

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA
FACULTAD DE MEDICINA Y CIRUGÍA
Departamento de Farmacología y Pediatría

**ESTRÉS OXIDATIVO Y RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA TRAS
ISQUEMIA-REPERFUSIÓN EN EL POSTOPERATORIO DE CIRUGÍA
CARDIOVASCULAR PEDIÁTRICO**

TESIS DOCTORAL

Raquel Gil Gómez

2014

DIRECTORES

Guillermo Milano Manso

Javier Blasco Alonso

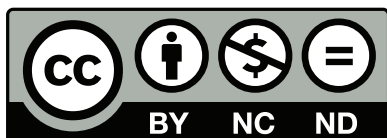
Javier Pérez Frías



**Publicaciones y
Divulgación Científica**

AUTOR: Raquel Gil Gómez

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons:

Reconocimiento - No comercial - SinObraDerivada (cc-by-nc-nd):

[Http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es)

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es

El **Dr. D. Guillermo Milano Manso**, Director de la UGC de Cuidados Críticos y Urgencias Pediátricos del Hospital Materno-Infantil Regional Universitario de Málaga, el **Dr. D. Javier Blasco Alonso**, F.E.A. de Pediatría del Hospital Materno-Infantil Regional Universitario de Málaga, y el **Dr. D. Javier Pérez Frías**, Catedrático de Pediatría de la Universidad de Málaga

CERTIFICAN:

Que D^a. Raquel Gil Gómez ha realizado, bajo la dirección de ellos, una investigación sobre el tema “Estrés oxidativo y respuesta inflamatoria sistémica tras isquemia-reperusión en el postoperatorio de cirugía cardiovascular pediátrico”, recogiendo personalmente el material necesario, efectuando el análisis de casos, la interpretación de resultados y la redacción de la memoria adjunta, que ha sido revisada por los que suscriben, quienes acuerdan que, en su opinión, es factible de ser presentada como Tesis Doctoral para ser defendida ante el Tribunal correspondiente, a lo que dan su conformidad.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firman la presente en Málaga.

G. Milano Manso

J. Blasco Alonso

J. Pérez Frías

Agradecimientos

A mis directores de la Tesis Doctoral, a D. Guillermo Milano Manso, D. Javier Blasco Alonso y D. Javier Pérez Frías, me gustaría agradecerles el tiempo invertido, su enorme paciencia, su sensatez, sus sabios consejos y disponibilidad en todo momento durante la investigación. Gracias por tener siempre la puerta abierta para resolver dudas, atender quejas y en general, solucionar todo tipo de problemas que han surgido en el desarrollo del trabajo.

Me gustaría dar las gracias de una manera muy especial a mis compañeros de la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Regional Universitario de Málaga, esa gran familia de la que afortunadamente formo parte, por su colaboración en este sueño, sin ponerme ningún impedimento, al contrario, me han brindado siempre una sonrisa.

Al equipo de anestesiología, de perfusionistas, cardiología pediátrica y de cirugía cardiovascular infantil del HRU de Málaga sin ellos este proyecto no hubiera salido adelante. En concreto, al Dr. Juan Miguel Gil Jaurena por creer en mí y en esta investigación.

Al Departamento de Farmacología de la UMA, a José Julio Reyes, José Antonio González Correa y José Pedro de la Cruz por la colaboración con el procesamiento de las muestra, su orientación, su paciencia y el apoyo brindados durante este viaje.

A Olga Pérez González (FIMABIS) por ayudarme amablemente con el análisis estadístico de esta tesis.

A mis amigos, a todos los que ocupan un lugar especial en mi vida y que no he podido ver tanto como me hubiera gustado durante la elaboración de este trabajo.

A mis padres, por apoyarme en todas las decisiones que he tomado a lo largo de la vida, hayan sido buenas o malas, por enseñarme a luchar por lo que quiero y a terminar lo

que he empezado, por poner su granito de arena para que hoy sea quién y cómo soy. Sin ellos nunca hubiera llegado hasta aquí. A mi padre por permitirme, desde muy pequeña, conocer y amar a través de sus ojos el mundo de la medicina.

A mis hermanos Déborah, Gaspar y Estrella que siempre están ahí para lo que sea, que han sabido disculpar mis ausencias y siempre han tenido una palabra de ánimo.

A mis hijos, Pablo y Julia, a los que adoro y a los que este proyecto ha robado muchas horas con su madre. Ellos son el sol que brilla cada mañana.

A Javi, por ser el principal responsable de que este trabajo llegara a buen puerto, estando incondicionalmente siempre a mi lado, en los buenos y malos momentos, animándome siempre a continuar. Le doy las gracias por todos los esfuerzos que ha hecho, por haberme hecho creer cada día que podía hacerlo, por toda su ayuda y, sobretodo, por hacerme tan feliz. Por todo eso y mucho más este trabajo también es suyo. Seguimos caminando juntos.

A las personas que no aparecen aquí con nombres y apellidos pero han estado presentes de alguna forma durante el desarrollo de esta tesis y han hecho posible que hoy vea la luz.

“La vida es aquello que te va sucediendo mientras tú te empeñas en hacer otros planes”.

John Lennon

INDICE GENERAL

I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	21
1. ESTRÉS OXIDATIVO	24
1.1. CONCEPTO DE ESTRÉS OXIDATIVO	24
1.2. CONCEPTO DE RADICAL LIBRE	24
1.3. RADICALES LIBRES DE OXÍGENO	25
1.3.1. Radical superóxido	26
1.3.2. Peróxido de hidrógeno	27
1.3.3. Radical hidroxilo	28
1.3.4. Oxígeno singlete	29
1.3.5. Radical peroxilo	29
1.4. RADICALES LIBRES DE NITRÓGENO (RLN)	29
1.4.1. Óxido nítrico	30
1.4.2. Peroxinitritos	31
1.4.3. Dióxido de nitrógeno	32
1.5. MECANISMOS ANTIOXIDANTES	32
1.5.1. Antioxidantes enzimáticos	33
1.5.1.1. Superóxido dismutasas	33
1.5.1.2. Peroxidasa	35
1.5.1.3. Catalasa	35
1.5.2. Antioxidantes no enzimáticos	35
1.5.2.1. Vitaminas antoxidantes	35
1.5.2.2. Glutati6n	37
1.5.2.2.1. Síntesis de glutati6n	39
1.5.2.2.2. Degradaci6n de glutati6n	43
1.5.2.2.3. Funciones del glutati6n	44

2. LA CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA COMO MODELO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	46
3. SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	49
3.1. FASES DEL SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	51
3.1.1. Fase de isquemia	51
3.1.2. Fase de reperfusión	54
3.2. PAPEL DE LAS PLAQUETAS EN LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	59
3.3. PAPEL DEL COMPLEMENTO EN LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	59
3.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA	60
3.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL DAÑO POR REPERFUSIÓN	63
3.5.1. Disfunción contráctil o miocardio aturdido	63
3.5.2. Arritmias de reperfusión	65
4. CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA Y REACCIÓN INFLAMATORIA SISTÉMICA	66
4.1. INICIO DE LA REACCIÓN INFLAMATORIA SISTÉMICA POR CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA	66
4.2. CONTACTO DE LA SANGRE CON EL SISTEMA DE CIRCULACION EXTRACORPÓREA	67
4.3. ENDOTOXEMIA	69
5. LIBERACIÓN DE CITOQUINAS	70
6. SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICO (SRIS)	74

7. SISTEMAS DE PUNTUACIÓN	81
8. ANESTESIA GENERAL	82
8.1. PREACONDICIONAMIENTO ANESTÉSICO	82
8.2. POSTACONDICIONAMIENTO ANESTÉSICO	84
8.3. ANESTESIA INHALATORIA CON SEVOFLUORANO	85
9. ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO	86
II. <u>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u>	89
1. HIPÓTESIS	91
2. OBJETIVOS	93
III. <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	95
1. PACIENTES	97
1.1. SELECCIÓN DE PACIENTES	97
1.1.1. Criterios de inclusión	97
1.1.2. Criterios de exclusión	98
1.2. TÉCNICA QUIRÚRGICA	98
1.3. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS	99
2. VARIABLES ANALIZADAS	100
2.1. ANALÍTICAS	100
2.1.1. Parámetros analíticos básicos inflamatorios y de función de órganos	100
2.1.2. Estado oxidativo	101
2.1.3. Agregación plaquetaria	101
2.1.4. Interleuquinas	102

2.2. VARIABLES CLÍNICAS	102
2.2.1. Epidemiológicas	102
2.2.2. Antropométricas	103
2.2.3. Variables quirúrgicas	103
2.2.4. Variables postquirúrgicas	103
2.2.5. Variables de sistema de puntuación y clasificación	103
2.2.6. Variables evolutivas	104
3. CONCEPTO DE SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICO ASOCIADO A CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA (SRIS-CEC)	105
4. SISTEMA DE PUNTUACIÓN DE ARISTÓTELES	106
5. DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ESTRÉS OXIDATIVO	108
5.1. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE GLUTATIÓN	108
5.2. VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS	109
5.3. REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GLUTATIÓN TOTAL POR ESPECTROFLOROMETRÍA	110
5.4. DETERMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN CON ÁCIDO (TBARS)	110
5.5. COMPONENTES DE LA SOLUCIÓN DE INCUBACIÓN PARA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA	112
6. ÍNDICES VASOACTIVOS	114
7. ESTADÍSTICA	115
8. ASPECTOS ÉTICOS	116

IV. <u>RESULTADOS</u>	119
1. RESULTADOS GENERALES / EPIDEMIOLOGICOS	121
2. PARÁMETROS ANALÍTICOS GENERALES	128
3. VALORACIÓN DEL ABORDAJE EXTRA O INTRACARDIACO	137
4. AGREGACIÓN PLAQUETARIA	137
5. SANGRADO POSTOPERATORIO	141
6. ESTRÉS OXIDATIVO Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA	142
7. RESULTADOS DE PARÁMETROS DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA	144
8. RESULTADOS DE CORRELACIONES ENTRE ANALITOS SEGÚN TIEMPOS DE CLAMPAJE Y CEC	157
9. VARIABLES CLÍNICAS	169
10. CORRELACIONES ENTRE VARIABLES CLÍNICAS Y ANALÍTICAS	181
11. CURVAS ROC	191
V. <u>DISCUSIÓN</u>	199
1. GENERALIDADES	201
2. EDAD INFANTIL	206

