológicas.⁽⁴⁾

Estas modificaciones también han sido reportadas en pacientes con traumatismos complicados con procesos sépticos, sin embargo los mecanismos aun no están del todo claros.

No obstante, éstas han sido claramente reproducidas en modelos animales como lo sugieren algunos estudios, (1,4,5) los cuales demuestran alteraciones morfológicas de los eritrocitos junto con disminución de flujo, hipoxia local e hipoperfusión secundarias, descritas en sepsis y choque séptico, siendo desencadenantes del desarrollo de la falla orgánica múltiple. (6,7,8)

Se han reportado alteraciones celulares en la línea roja y blanca (neutrófilos principalmente) como disminución de diámetro, incremento de rigidez de membrana, secuestro leucocitario y liberación de radicales de oxigeno junto con proteasas, alterando en conjunto la reología celular durante la respuesta al proceso séptico, presentándose desde las primeras horas de la respuesta hasta incluso semanas después del daño, siendo atribuidas en algunos estudios *in vitro* a toxinas y citoquinas. (8,9,10)

La disfunción orgánica múltiple se ha reportado hasta en el 20% de los pacientes ingresados a las Unidades de Cuidados Intensivos, como consecuencia de una cascada de alteraciones funcionales en diferentes órganos, asociado a deficiencias en los mecanismos de defensa en el huésped y a alteraciones en la regulación de reacciones inmunitarias e inflamatorias, generalmente relacionados a traumatismos, sepsis severa y choque séptico (7,9).

La liberación descontrolada de mediadores inflamatorios culmina en una respuesta endotelial exagerada, presentándose acúmulo de neutrófilos, lo cual se ha reproducido abundantemente in vitro, culminando en deformación de algunos grupos celulares en el momento similar a lo ocurrido en el desarrollo de la sepsis. (5)

Varios estudios han descrito alteraciones de la membrana lipídica relacionándolos con la perooxidación, cambios en la concentración intracelular de calcio en glóbulos rojos, favoreciendo alteraciones en su morfología y presentándose principalmente como equinocitos. (2,6)

Esta morfología y flexibilidades alteradas se pueden explicar por cambios en la estructura proteica de dichas membranas, alteraciones en la concentración de ATP y residuos de ácido siálico, éste último se ha vinculado directamente con deformidades eritrocitarias.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se ha demostrado a través de diversas técnicas computarizadas o por láser diversos grados de alteraciones morfológicas en los eritrocitos durante un proceso séptico en pacientes críticos, marcando el inicio y la evolución de una falla orgánica múltiple.

Estos cambios reportados por frotis sanguíneo pueden sugerir diversos grados de afección de acuerdo a la escala de SOFA, por lo que mediante dicha técnica constituye un nuevo marcador alternativo de gravedad confiable, económico, rápido y de fácil acceso.

HIPÓTESIS

De acuerdo a las alteraciones morfológicas presentadas en las células rojas sanguíneas durante un proceso séptico servirán como indicador alternativo de gravedad en la escala de falla orgánica múltiple.

OBETIVO

Comparar alteraciones de los eritrocitos en un paciente crítico con proceso séptico en falla orgánica múltiple a su ingreso, a las 24 horas y a las 72 hrs. respecto al grupo control.

MATERIAL Y METODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio observacional, longitudinal, prospectivo, comparativo y abierto.

2. GRUPO DE ESTUDIO

Se incluyeron en este estudio a 14 pacientes hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos con proceso séptico y falla orgánica múltiple.

El grupo testigo fue conformado por 10 pacientes sanos sin antecedentes de importancia ni enfermedades agregadas

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Edad mayor de 18 años

Paciente con proceso séptico con falla orgánica múltiple

Paciente hospitalizado en la Unidad de Cuidados Intensivos

4. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Negativa de paciente o familiares a continuar en el estudio

No seguir adecuadamente la técnica descrita

Pacientes con patología hematológica previa.

Pacientes con transfusiones de mas de 5 paquetes globulares a su ingreso.

5. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el servicio de UCI del HGR Lic. Adolfo López Mateos y del H. Oncología CMN SXXI en el periodo comprendido entre el mes de enero a agosto 2005, incluyendo pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple, se dividió en grupos de acuerdo al número de fallas, así como un grupo control de pacientes sanos.