3. EPIDEMIOLOGÍA DE NUESTRA SERIE	207
4. PARÁMETROS ANALÍTICOS GENERALES	211
5. EXTRA E INTRACARDIACA	215
6. AGREGACIÓN PLAQUETARIA Y TIEMPOS DE SANGRADO	215
7. ESTRÉS OXIDATIVO	218
8. INTERLEUQUINAS	220
9. CORRELACIONES ENTRE ANALITOS SEGÚN TIEMPOS DE CLAMPAJE Y CEC	224
10. VARIABLES CLÍNICAS Y COMPARACIÓN CON OTROS ANALITOS	228
11. COMENTARIOS FINALES	235
VI. <u>CONCLUSIONES</u>	239
VII. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	247
VIII. <u>PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTE TRABAJO</u>	271

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de enzima NADPH oxidasa fagocítica.	27
Figura 2. Reacciones de formación de especies reactivas del oxígeno (ERO).	27
Figura 3. Estructura química del Glutati6n reducido o GSH (N-N-L-gamma-glutamil-L-cisteinil-glicina).	38
Figura 4. Estructura química del Glutathion oxidado o GSSG (L-gamma-glutamil- L-cisteinil-glicina disulfuro).	39
Figura 5. Principales reacciones bioquímicas en torno a la síntesis y degradaci6n del glutati6n.	41
Figura 6. Metabolismo hepático de la metionina, vía de la transulfuraci6n para la conversi6n de metionina en cisteína y síntesis de glutati6n.	43
Figura 7. Ciclo de oxidaci6n-reducci6n (redox) del glutati6n.	45
Figura 8. Interacci6n endotelio-neutr6filos en isquemia-reperfusi6n.	50
Figura 9. Nucle6tidos y nucle6sidos en isquemia-reperfusi6n.	50
Figura 10. Mecanismos implicados en isquemia-reperfusi6n.	52
Figura 11. Mediaci6n del daño a trav6s de activaci6n de metaloproteinasas (MMP2).	57
Figura 12. Representaci6n del daño de membrana epitelial por radicales libres.	58
Figura 13: Evoluci6n temporal de la concentraci6n de PBN en sangre perif6rica (círculos) y seno coronario (cuadrados).	69
Figura 14: Lipopolisacarido A.	70
Figura 15: Liberaci6n de IL-10 en cirugía coronaria con y sin CEC.	73
Figura 16. Esquema de la fase de reoxigenaci6n y perfusi6n.	80
Figura 17. Distribuci6n por sexos.	121
Figura 18. Diagrama de cajas de algunos datos antropométricos (IMC, Peso, Talla).	122
Figura 19. Otros datos de antropometría (CMB, pT, pB).	122

Figura 20. Gráficos de barras de frecuencia de las cardiopatías intervenidas y agrupadas en base al shunt existente y a si son extra o intracardiacas.	125
Figura 21. Gráficos de barras de los tiempos de circulación extracorpórea (CEC) y de clampaje aórtico.	127
Figura 22. Gráficas de evolución temporal de diversos analitos.	129
Figura 23. Gráfica de enzimas musculares en base a tipo de sección quirúrgica realizada (1: auriculotomía, 2: ventriculotomía; 3: extracardiaca).	130
Figura 24. Parámetros de estrés oxidativo e interleukinas en los tiempos PO1 y PO2 de extracción analítica, en relación a cirugía extra o intracardiaca.	133
Figura 25. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por colágeno.	137
Figura 26. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por AA.	138
Figura 27. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por ADP.	138
Figura 28. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por los diferentes estimulantes.	139
Figura 29. Cinética de valores de principales interleucinas estudiadas (pg/ml).	147
Figura 30. Gráficas de correlaciones estadísticamente significativas entre interleukinas y diversas variables en el postoperatorio inmediato (PO1).	151
Figura 31. Gráficas de correlaciones estadísticamente significativas entre interleukinas y diversas variables en el postoperatorio tardío (PO2).	155
Figura 32. Resultados de diversos analitos según el tiempo de CEC en cada uno de los dos momentos postoperatorios.	157
Figura 33. Gráficas de correlaciones entre tiempo de CEC y otras variables clínicas.	174
Figura 34. Gráficas de correlaciones entre diversas variables clínicas.	177
Figura 35. Correlaciones clínico-analíticas con resultado significativo.	181
Figura 36. Diagramas de cajas de las comparativas de la presencia de SRIS-CEC con tiempo de estancia, puntuación de Aristóteles ampliado, glutatión tras 24h, interleuquina 10 en postoperatorio inmediato, porcentaje de cambio de glutatión total entre tiempo 1 y 3, diferencia de glutatión total	

entre tiempo 1 y 3.	190
Figura 37. Curvas ROC para valoración de capacidad predictiva de SRIS-CEC.	192
Figura 38. Gráfica de cinética de IL-6 y TNF α en primeras 24h postoperatorias comparando cirugía con bypass cardiopulmonar clásico y mínima CEC.	225
Figura 39. Liberación transcárdica de peróxidos de lípidos antes del paro cardíaco y a los 5 y 20 minutos de la reperfusión.	227

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las principales variables antropométricas.	123
Tabla 2. Tipos de cirugía incluídas.	124
Tabla 3. Tablas de valores de PCR, PCT, láctico y enzimas cardiacas (CPKmb y troponina) y comparaciones en los tres momentos de estudio.	128
Tabla 4. Análisis estadístico de los diferentes analitos en los tiempos PO1 y PO2 en base a cirugía extra o intracardiaca.	131
Tabla 5. Tabla de valores de agregación plaquetaria.	140
Tabla 6. Análisis estadístico para valores de agregación plaquetaria.	140
Tabla 7. Tabla de valores de parámetros de EO y de peroxidación lipídica.	142
Tabla 8. Análisis estadístico para valores de MDA y los diferentes glutaciones.	143
Tabla 9. Tablas de valores de analitos de respuesta inflamatoria sistémica (interleuquinas) y comparaciones en los tres momentos de estudio.	145
Tabla 10. Análisis estadístico para valores de interleucinas estudiadas en pg/ml.	146
Tabla 11. Tabla de correlaciones de citoquinas en cada uno de los tiempos postoperatorios con las demás variables bioquímicas en esos tiempos.	150
Tabla 12. Estadísticos de correlación de tiempos de CEC y clampaje aórtico con variables de defensa antioxidante y peroxidación lipídica.	165
Tabla 13. Estadísticos de correlación entre glutaciones y tipo de cardiopatía.	166
Tabla 14. Relación entre estrés oxidativo y las demás variables analíticas en cada uno de los tiempos.	167
Tabla 15. Estadísticos de correlación entre variables clínicas.	170
Tabla 16. Correlaciones entre variables clínicas y analíticas.	180
Tabla 17. Resumen descriptivo de variables clínicas.	182

Tabla 18. Porcentaje de cambio de variables de estrés oxidativo en los tres tiempos.	182
Tabla 19. Análisis univariante de variables de estrés oxidativo respecto a las diferentes variables resultado.	183
Tabla 20. Porcentaje de cambio de malondialdehído (MDA) en los tiempos PRE vs PO1 (MDA_p1) correlacionado con desarrollo de sepsis.	187
Tabla 21. Valores de principales datos clínicos pronósticos considerados para correlacionarse con variables de evolución.	187
Tabla 22. Factores correlacionados con el desarrollo de SRIS-CEC. Comparaciones entre los que cumplen criterios de SRIS y los que no los cumplen.	188
Tabla 23. Marcadores de estrés oxidativo relacionados con variables clínicas.	189
Tabla 24 – Factores correlacionados con el desarrollo de SRIS-CEC. Comparaciones de niveles de glutatión en tiempo postoperatorio tardío entre los que cumplen criterios de SRIS y los que no los cumplen.	191
Tabla 25. Descripción de variables clínicas y analíticas en su capacidad de discriminación de mala evolución.	193
Tabla 26. Descripción de variables clínicas y analíticas en su capacidad de discriminación de SRIS-CEC.	195
Tabla 27. Predictores independientes de los distintos parámetros clínicos.	196

ABREVIATURAS

AA Ácido araquidónico	EC-SOD Superóxido dismutasa extracelular
ADP Adenosin difosfato	EDRF Factor relajante derivado del endotelio
ADN o DNA Ácido desoxirribonucleico	EDTA Etilendiaminotetraacético
ADNmit ADN mitocondrial	ELISA Enzimoimmunoensayo
ARN Ácido ribonucleico	eNOS Óxido nítrico sintasa endotelial
ATP Adenosín trifosfato (trifosfato de adenosina)	EO Estrés oxidativo
BH₄ Tetrahidrobiopterina	EP Estenosis pulmonar
CAT Enzima catalasa	ERO especies reactivas de oxígeno
CEC Circulación extracorpórea	EN Estrés nitrosativo
CIA Comunicación interauricular	FAD Dinucleótido de flavina-adenina
CIV Comunicación ventricular	FiO₂ Fracción inspiratoria de oxígeno
CMB circunferencia muscular del brazo	GCS γ -glutamil cisteína sintetasa
CO₂ Dióxido de carbono	GGT Enzima gamma-glutamil-transpeptidasa
COX Enzima ciclooxigenasa	G6PDH Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa
CPK Creatínfosfokinasa	GMPC Guanil monofosfato cíclico
Creat Creatinina	GOT Transaminasa glutámico oxalacética
CuZn-SOD Isoforma citoplasmática de la enzima superóxido dismutasa	GPT Transaminasa glutámico-pirúvica
D-I Derecha-izquierda	GPX Glutation peroxidasa
EA Estenosis aórtica	GR Glutation reductasa

GS Glutation sintetasa	iNOS Óxido nítrico sintasa inducible
GSH Glutación reducido	IP3 Inositol trifosfato
GSSG Glutación oxidado	IQ Rango Intercuartílico
GST Glutación total	IR Isquemia-Reperfusión
Hb Hemoglobina	IS Inotrope score
Hcto Hematocrito	MAT metionina adenosil-transferasa
HO₂ Radical hidroperóxido	MDA Malondialdehido
HO Radical hidroxilo	Mn-SOD Isoforma mitocondrial de la enzima superóxidodismutasa
H₂O₂ Peróxido de hidrógeno	NAD⁺ Nicotinamida adenina dinucleótido (oxidada)
I-D Izquierda-derecha	NADH Nicotinamida adenina dinucleótido (reducida)
IL Interleuquina (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10)	NADP⁺ Nicotinanida Adenina Dinucleótido Fosfato (oxidada)
IMC Índice de masa corporal	NADPH Nicotinanida Adenina Dinucleótido Fosfato (reducida)
iNOS Óxido nítrico sintasa inducible	NO· Óxido nítrico
Hb Hemoglobina	NO₂· Dióxido de nitrógeno
Hcto Hematocrito	NO₂⁻ Nitritos
HO₂ Radical hidroperóxido	NO₃⁻ Nitratos
HO Radical hidroxilo	N₂O₃ Trióxido de nitrógeno
H₂O₂ Peróxido de hidrógeno	
I-D Izquierda-derecha	
IL Interleuquina (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10)	
IMC Índice de masa corporal	

NOS Enzima óxido nítrico sintasa	PRE Preoperatorio
O₂⁻ Radical superóxido	PRISM Pediatric Risk of Mortality
1O₂ Oxígeno singlete	PT Pliegue tricípital
ONOO⁻ Peróxido de nitrógeno (peroxinitritos)	RACHS Risk adjustment for congenital heart surgery
PA Fosfatasa alcalina	RIS Respuesta inflamatoria sistémica
paO₂ Presión parcial de oxígeno arterial	RLN Radicales libres nitrogenados
PB pliegue braquial	RLO Radicales libres de oxígeno
PCA Preacondicionamiento anestésico	RNS Especies reactivas de nitrógeno
PCR Proteína C Reactiva	ROO[·] Radical peroxilo
PCT Procalcitonina	ROS Especies reactivas de oxígeno
PG Prostaglandinas	SAMe S-adenosilmetionina
Pi Fósforo inorgánico	SDMO Síndrome de disfunción multiorgánica
PIM Pediatric Index of Mortality	SDS Desviación estándar
PIP₂ Fosfatidilinositol	SRIS Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
PL Peroxidación lipídica	TBARS ácido tiobarbitúrico
PLC Fosfolipasa C	TGA Transposición de grandes arterias
PMN Polimorfonucleares	TnI Troponina I
PO₁ Reperusión precoz	TNFα Factor de necrosis tumoral alfa
PO₂ Reperusión tardía	UCIP Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos

VD Ventrículo derecho

VI Ventrículo izquierdo

VM Ventilación mecánica

VIS Vasoactive Inotrope Scoring

VCAM-1 moléculas de adhesión

XD Xantina deshidrogenasa

XO Xantina oxidasa

I. INTRODUCCIÓN

Las malformaciones cardíacas constituyen un grupo importante dentro de las malformaciones congénitas. Aun así son poco frecuentes, con un promedio de 8 de cada 1000 recién nacidos vivos. Existen, además, múltiples variantes y combinaciones entre ellas, lo que explica que continúen siendo un auténtico reto diagnóstico y terapéutico.

La cirugía cardíaca bajo circulación extracorpórea (CEC) requiere, en la mayoría de los casos, del pinzamiento de la aorta durante un periodo de tiempo más o menos prolongado, lo que supone la interrupción del flujo coronario e isquemia miocárdica. En la actualidad disponemos de diferentes técnicas de protección miocárdica para minimizar sus consecuencias. Éstas intentan disminuir al máximo el consumo de oxígeno tisular durante los periodos de isquemia, aportar los nutrientes necesarios para el miocardio isquémico y prevenir los efectos perjudiciales del restablecimiento de la perfusión miocárdica. A pesar de ello, no se ha conseguido hasta el momento que ninguna de ellas sea capaz de abolir por completo el daño por isquemia y reperfusión (I-R).

Además, aunque se están desarrollando continuamente nuevas tecnologías que hacen a las tubuladuras, cánulas y oxigenadores más biocompatibles, todavía se produce una importante reacción inflamatoria sistémica en todos los pacientes cuando la sangre entra en contacto con las superficies no endotelizadas del sistema.

La cirugía cardíaca y la circulación extracorpórea, en concreto, constituyen, por tanto, un escenario ideal para el estudio del daño por isquemia-reperfusión, al ser procesos reproducibles, con una isquemia larga y una reperfusión controlada. Durante el proceso de abolición del flujo sanguíneo de un órgano y de su posterior restauración se desarrollan cronológicamente una serie de lesiones que serán reversibles o no y determinarán la viabilidad funcional del tejido. Múltiples estudios han defendido la clara implicación del estrés oxidativo en la lesión miocárdica por isquemia-reperfusión (apoptosis y necrosis de

los miocitos, disfunción contráctil reversible *-aturdimiento miocárdico-*, arritmias, alteraciones vasculares).

1. ESTRÉS OXIDATIVO

1.1. CONCEPTO DE ESTRÉS OXIDATIVO

La oxidación es un proceso bioquímico de pérdida de electrones (e^-) asociado a otro de captación que llamamos reducción. Esta oxidación es fundamental para la vida (*Granot 2004*) pues participa en los procesos de obtención de la energía celular.

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia la oxidación de biomoléculas y por ende daño tisular tanto estructural como funcional, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social.

El EO está implicado en la patogénesis de una gran variedad de procesos fisiológicos en el ser humano, como la regulación metabólica, la activación e inactivación de biomoléculas, la transducción de señales celulares, la obtención de energía, etc.

1.2. CONCEPTO DE RADICAL LIBRE

Los radicales libres (RL), según Halliwell y cols., se definen como cualquier sustancia (molécula o átomo) capaz de una existencia independiente, que contiene uno o más electrones no apareados en su última órbita electrónica.

Su carga puede ser positiva, negativa o neutra. Su situación energética es muy inestable, y su alta reactividad condiciona que su vida sea muy corta, del orden de milisegundos. Su presencia genera una cadena de reacciones de transferencia de electrones con las moléculas vecinas, que a su vez se convierten en RL. Sólo si dos radicales libres se unen desaparecerá su actividad como tal. Son las principales sustancias oxidantes de los sistemas biológicos.

A pesar del papel fisiológico que desempeñan algunos RL, también pueden producir reacciones de oxidación indeseadas. Los procesos en cuyo daño se implican son muy variados (*Inafuku H et al 2013*).

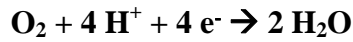
1. Desnaturalización de cadenas de DNA.
2. Liberación de factores quimiotácticos que provocan la llegada de leucocitos activados que a su vez generan más radicales libres.
3. Inicio de la peroxidación lipídica, que genera hidroperóxidos, aldehídos y endoperóxidos, con daño en las proteínas y DNA.
4. Desnaturalización de las proteínas presentes en el citosol y las enzimas de membrana, incluyendo un inhibidor de alfa-1-antitripsina.

1.3. RADICALES LIBRES DE OXÍGENO

Los radicales libres de oxígeno (RLO) son aquellos en los que el electrón desapareado se sitúa sobre el átomo de oxígeno. Estos RLO destacan tanto por su abundancia como por su lesividad. Se agrupan genéricamente bajo el término “especies reactivas de oxígeno” (ERO), término colectivo que incluye tanto radicales libres de oxígeno como sustancias “no radicales” que son agentes oxidantes que se convierten fácilmente en radicales como el Peróxido de Hidrógeno (*Buonocore et al 2010*).

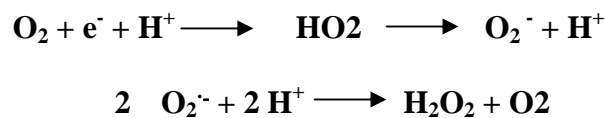
Generalmente el oxígeno se encuentra en su forma más estable, la molécula diatómica O_2 , de reactividad moderada. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte

del oxígeno molecular (95%) hasta agua, sin formación de intermediarios tóxicos, mediante reducción tetravalente (*Romero et al 1988*):



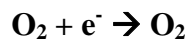
Si el oxígeno se reduce por el aporte de menos electrones, en su orbital externo queda un electrón desapareado, formando un RL; esto ocurre en un 5% de los casos.

Así, si se reduce por el aporte de un solo electrón, se forma el denominado radical perhidroxilo (HO_2), que se ioniza rápidamente formando el anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), el cual se dismuta rápidamente a través de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en peróxido de hidrógeno (*Santrucek y Krepelka 1988*):



1.3.1. Radical superóxido:

La reducción del oxígeno mediante transferencia de un electrón, produce el anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$).

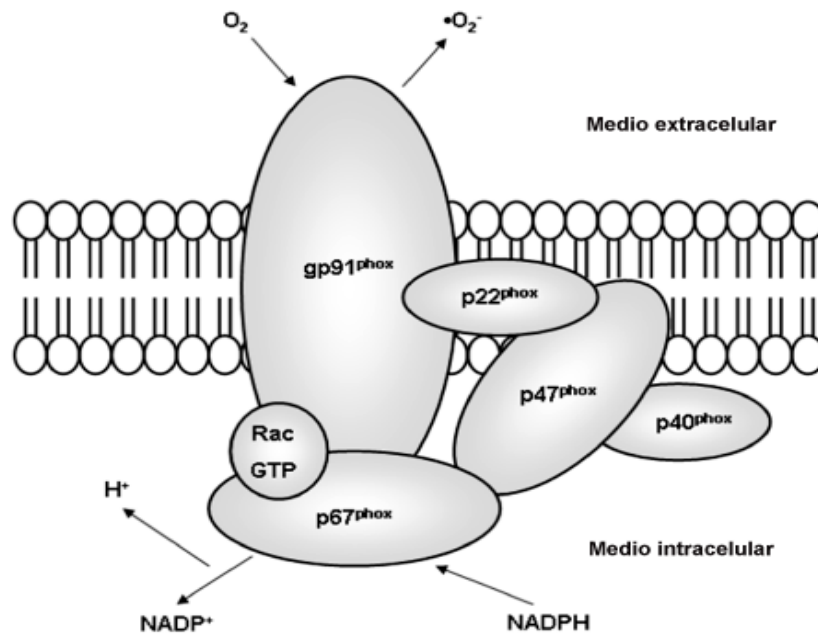


Es relativamente poco reactivo, pero potencialmente tóxico, ya que puede interactuar con otras moléculas para generar ERO secundarias. Por ello se le conoce como la ERO primaria (*Valko et al, 2007*).

El $\text{O}_2^{\cdot-}$ es introducido por la cadena respiratoria mitocondrial, por flavoproteínas como la xantina oxidasa, por ciclooxigenasa y lipoxigenasa, o por la NOS. La enzima NADPH-oxidasa presente en la membrana plasmática de las células fagocíticas es una importante fuente endógena de producción de radical superóxido y peróxido de hidrógeno, siendo éste uno de sus mecanismos de defensa frente a los microorganismos (figura 1).

Figura 1. Estructura de enzima NADPH oxidasa fagocítica. La producción de O_2^- extracelular ocurre por la reducción de un electrón del O_2 mediante gp91phox.

Adaptado de Dustin et al 2004.



El O_2^- induce contracción vascular (Tosaka et al 2002; Didion et al 2002) y vasodilatación (Marín et al 1995; Winterbourn 2008).