Se estimó el tamaño de muestra de acuerdo a un valor δ del 35%, un nivel β del 10% y un nivel α de 0.05. Se calculó un total de 24 pacientes.

La muestra de sangre se obtuvo a través de punción siendo teñidas con técnica de Wright al momento del ingreso, a las 24 hrs y a las 72 hrs. La muestra se colocó en laminillas y cubreobjetos. Cada frotis se observó en microscopio fotónico de iluminación común (Zeiss, FOMI 3) escogiendo la porción central, empleando el objetivo de 40x (aumentos reales 400x).

Se adaptó una cámara digital Epson PC 750Z de 1.2 megapixeles. Se usó el sistema de análisis morfométrico Scion image para contabilizar eritrocitos, equinocitos y ovalocitos, así como la fusión de estos. Dichos resultados fueron capturados en hoja de cálculo Excel para su análisis.

RESULTADOS

Cuadro 1. Porcentaje de alteraciones morfológicas encontradas en el grupo control a su ingreso, a las 24 y a las 72 hrs de estancia en la unidad.

No.	Equin	%	%	%	Ovalo	% al	% a	% a
control	ocitos	al	a las	a las	citos	ingre	las	las
		ingres	48 hrs	72 hrs	(al	so	48	72
		0			ingres		hrs	hrs
					0)			
1	3	0.18	0.2	0.9	7	0.43	8.0	0.4
2	2	0.12	0.24	0.65	10	0.06	1.3	1.1
3	9	0.44	0.3	0.2	3	0.14	0.9	0.4
4	5	0.31	0.4	0.5	33	2.22	1.7	1.6
5	2	0.15	0.4	0.2	5	0.39	0.9	0.5
6	3	0.11	0.23	0.6	1	0.03	1.6	0.7
7	4	0.23	0.7	0.5	8	0.47	0.5	1.2
8	3	0.14	0.6	0.3	3	0.14	8.0	0.5
9	4	0.20	0.26	0.5	2	0.10	0.7	0.6
10	2	0.08	0.3	0.4	60	2.62	1.9	2.4

Cuadro 2. Porcentaje de alteraciones morfológicas encontradas en el grupo con una falla orgánica a su ingreso, a las 24 y a las 72 hrs de estancia en la unidad.

No.	Equin	%	%	%	Ovalo	% al	%а	% a
de	ocitos	al	a las	a las	citos	ingre	las	las
fallas		ingres	48 hrs	72 hrs	(al	so	48	72
		0		<u> </u>	ingres		hrs	hrs
					0)			
1	6	0.53	0.80	1.9	15	1.3	1.2	0.9
1	4	0.31	0.46	2.65	35	2.7	13.1	11.1
1	15	2.15	2.8	12.2	13	0.59	1.2	1.0
1	9	0.48	0.3	2.5	15	0.8	1.7	1.6

Cuadro 3. Porcentaje de alteraciones morfológicas encontradas en el grupo con dos fallas orgánicas a su ingreso, a las 24 y a las 72 hrs de estancia en la unidad.

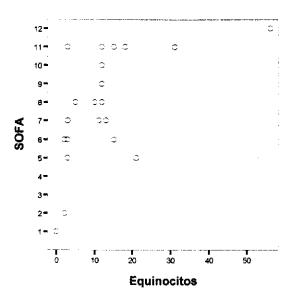
No.	Equin	%	%	%	Ovalo	% al	% a	% a
de	ocitos	al	a las	a las	citos	ingre	las	las
fallas		ingres	48 hrs	72 hrs	(al	so	48	72
1		0			ingres		hrs	hrs
,	:				0)			
2	8	0.48	0.2	9	18	1.1	1.8	2.4
2	12	1.15	1.4	14	44	2.3	1.3	1.1
2	7	1.6	2.8	2.2	31	2.9	4.5	4.5
2	5	0.14	4	015	13	0.4	1.7	1.6
2	6	0.47	0.41	17	5	0.39	0.9	1.1
2	8	1.83	0.9	26	55	2.09	1.6	1.7

Cuadro 4. Porcentaje de alteraciones morfológicas encontradas en el grupo con tres fallas orgánicas a su ingreso, a las 24 y a las 72 hrs de estancia en la unidad.

No.	Equin	%	%	%	Ovalo	% al	% a	% a
de	ocitos	al	a las	a las	citos	ingre	las	las
fallas		ingres	48 hrs	72 hrs	(al	so	48	72
		0			ingres		hrs	hrs
					0)			
3	45	4.03	14.1	23.9	25	2.2	4.7	13.7
3	25	2.5	11.8	31.6	19	1.9	2.9	22.8
3	17	1.6	29.6	56	90	8.66	7.9	16.8
3	5	0.42	1.6	23.3	15	1.26	1.7	2.8

Cuadro 5. Distribución de frecuencias de equinocitos y SOFA

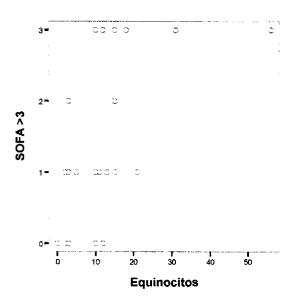
SOFA	EQUINOCITOS % (Promedio)	EQUINOCITOS (Frecuencia)
1	0	2
2	2	1
5	9	2
6	6	3
7	9	3
8	8	5
9	12	1
10	12	1
11	15	5
12	56	1
TOTAL	11.1	24



Gráfica I. Muestra los valores obtenidos en el SOFA en orden descendente y el obtenido de los equinocitos en los frotis sanguíneo, observando que a mayor escala de SOFA corresponde una mayor cantidad de equinocitos.

Cuadro 6. Significancia estadística de ambas variables de estudio (SOFA y equinocitos). N = 24

Prueba estadística	P < 0.05
Chi-cuadrada	0.021
R de Pearson	0.002
Correlación de Spearman	0.000



Cuadro 8. Significancia estadística de ambas variables de estudio (SOFA > 3 y equinocitos). N = 24

Prueba estadística	P < 0.05
Chi-cuadrada	0.011
R de Pearson	0.003
Correlación de Spearman	0.001

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las alteraciones morfológicas reportadas en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple se consideran estadísticamente significativos en base a la p < 0.05 reportada en los cuadros previos.

Cuadro 6. Significancia estadística de ambas variables de estudio (SOFA y equinocitos). N = 24

Prueba estadistica	P < 0.05
Chi-cuadrada	0.021
R de Pearson	0.002
Correlación de Spearman	0.000

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con este estudio reportan un incremento en la frecuencia de equinocitos y ovulocitos en pacientes con sepsis, la cual se incrementa proporcionalmente de acuedo al número de fallas orgánicas presentadas en el desarrollo de esta entidad.

Se reportó un incremento en la frecuencia de ovulocitos en el grupo de pacientes de una a tres fallas orgánicas, siendo 25% mas frecuente en el grupo de tres fallas orgánicas, 15% mas frecuente en el grupo de dos fallas orgánicas y 10 % en el de una falla orgánica respecto a los resultados obtenidos en el grupo control.

Los pacientes con una falla orgánica presentaron una incidencia de 4% mayor en la frecuencia de equinocitos respecto al grupo control, en los estudios reportados en la literatura mundial se ha encontrado un incremento del 3% en los pacientes con sepsis respecto a los pacientes sanos. Sin embargo no se ha reportado el incremento de dichas alteraciones respecto al avance en número de fallas orgánicas o progresión del proceso séptico, como se logra demostrar en este estudio.

En los pacientes con dos fallas orgánicas se incrementó la frecuencia de equinocitos hasta en un 10% respecto al grupo control y en los pacientes con tres fallas se presentó un incremento de 15%, mostrando claramente el incremento de morfología de eritrocitos proporcional al estadio del proceso séptico, manifestado por fallas orgánicas.

Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura, ya que de acuerdo a la fisiopatología de las alteraciones presentadas en la membrana celular del eritrocito, ésta va deformándose paulatinamente y proporcionalmente al número de fallas orgánicas reportadas de acuerdo a la escala de SOFA utilizada en este estudio, explicado por la disminución de la perfusión tisular.

El incremento en la frecuencia de equinocitos respecto a la puntuación de la escala de SOFA es proporcional, presentando 56% de dichas células en pacientes con 12 puntos de esta escala. Presentando una media de 11.1% en pacientes de 1 a 12 puntos.

La importancia de los resultados de el estudio radica en que muestra claramente la deformidad eritrocitaria proporcional al avance del proceso séptico, pudiendo explicar el origen de la hipoperfusión tisular a diferentes órganos como probable causa de el inicio de falla orgánica múltiple.