1.3.2. *Peróxido de hidrógeno:*

El H_2O_2 se forma por dismutación del anión superóxido, reacción catalizada por la superóxido dismutasa (SOD) o directamente, por reducción bivalente del oxígeno:

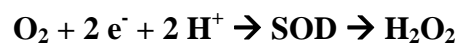
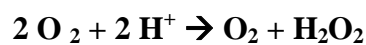
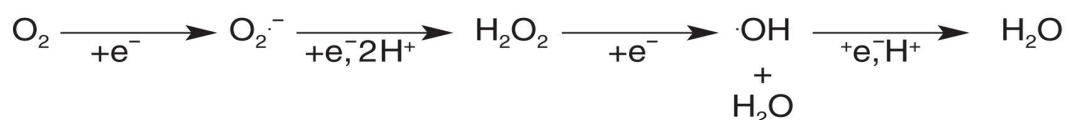


Figura 2. Reacciones de formación de especies reactivas del oxígeno (ERO). Vía de producción de las ERO, desde Oxígeno hasta agua.



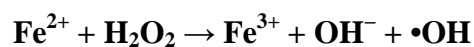
El lugar principal de producción es la mitocondria, seguida por los peroxisomas y el citosol.

Es una ERO ya que no presenta electrones desapareados, pero es capaz de atravesar membranas biológicas y generar radicales hidroxilo.

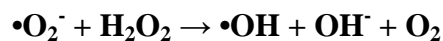
El H_2O_2 tiene efecto vasoconstrictor en algunos vasos, como en las arterias renales (*Gao et al 2001*); y vasodilatador en otros como las arterias mesentéricas (*Hayabuchi et al 1998*). Y en otros como la aorta se han observado ambos efectos (*Gil-Longo y González-Vázquez 2005*). También puede provocar vasoconstricción mediada por la liberación de productos derivados de COX, como el tromboxano (*Gao et al 2001*).

1.3.3. Radical hidroxilo:

Es la ERO más reactiva. Su principal fuente es la descomposición del peróxido de hidrógeno en presencia de metales de transición, fundamentalmente hierro y cobre, sin la presencia del anión superóxido, a través del sistema ferroso-férrico como transportador de electrones. Es la “Reacción de Fenton”, descrita por *Liochev y Fridovich 1994* y *Leibfritz et al 2007*.



El peróxido de hidrógeno reacciona con el anión superóxido para formar el radical hidroxilo. Esta reacción, de Haber-Weiss está catalizada por metales como el hierro o el cobre:



Su tendencia “in vivo” es reaccionar con peróxidos lipídicos formados, dando lugar a radicales peroxilo. Se le considera, por tanto, uno de los principales iniciadores de la peroxidación lipídica.

1.3.4. Oxígeno singulete (1O_2)

Es un estado electrónicamente excitado del oxígeno y es una especie electrofílica sumamente reactiva. La generación fotoquímica de esta especie consiste en la transferencia de energía desde una molécula electrónicamente excitada debido a la absorción de un cuanto de luz, denominada comúnmente sensibilizador, al oxígeno. Como consecuencia de esta transferencia se regenera el sensibilizador en su estado basal y el oxígeno queda en su estado excitado singlete (*Scott et al 1991*).

Su vida media es muy corta. Puede formarse durante la oxidación del NADPH en los microsomas y por la actividad de varias enzimas: lactoperoxidasa, xantina-oxidasa, lipooxigenasa, prostaglandín-sintetasa, etc. Puede actuar sobre los ácidos grasos produciendo daño celular.

1.3.5. Radical peroxilo ($ROO\cdot$)

Es menos activo, más abundante y de vida media más larga que otros radicales libres. Son un producto intermedio de la peroxidación lipídica.



1.4. RADICALES LIBRES DE NITRÓGENO (RLN)

De los tres compuestos derivados del nitrógeno: anión peroxinitrito ($ONOO^-$), el dióxido de nitrógeno ($NO_2\cdot$) y el óxido nítrico ($NO\cdot$), destaca, por su función, éste último.

Denominamos estrés nitrosativo (EN) al exceso de producción de especies reactivas de nitrógeno (ERN), que es capaz de inducir la peroxidación lipídica, interferir con la señalización celular por nitración de residuos tirosina, oxidar grupos tioles y guanosinas, degradar carbohidratos y de fragmentar ADN (*Beckman y Ames 1998*).

1.4.1. Óxido nítrico (NO)

En 1980, el Dr. Furchgott y el Dr. Zawadzki utilizando preparaciones de musculatura lisa vascular descubrieron que tras estimular con acetilcolina o carbacol, el endotelio vascular producía un factor vasodilatador con una vida media muy corta el cual, a diferencia de las prostaciclina derivadas del endotelio, no era bloqueado por inhibidores de la ciclooxigenasa. Ellos llamaron a este vasodilatador “Factor Relajante Derivado del Endotelio” (EDRF).

En 1987, comparando las propiedades farmacológicas y bioquímicas de este factor, tres grupos independientes demostraron que el óxido nítrico y el EDRF eran la misma molécula (*Ignarro et al 1987*), Posteriormente se vio que el NO[•] era producido por otros tipos de células y que se podía encontrar en casi todo tipo de tejido.

El NO[•] contiene un electrón desapareado en su capa exterior; por lo que es altamente inestable en el aire, se oxida rápidamente en presencia de oxígeno convirtiéndose en dióxido de nitrógeno. Por esta razón se le considera también como un radical libre.

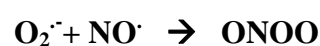
EL NO[•] es sintetizado por una familia de enzimas que son llamadas óxido nítrico sintasas (NOS). Se han identificado tres isoformas de NOS, son hemoflavoproteínas que utilizan L-arginina como sustrato y requieren NADPH, dinucleótido de flavina-adenina (FAD) y tetrahidrobiopterina (BH₄) como cofactores (*Wei et al 2001, Gorren 2002*). La neuronal nNOS (tipo I) y la endotelial eNOS (tipo III) están reguladas por la concentración

intracelular de calcio. La inducible iNOS (tipo II) se expresa en los macrófagos al ser estimulados por citoquinas, lipopolisacáridos u otras sustancias inmunológicas.

En condiciones fisiológicas el óxido nítrico (NO) es un importante regulador de la función miocárdica y el tono vascular. Inhibe la adhesión y la agregación plaquetaria (*King y Brenner 1991*); desempeña una importante función en la modulación de la respuesta inmune, posiblemente a través de la regulación diferencial de la síntesis de citocinas; y actúa como neurotransmisor. Sin embargo, en situaciones patológicas, como la isquemia miocárdica tiene efectos tanto positivos como negativos (*Andelová et al 2005*). Pudiendo tener tanto actividad prooxidante o antioxidante, antiinflamatoria como proinflamatoria. En los procesos inflamatorios, al aumentar las concentraciones de NO[•], puede reaccionar con el oxígeno o con el radical superóxido, aumentando la formación de metabolitos citotóxicos como los peroxinitritos. Además la generación aumentada de RLO, especialmente del radical superóxido, desvía al NO[•] de su metabolismo normal alternando su disponibilidad y aumentando la producción de otros RLN.

1.4.2. Peroxinitritos (ONOO⁻)

El peroxinitrito (ONOO⁻) no es un radical en sí mismo, pero es un agente fuertemente oxidante y nitrante cuyas acciones tóxicas se han visto involucradas en una gran cantidad de patologías, como las enfermedades neurodegenerativas y las enfermedades cardiovasculares. Es una especie reactiva del nitrógeno que se forma por la reacción del óxido nítrico con el anión superóxido:



Es capaz de inducir la peroxidación lipídica, interferir en la señalización celular, degradar carbohidratos y fragmentar el DNA. El ONOO⁻ es capaz de reaccionar con proteínas que tienen iones metálicos como hierro, cobre y manganeso. Estas modificaciones pueden inducir cambios conformacionales en la estructura tridimensional de las proteínas causando la pérdida de su función. Inactiva a la enzima superóxido dismutasa entre otras. Puede oxidar a la BH₄, cofactor de la NOS y de la tirosina hidroxilasa, y también puede oxidar al glutatión reducido, cofactor de la glutatión peroxidasa (*Chirino et al 2006*).

Una vía importante de descomposición del peróxido de nitrógeno *in vivo* es su reacción con el CO₂. Esta reacción origina como compuesto final un potente compuesto nitrante: el trióxido de nitrógeno (N₂O₃).

1.4.3. Dióxido de nitrógeno (NO₂)

El dióxido de nitrógeno (NO₂) es un agente sumamente oxidante, hidrosoluble, constituido por un átomo de nitrógeno y dos átomos de oxígeno en su estructura molecular. Es un RL contaminante que se forma a partir de la oxidación del NO[•] atmosférico y que es capaz de inducir la peroxidación lipídica y la ruptura de cadenas de ADN.

1.5. MECANISMOS ANTIOXIDANTES

Los RL se encuentran en un continuo proceso de formación y transformación. Para mantener el equilibrio entre la presencia de radicales libres en los procesos fisiológicos y su exceso patológico los organismos poseen los denominados sistemas antioxidantes, cuya función es el mantenimiento del equilibrio.

Los antioxidantes son sustancias capaces de impedir significativamente, a concentraciones relativamente bajas, la oxidación producida por los RLO o ERO. Pueden clasificarse en enzimáticos y no enzimáticos.

El sistema antioxidante primario está compuesto fundamentalmente por las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y las enzimas del ciclo redox del glutatión (GSX, GR, G6PDH). Mientras que el complejo secundario está constituido por sustancias de diversas características morfoquímicas. Las enzimas antioxidantes catalizan la ruptura de RL habitualmente a nivel intracelular.

Podemos evaluar el daño oxidativo midiendo los productos de las reacciones oxidativas (peroxidación lipídica, oxidación del DNA, oxidación de proteínas,...) o comprobando como las sustancias antioxidantes se deplecionan.

Lo que sugiere que la eliminación de radicales libres de la célula no se consigue a través de una única vía sino a través de múltiples cascadas (Mruk, Silvestrini et al. 2002).

1.5.1.- Antioxidantes enzimáticos

Incluyen 3 grupos de enzimas: Superóxido dismutasas (SOD), Glutatión peroxidasas (GPx) y catalasas.

1.5.1.1.- Superóxido dismutasas

Las superóxido dismutasas (SOD) son un conjunto de metaloproteínas ampliamente distribuidas que catalizan la dismutación del anión superóxido $[O_2^-]$ en peróxido de hidrógeno y Oxígeno. La catálisis de la reacción de dismutación es espontánea, pero llevada a cabo por la enzima SOD, se incrementa la velocidad del orden de 10.000. Están presentes en todas las células que utilizan en su metabolismo el oxígeno (McCord y Fridovich 1969).

En los mamíferos se distinguen 3 formas de superóxido dismutasas en función del ion metálico de transición que encontremos en su estructura: (i) CuZn-SOD intracelular; (ii) Mn-SOD o intramitocondrial y, (iii) extracelular o EC-SOD.

La CuZnSOD es una proteína soluble que contiene como cofactores cobre y zinc. Existen muchas formas isoméricas localizándose la forma más abundante en el citosol y en menor cantidad en el núcleo de todas las células. Esta isoforma, se encuentra en elevadas concentraciones en hígado, cerebro y testículos y en menor proporción en eritrocitos, pulmón y páncreas.

La MnSOD se encuentra mayoritariamente en la mitocondria de todas las células (*Weisiger y Fridovich 1973*). Su presencia en la mitocondria es de gran importancia, puesto que la cadena respiratoria es una de las principales fuentes generadoras de radicales libres en las células (*Boveris y Chance 1973*).

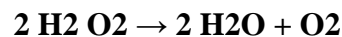
En 1982, Marklund y colaboradores (*Marklund et al 1982*) descubrieron la EC-SOD, glicoproteína hidrofóbica de gran peso molecular que existe principalmente en forma de un homotetrámero. La EC-SOD contiene un dominio heparínico que la une tanto a la matriz tisular como a la superficie celular. Este dominio heparina/matriz es sensible a la proteólisis y de este modo las proteasas pueden liberar la EC-SOD de la matriz tisular y alterar el balance oxidante/antioxidante. Para su actividad enzimática la EC-SOD contiene un átomo de cobre y otro de zinc por subunidad que son fundamentales. La expresión del mRNA y proteína de la EC-SOD es específica de célula y de tejido y es prominente en el epidídimo, pulmón, corazón, vasos sanguíneos, placenta y riñón. Su localización principal en los tejidos es en la matriz extracelular y sobre la superficie celular, donde se halla en mucha mayor concentración (90-99%) que circulando en el plasma (*Mruk et al 2002*).

1.5.1.2.- Peroxidasa

La GPx selenio dependiente, es una proteína tetramérica con cuatro átomos de selenio, conteniendo su centro activo una cisteína en la que el azufre ha sido sustituido por selenio (*Forstrom et al 1978*) viéndose su actividad muy afectada por el contenido de selenio de la dieta (*Ketterer 1986*). La forma no selenio dependiente, sólo tiene actividad frente a peróxidos orgánicos.

1.5.1.3.- Catalasa

La catalasa participa en la eliminación del peróxido de hidrógeno (*Chance et al 1979*), al igual que la GPx, diferenciándose en términos de localización y afinidad por H₂O₂, ya que la catalasa se encuentra fundamentalmente en los peroxisomas y tiene menor afinidad por el H₂ O₂ que GPx.



También es capaz de catalizar ciertas reacciones de peroxidación en presencia de H₂O₂, actuando sobre algunos alcoholes, aldehídos y ácidos orgánicos como sustratos (*Aruoma et al 1989*).

1.5.2.- Antioxidantes no enzimáticos

1.5.2.1.- Vitaminas antioxidantes

Vitamina C o ácido ascórbico

Considerado uno de los más poderosos y quizá el menos tóxico de los antioxidantes naturales. Es soluble en agua y se encuentra en concentraciones elevadas en muchos tejidos, siendo su concentración plasmática de aproximadamente 60 $\mu\text{mol/L}$. Las plantas y la mayoría de los animales pueden sintetizarla a partir de glucosa pero los humanos y otros primates superiores no poseen las enzimas imprescindibles por lo que deben incorporarla de la dieta, siendo su mayor fuente las frutas, especialmente los cítricos.

Sus características estructurales le permiten reaccionar con ERO oxidándose a dihidroascorbato que será reciclado a ácido ascórbico por la enzima dihidroascorbato reductasa. Es efectiva frente a anión superóxido, H_2O , radical hidroxilo y oxígeno singlete.

En solución acuosa también puede reaccionar contra ERN, previniendo la nitración de moléculas diana. Posee propiedades antioxidantes y pro-oxidantes, dependiendo de la concentración tisular de hierro (*Mejia-Toiber et al 2006*). Si la concentración es baja, ejerce un efecto antioxidante, uniéndose al radical superóxido o hidroxilo formando el radical semi-hidroascorbato, que será reducido por GSH. Sin embargo, en situaciones de concentraciones altas, la vitamina C es capaz de catalizar la reacción de Fenton generando ión ferroso que facilita la producción de radical hidroxilo mediante la reacción de Haber-Weiss.

Vitamina E

Bajo esta denominación se incluye una familia de compuestos fenólicos llamados tocoferoles y toco-trienoles existiendo 8 formas. Son altamente lipofílicos y tienden a concentrarse, por tanto, en las membranas biológicas y lipoproteínas plasmáticas, siendo probablemente el antioxidante más potente del organismo por su capacidad como bloqueador de la cadena de lipo-peroxidación (*Mejia-Toiber et al 2006*), secuestrando radicales peroxil lipídicos. El alfa-tocoferol es el antioxidante más eficiente, inhibe la inflamación mediante la

modulación de la señalización celular y la regulación de la transcripción, y estimula la inmunidad.

Vitamina A

La vitamina A es el nombre genérico de un grupo de compuestos liposolubles que tienen la actividad biológica del alcohol primario retinol. Aproximadamente el 90% de las reservas corporales se almacena en el hígado, siendo otros tejidos de almacenajes el ojo y el pulmón, por lo que podemos subsistir largos períodos sin su consumo. La vitamina A es también un poderoso antioxidante que realiza un “quenching físico” de los radicales libres anulando su reactividad (*Peng et al 2004*).

1.5.2.2.- Glutati6n

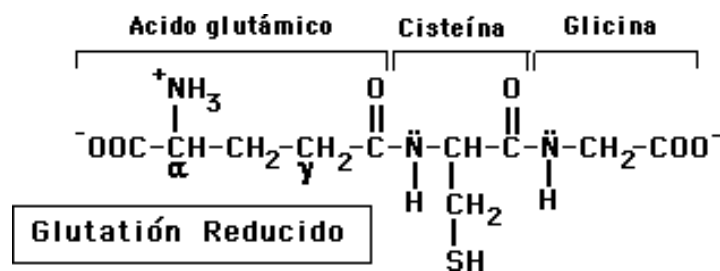
El glutati6n (GSH) es el tiol no proteico de bajo peso molecular con grupo sulfhidrilo m1s abundante en c6lulas de mam1feros con una concentraci6n especialmente elevada en el h1gado (Lu 2009). De hecho, su concentraci6n intracelular (0,5-10 mmol/L) es tan elevada como la concentraci6n de glucosa.

Fue descubierto en el siglo XIX por De Rey-Pailhade. Su estructura qu1mica fue descrita por Harrigon y Mead en 1935, siendo denominado como glutati6n previamente en 1921 por Hopkins.

Tiene numerosas funciones derivadas de su peculiar estructura siendo una de las principales, la protecci6n de la c6lula contra el ataque de radicales libres y otros compuestos t6xicos como las radicales.

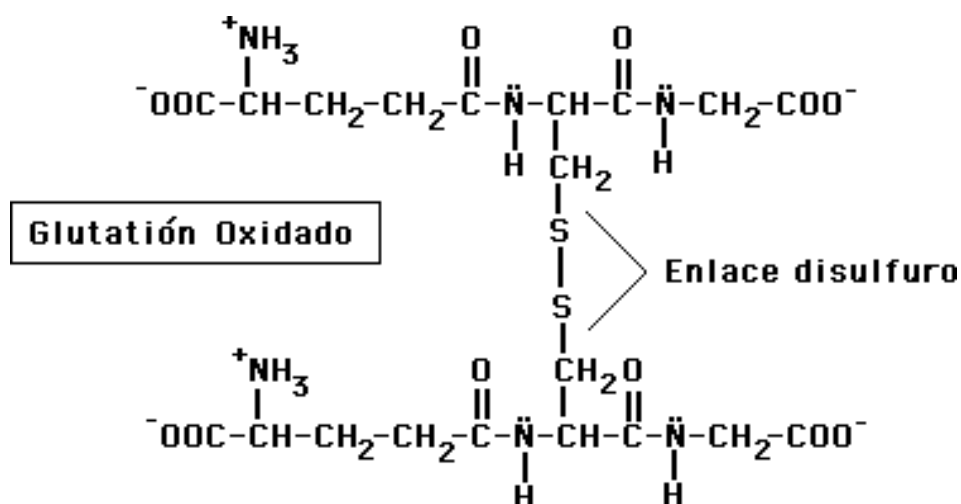
Se trata de un tripéptido formado por los aminoácidos ácido L-glutámico, L-glicina y L-cisteína (Glu-Gly-Cys), que presenta un grupo tiol libre (-SH), que corresponde a la cisteína, y que es el que interviene en las reacciones redox del glutatión. Además, posee un enlace muy particular, el γ -glutamilo, que le hace resistente a la degradación por peptidasas habituales de la célula, conociéndose en la actualidad sólo una enzima capaz de hidrolizarlo, la gamma-glutamil transpeptidasa, situada en la membrana celular.

Figura 3. Estructura química del Glutatión reducido o GSH (N-N-L-gamma-glutamil-L-cisteinil-glicina).



El glutatión se puede encontrar en dos formas, como GSH o glutatión reducido (figura 3) o como GSSG o glutatión oxidado (figura 4), compuesto por dos moléculas de GSH unidas por un puente disulfuro entre las cisteínas (Kaplowitz *et al* 1985). La ratio GSH/GSSG es superior a 10 en condiciones fisiológicas (Wu *et al* 2004) y es una medida muy buena del estrés oxidativo en el organismo (Valko *et al* 2007). Las células eucariotas tienen 3 reservorios mayores de GSH. Se encuentra principalmente en el citosol (85-90%), existiendo un pequeño remanente en mitocondrias (10%) y un pequeño porcentaje en el retículo endoplasmático (Lu 2009).

Figura 4. Estructura química del Glutathion oxidado o GSSG (L-gamma-glutamyl-L-cisteinil-glicina disulfuro).



La concentración extracelular de GSH es relativamente baja (2-20 $\mu\text{mol/L}$) a excepción de la bilis (10 mmol/L) (Wu *et al* 2004) y del fluido de revestimiento epitelial del tracto respiratorio, que forma una interfase entre las células del tracto respiratorio y el aire. Contiene, entre otras sustancias antioxidantes, una elevada concentración de antioxidantes de bajo peso molecular como ascorbato, urato y GSH. El GSH está presente en concentraciones elevadas en el líquido broncoalveolar, siendo su contenido 100 veces mayor que en plasma. Algunos estudios cifran la concentración de GSH del líquido alveolar entre 90-500 μM (Kelly 1999; van der Vliet *et al* 1999).