En base a los resultados aportados por el presente estudio se sugiere usar el frotis sanguíneo como herramienta de evaluación y pronóstico en pacientes con proceso séptico.

CONCLUSIONES

Existe mayor frecuencia en porcentaje de equinocitos en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple respecto a la población normal.

Existe mayor frecuencia en porcentaje de ovulocitos en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple respecto a la población normal.

El incremento en frecuencia es proporcional al número de fallas orgánicas reportadas de acuerdo a la escala de SOFA.

El frotis es una herramienta útil como marcador temprano de gravedad en pacientes con sepsis y falla orgánica múltiple.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Aird W, et al. The Hematologic System as a marker of Organ Dysfunction in Sepsis. Mayo Clinic Proc. Mayo Foundation For Medical education and Research. 2003; 78: 869-81
- Bazkurt O, et al. Red Blood Cell Deformability in sepsis. Am J Respir Crtit
 Care Med 1998; 157: 421-7.
- Piagnerelli M, et al. Alterations of red blood cell shape and sialic acid membrane content in septic patients. Crit Care Med. 2003; 31: 2156-61
- Tamara L, et al. Alterations of red blood cell shape in patients with severe trauma. J Trauma. 2004; 57: 82-7
- Athanasios T, et al. Neutrophil deformability in patients with sepsis, septic shock and adult respiratory distress sindrome. Crit Care Med 2000;
 28: 2355-9.
- Hall C. Cuidados Intensivos. Insuficiencia Orgánica Múltiple. 2ª. Ed. Mc
 Graw Hill. 2001.
- White N, et al Practical automatican for the clinical laboratory. Silder Stainer
 1970, 476-87

- García H, et al. Evaluación de pruebas diagnósticas. Epidemiología clínica
 1994. p 101-123
- Todo R, et al. Effect of sepsis on erythrocyte intracellular calcium homeostasis. Crit Care Med. 1995; 23 (3) 459-65
- Orguz F, et alRed Blood Cell deformability in sepsis. Am J Resp Crit Care Med. 1998; 157, 421-7
- 11. MarynKovsky E, et al. Red Cell Cytoeskeletal alterac¿tinos with physiological aging. New York Academic Press. 1983, 363-8

ANEXOS

I) HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

a)	Datos de identificación:									
	NOMBRE DEL PACIENTE:									
	AFILIACIÓN:									
	DIAGNOSTICO:									
	SOFA:									
	DX AGREGADOS: HTAS () DM ()									
	OTROS Especifique									
b)	Terapéutica empleada en el momento de toma de muestra									
c)	Fecha de frotis:									
d)	Hallazgos del frotis:									
e)	Acepto como pariente responsable del paciente que sea incluido en el									
	estudio que me fue explicado									
	Nombre y Firma									

II) ESCALAS USADAS:

ESCALA DE SOFA:

Calificación SOFA	1	2	3	4
Respiración PaO2/FiO2 mmHg	< 400	< 300	< 200 con apoyo ventilatorio	<100
Coagulación Plaquetas x10 3/mcl	< 150	< 100	< 50	< 20
Hígado Bilirrubinas mg/dl	1.2 - 1.9	2.0 - 5.9	6.0 – 11.9	> 12.0
Cardiovascular Hipotensión	PAM< 70mmHg	Dopa < gamas o Dobutamina cualquier dosis	5 Dopa > 5 gamas o Adrenalina 0.1 o Noradrenal. < 0.1	Dopa > 15 o Adrenalina > 0.1 o Noradrenal .> 0.1
SNC Escala Glasgow	13-14	10-12	6-9	< 6 puntos
Renal Creatinina mg/dl	1.2 – 1.9	2.0 – 3.4	3.5 – 4.9	> 5.0

Los medicamentos adrenérgicos se administran por al menos una hora (las dosis son mcg/kg/min).

Tabla de recolección de datos aportados por frotis de acuerdo a puntaje obtenido en escala de SOFA:

Paciente SOFA Eritrocitos Equinocitos Ovalocitos Ingreso/ por campo (%) (%) 24 hrs/ (%) 72 hrs

Imagen 1. Equinocitos en paciente sèptico con 3 fallas orgànicas



Imagen 2. Frotis en un paciente con sepsis y una falla orgànica