El GSH está sujeto a constante recambio en el organismo siendo hígado y riñones los principales responsables de su homeostasis. Pulmones, corazón, intestino y músculo también están implicados.

1.5.2.2.1.- Síntesis de Glutathión

La síntesis de GSH se produce en el citosol de la célula en dos etapas, siendo el hígado el órgano con mayor biosíntesis. Es catalizada secuencialmente por dos enzimas

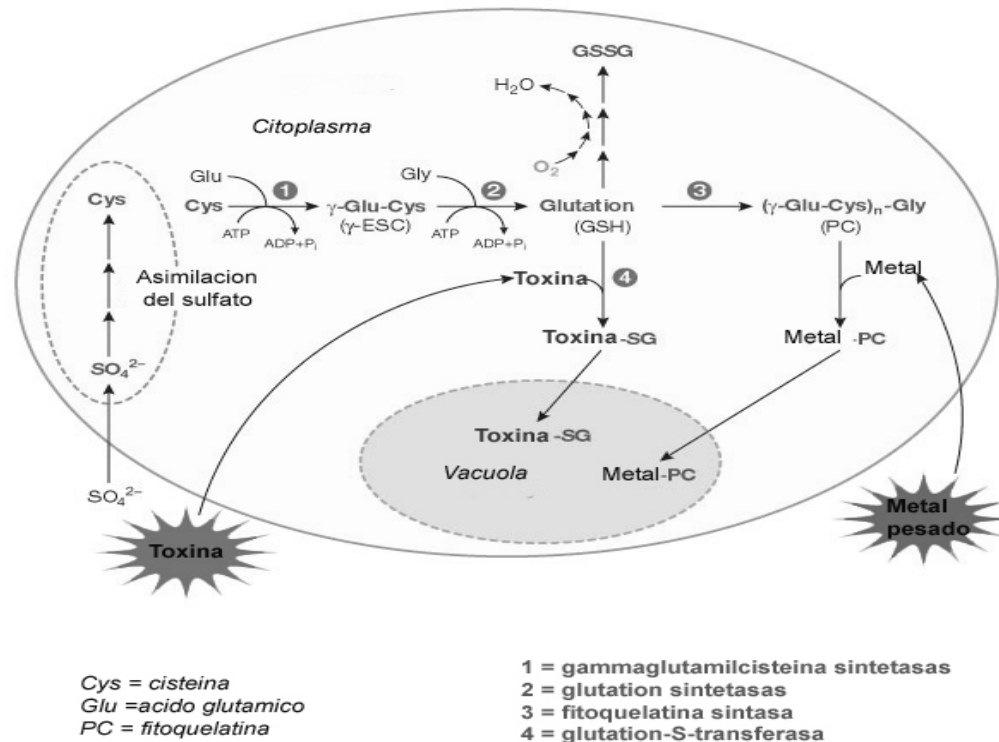
citósolicas dependientes de ATP (figura 5): γ -glutamil cisteína sintetasa (GCS) y glutatión sintetasa (GS) (Wang y Ballatori 1998; Wu et al 2004).

La primera, la γ -glutamil cisteína sintetasa, da lugar a la γ -glutamil cisteína a partir de L-glutámico y L-cisteína y se considera el paso limitante en la síntesis de GSH. La regulación fisiológica de la actividad de la GCS depende de la disponibilidad de L-cys y de la inhibición que ejerce GSH sobre la enzima. Sin embargo, cuando GSH es consumido y la inhibición por GSH se pierde, la disponibilidad de L-cys se convierte en el factor limitante. Está controlada por retroalimentación negativa por su producto final, GSH. Sin embargo, esta retroalimentación puede ser parcialmente prevenida por un exceso de glutamato capaz de bloquear el sitio regulador en la enzima.

El segundo paso está catalizado por la glutatión sintetasa (GS), que une la L-glicina a la γ -glutamil cisteína. Esta enzima se compone de dos subunidades idénticas y no está sujeta a inhibición por retroalimentación negativa por GSH. Sin embargo la deficiencia de GS en humanos puede dar lugar a unos niveles anormalmente bajos de GSH con consecuencias dramáticas ya que el acumulo de γ -glutamil cisteína se convierte en 5-oxoprolina la cual puede causar acidosis metabólica severa, anemia y daño en sistema nervioso central.

Debido a que γ -glutamilcisteína (producto de GCS) está presente en cantidades muy bajas cuando GS está presente, GCS se considera la enzima limitante (Dalton et al 2004). Junto a esto está el hecho de que la sobreexpresión de GS no aumenta los niveles de GSH mientras que la sobreexpresión de GCS sí.

Figura 5. Principales reacciones bioquímicas en torno a la síntesis y degradación del glutatión.



GS es poco importante en la regulación de la síntesis de GSH si que parece que juega un papel importante en ciertos tejidos y/o bajo condiciones estresantes. Por ejemplo, en respuesta a un trauma quirúrgico los niveles de GSH y la actividad de GS en el músculo esquelético se redujeron mientras que la actividad de GCS permaneció sin cambios. Por tanto, es importante considerar GS cuando se estudia la regulación de la síntesis de GSH en condiciones patológicas o estresantes (Lu 2009).

L-cisteína (L-cys) es un aminoácido esencial en sujetos sometidos a estrés por enfermedad (Wu et al 2004). Su metabolismo es especialmente importante en el hígado donde el nivel intracelular de L-cys está regulado por varios mecanismos como son su síntesis a partir de metionina por la vía de la transulfuración, su disponibilidad plasmática, proteólisis, su incorporación en el glutatión y su conversión en taurina. El nivel intracelular

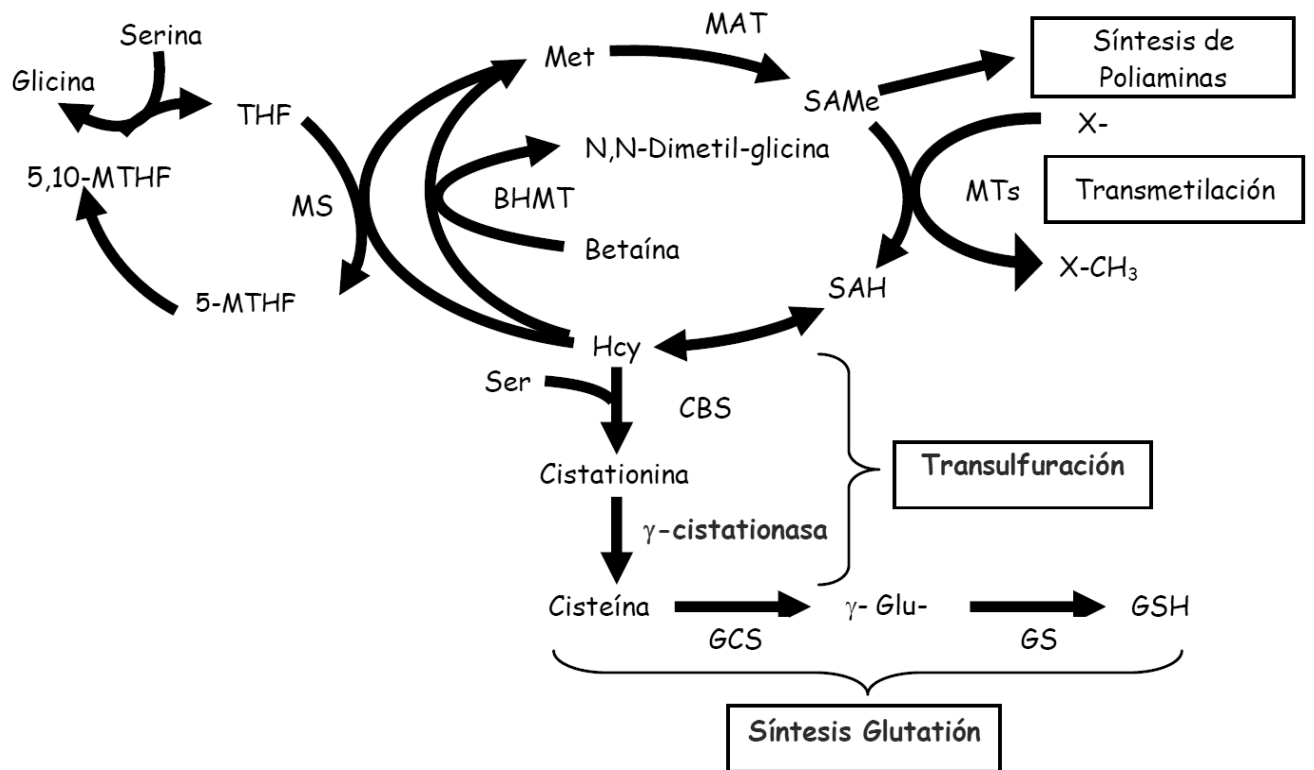
de L-cys es relativamente pequeño comparado con la actividad metabólica de GSH lo que lo convierte en un factor limitante de su síntesis.

La mayor fuente de L-cys procede del catabolismo de la metionina por la vía de la transulfuración, siendo el hígado el lugar de mayor metabolismo y almacenaje de metionina del organismo, vía que ha sido extensamente estudiada por Lu (*Lu 1999*). De hecho, aproximadamente el 50% de L-cys para la síntesis de glutatión procede de esta vía (*Vitvitsky et al 2006*). El último paso en esta vía, consiste en la división de cistationina por la enzima β - cistationasa liberándose L-cys. En esta vía metionina y homocisteína son fácilmente interconvertibles, sin embargo, el siguiente paso es irreversible, estando esta actividad marcadamente afectada en el recién nacido (*Lu 1999*).

La mitad de la ingesta diaria de metionina es catabolizada a S-adenosilmetionina (SAME) en el hígado por la enzima metionina adenosil-transferasa (MAT). SAME es el enlace de 3 vías: síntesis de poliaminas, transmetilación y transulfuración. En la vía de la transulfuración (figura 6), homocisteína se convierte en cisteína, precursor del glutatión.

Se ha visto que la vía de la transulfuración es regulada al alza principalmente por hormonas relacionadas con el estrés como glucagón, glucocorticoides y adrenalina (*Mosharov et al 2000*).

Figura 6. Metabolismo hepático de la metionina, vía de la transulfuración para la conversión de metionina en cisteína y síntesis de glutatión.



1.5.2.2.2.- Degradación del Glutatión.

La degradación de GSH, se produce en la membrana celular a través de las enzimas γ -glutamil transpeptidasa (GGT) y dipeptidasas que sólo están presentes a éste nivel. Como consecuencia, el glutatión es resistente a la degradación intracelular y sólo es metabolizado extracelularmente en aquellos órganos con GGT. El GSH se exporta fuera de la célula por medio de un transportador específico. Una vez fuera, la GGT actúa sobre el enlace γ -glutamilo, rompiéndolo. La actividad de la GGT se localiza en la membrana plasmática de las células. Cuando GSH interacciona con la membrana, la GGT forma un γ -glutamil aminoácido, que entra en el interior de la célula liberándose tras un proceso enzimático, glutamato para la síntesis de GSH. Una dipeptidasa hidroliza la cisteinil-glicina formada por

la GGT. Los aminoácidos resultantes de la degradación, pueden ser reabsorbidos por la célula para reutilizarse en la síntesis de GSH.

1.5.2.2.3.- Funciones del Glutati6n.

El GSH desempeña numerosas e importantes funciones metab6licas, siendo una de las m1s importantes la detoxificaci6n de radicales libres y ERO, y el mantenimiento del estado redox celular. Supone un reservorio de cisteína, y modula procesos celulares como la síntesis de ADN y la funci6n inmune (*Meister y Anderson 1983; Suthanthiran et al 1990*). Adem1s, es capaz de regular la homeostasis del 6xido n1trico (*Hogg 2002*), modula la actividad proteica mediante modificaci6n post-traslacional y modula la actividad de receptores de neurotransmisores.

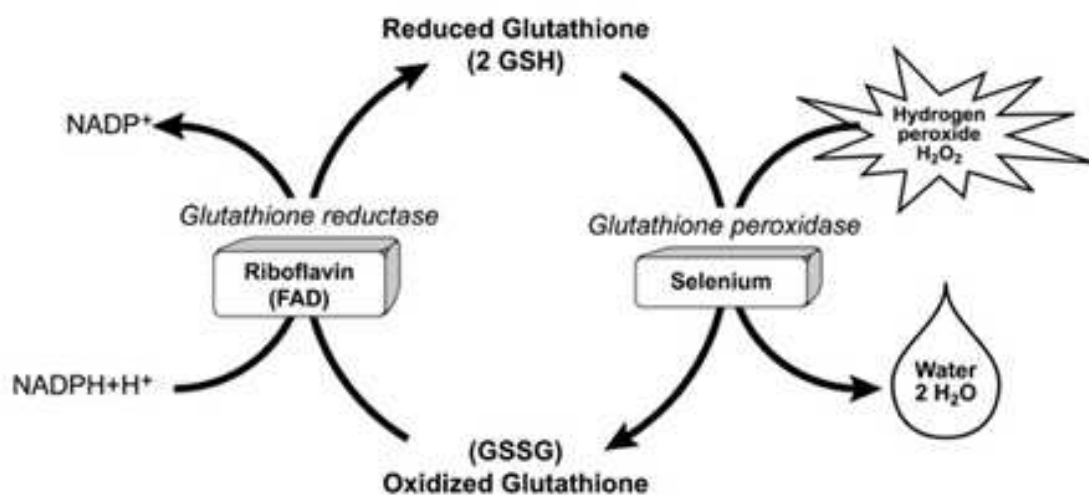
Sus principales funciones son:

- Funci6n redox: Es importante recordar, como se señaala en apartados anteriores que en la actualidad se habla m1s de “ambiente redox” o “redox environment”. El ambiente redox de un conjunto asociado de parejas en los l1quidos biol6gicos, organelas, c1lulas, o tejidos se podr1a definir como la suma del producto de los potenciales de reducci6n y capacidad de reducci6n de las parejas redox presentes” (*Schafer and Buettner 2001*).
- Funci6n detoxificante y antioxidante: La principal funci6n de GSH es la detoxificaci6n de xenobi6ticos y sus metabolitos. Como se ha dicho previamente, las ERO formadas en condiciones fisiol6gicas y patol6gicas, precisan de sustancias antioxidante para su eliminaci6n siendo GSH la principal defensa. Puede actuar sobre los radicales libres de forma directa o a trav1s de reacciones enzim1ticas. Puede reaccionar con sustancias electrof1licas, metabolitos fisiol6gicos (estr6genos,

prostaglandinas y leucotrienos) y xenobióticos para formar mercaptopuratos, reacciones que pueden ser espontáneas o mediadas por una familia de enzimas denominadas Glutación-S-transferasas (GST).

GSH puede formar complejos con metales a través de reacciones no enzimáticas, siendo uno de las más versátiles proteínas de unión a metales y con importantes funciones como el transporte, almacenaje y metabolismo de dichos metales.

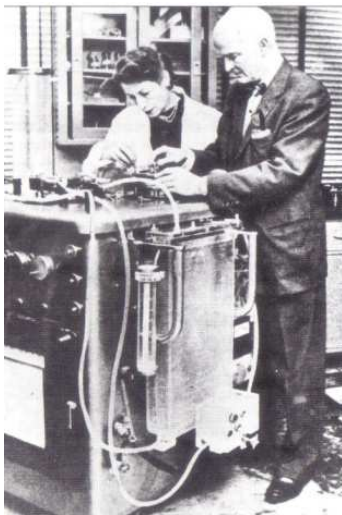
Figura 7. Ciclo de oxidación-reducción (redox) del glutati3n. Una mol3cula de per3xido de hidrogeno es reducida a dos mol3culas de agua, mientras que dos mol3culas de glutati3n (GSH) son oxidadas en una reacci3n catalizada por la seleno-enzima, glutati3n peroxidasa. El glutati3n oxidado puede ser reducido por una enzima dependiente del dinucle3tido de flavina-adenina (FAD), la glutati3n reductasa. Tomado de Oregon State University, 2013.



2. LA CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA COMO MODELO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Las cardiopatías congénitas son defectos del corazón que se presentan al nacimiento y son causados por alteraciones en el desarrollo embrionario del corazón. La etiología se desconoce en la mayoría de las ocasiones. Su incidencia se ha estimado entre 4 y 12 por 1000 recién nacidos vivos (*Moreno Granado 2003*); la mayoría requiere reparación quirúrgica y de ellos un alto porcentaje mediante CEC.

En 1812, Le Gallois indicó que para mantener un órgano vivo, separado y aislado del



resto del cuerpo humano era imprescindible perfundirlo con sangre arterializada. En 1885, Von Frey y M. Gruber construyeron un aparato circulatorio para la oxigenación extracorpórea de la sangre que en su superficie interior exponía una delgada película sanguínea directamente al oxígeno. Pero hasta mediados del siglo XX la mayoría de las cardiopatías congénitas eran casi curiosidades anatómicas y solo se realizaban tratamientos paliativos. En agosto de 1938, Robert

Gross cerró por primera vez un ductus arterioso persistente. Alfred Blalock, en noviembre de 1944 practicó la primera fístula sistémica pulmonar; y Clarence Crafoord, el 19 de Octubre de 1944 realizó la primera corrección de la coartación de aorta. Todos estos procedimientos fueron extracardiacos. Gibbon en 1937 aporta lo que había de ser la mayor contribución al desarrollo de la circulación extracorpórea, al realizar el primer Bypass cardiopulmonar con éxito en un animal de experimentación.

Las primeras intervenciones intracardíacas con circulación extracorpórea en humanos, aunque sin éxito, no se llevaron a cabo hasta 1951.

Dos años después, en 1953, el Dr. Gibbon perfeccionó el sistema de circulación extracorpórea, y cerró con éxito una comunicación interauricular. En 1954, Lillehei cerró una comunicación interventricular con el método de la circulación cruzada. En total fueron operados 46 pacientes pediátricos con dicho método; su equipo había introducido poco antes también la hipotermia general.

Poco a poco aparecieron los oxigenadores de membrana, circuitos con bajos volúmenes de cebado, materiales biocompatibles y más eficientes para perfusiones prolongadas, se introdujo la ultrafiltración, el drenaje venoso asistido, los recuperadores de células sanguíneas, la monitorización permanente de gases arteriales y venosos, así como de la perfusión regional y tisular. El empeño de cirujanos famosos como Björk, Melrose, Mustard, Senning, Crafoord, Bailey y Cooley, junto a ingenieros y otros investigadores, además de importantes avances en la medicina, química, física, bioingeniería, inmunología, biología molecular y fisiología, ayudaron a la evolución rápida y mantenida de la CEC y con ello de la cirugía cardíaca.

En paralelo se ha ido desarrollando las técnicas de hipotermia, siendo inicialmente inducida colocando al paciente, habitualmente un niño, en una tina de agua fría tras la inducción anestésica. Alcanzados los 30°C de temperatura corporal, la anestesia podía ser interrumpida. En ese momento, el paciente era trasladado desde la tina a la mesa de operaciones. A través de una incisión transversal con sección del esternón y apertura de ambas pleuras, la aorta y la arteria pulmonar eran ocluidas, para proceder rápidamente a abrir el corazón y corregir el defecto congénito. Si bien fue John Lewis, en la Universidad de Minnesota, quien efectuó por primera vez, en 1952, una operación a corazón abierto exitosa, consistente en el cierre de una comunicación interauricular, utilizando hipotermia y oclusión

de cavas, el pionero en esta técnica fue Wilfred Bigelow, de la Universidad de Toronto, quien dedicó gran parte de su vida a la investigación sobre la hipotermia. Sin embargo, el héroe y conquistador en el campo de la hipotermia fue Henry Swan, de la Universidad de Colorado, quien acumuló la mayor experiencia clínica en cirugía a corazón abierto con hipotermia, la que presentó en 1955 al Congreso de la American Surgical Association.

Lo que diferencia a la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (CEC) de las demás cirugías, es que durante la CEC se hace pasar a la sangre por una máquina (“corazón-pulmón”) para asegurar la perfusión tisular permitir y el equilibrio entre el aporte y el consumo de oxígeno a los distintos órganos y tejidos. La CEC permite sustituir la función de bombeo del corazón y el intercambio gaseoso de los pulmones.

La cirugía cardíaca con o sin CEC da lugar a una potente respuesta al estrés. Esta respuesta tiene dos componentes importantes que son respuesta inflamatoria sistémica y la liberación de hormonas de estrés como son la epinefrina, norepinefrina, cortisol y hormona adrenocortical. Activadores no específicos de respuesta al estrés incluyen el trauma quirúrgico, la pérdida de sangre, la transfusión y la hipotermia. La CEC puede directamente activar la respuesta inflamatoria por medio de los últimos tres mecanismos mencionados. Otro de los mecanismos es la activación por contacto del sistema inmune seguido de la exposición de la sangre a las superficies extrañas del circuito de CEC. Un segundo mecanismo incluye el daño como un resultado del pinzamiento y despinzamiento aórtico; este daño se debe tanto a la privación del flujo sanguíneo como su posterior restauración, fenómeno conocido como síndrome de isquemia-reperfusión. La endotoxemia sistémica resultante de la hipoperfusión esplácnica, una característica común durante y después de la CEC puede dañar la barrera mucosa y dar lugar a la translocación intestinal de endotoxinas que estimulan indirectamente la activación de la cascada inflamatoria (*Clemont et al 2002*).

3. SINDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Este síndrome conlleva una secuencia compleja de sucesos: la alteración metabólica a nivel celular que aparece durante el periodo de isquemia y la lesión producida por los radicales libres derivados del oxígeno y otros factores que involucran el endotelio vascular y los polimorfonucleares durante la reperfusión.

La isquemia de un órgano se define como la reducción del flujo sanguíneo local de manera que el aporte de oxígeno es menor que la demanda requerida para mantener su función (*Parums 1999*). Cuando esta situación se mantiene de manera indefinida conduce a la muerte celular (*Umanski 1999*).

Si el periodo de isquemia se prolonga durante al menos 45 minutos, la lesión del tejido no estará producida exclusivamente por la isquemia sino que el restablecimiento del flujo sanguíneo o reperfusión también se convierte en deletéreo y produce el llamado “daño por reperfusión”. Si bien se han postulado diversos mecanismos fisiopatológicos para explicar la lesión asociada con la reperfusión, la teoría más aceptada es la que involucra al daño oxidativo con la producción de radicales de oxígeno. El estrés oxidativo, como elemento esencial de daño, permite explicar otras alteraciones que se observan durante la reperfusión; por ejemplo, los radicales libres de oxígeno causan sobrecarga celular de calcio y oxidación de lípidos e inducen quimiotaxis de neutrófilos que puede motivar obstrucción microvascular (*Niccoli et al 2013*).

La acumulación de neutrófilos inducida por isquemia-reperfusión en el intersticio es un mecanismo descrito en tres fases que implican a proteínas complementarias específicas (figura 8).

Figura 8. Interacción endotelio-neutrófilos en isquemia-reperfusión.

Tomado de Gourdin 2013.

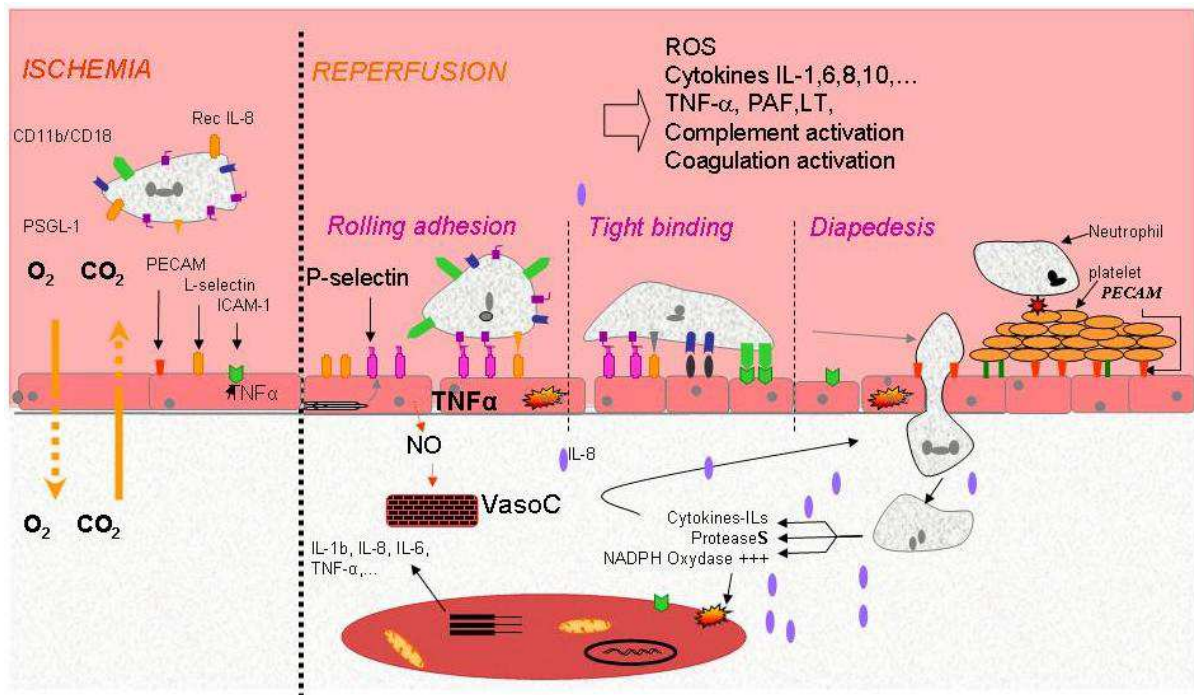
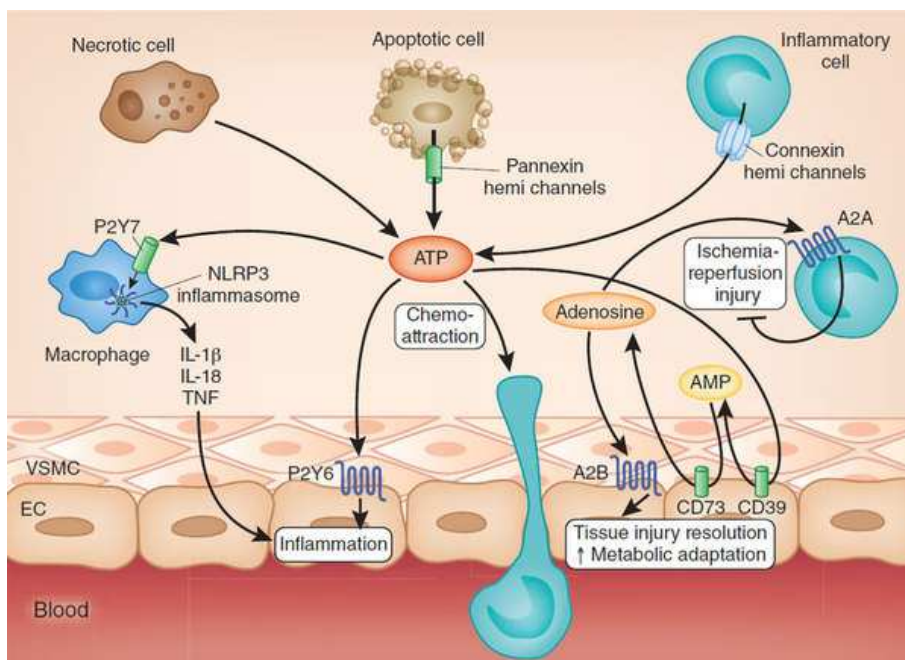


Figura 9. Nucleótidos y nucleósidos en isquemia-reperfusión.

Tomado de Eltzschig 2011.



Múltiples tipos de células liberan ATP durante la isquemia y la reperfusión. La posterior unión de ATP a los receptores P2 aumenta la inflamación patológica y la lesión tisular. La señalización de la adenosina amortigua la inflamación, mejora la adaptación metabólica a la limitada disponibilidad de oxígeno y promueve la resolución de la lesión a través de la activación de los receptores de adenosina A2A expresados en células inflamatorias y la activación de los receptores de adenosina A2B expresados en las células de los tejidos (por ejemplo, miocitos cardíacos, endoteliales vasculares o epitelio intestinal).

3.1. FASES DEL SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

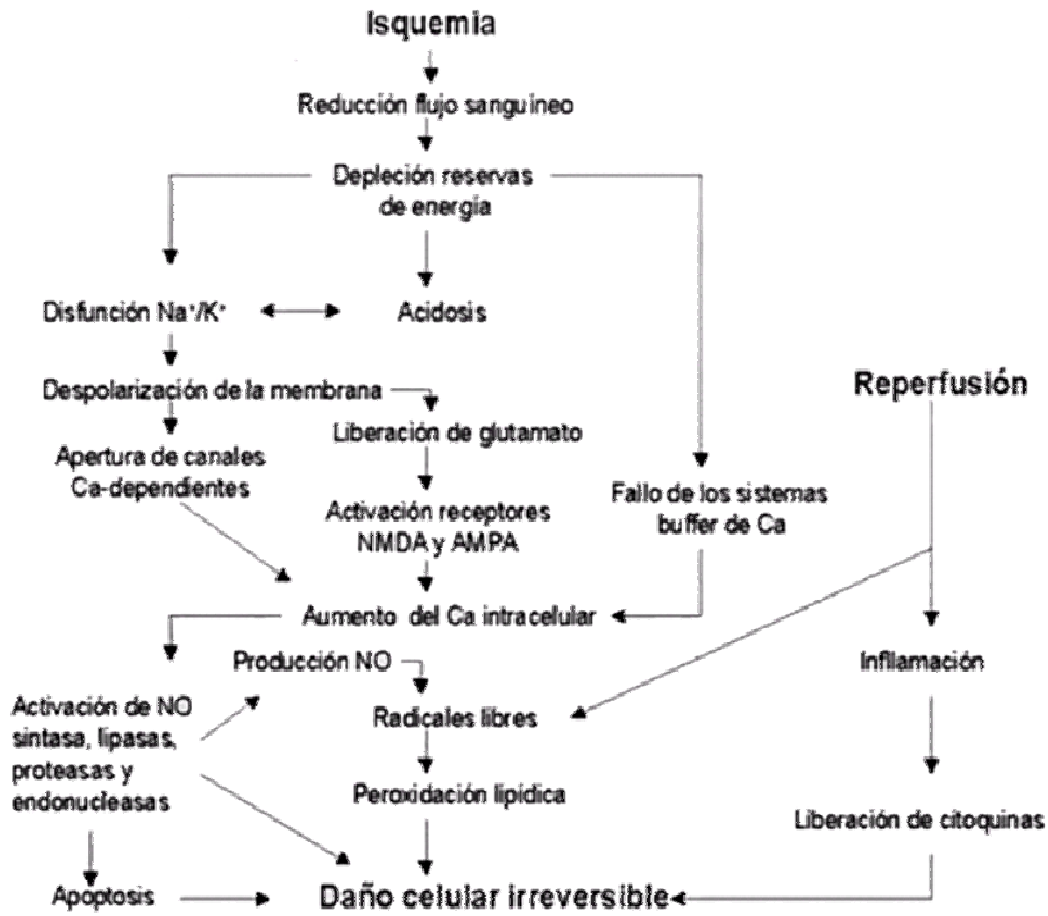
A nivel fisiopatológico podemos distinguir dos fases en éste síndrome: la fase de isquemia y la fase de reperfusión.

3.1.1. Fase de isquemia:

En esta fase el cese de flujo sanguíneo al órgano hace que el metabolismo celular del mismo se transforme de aerobio en anaerobio; y si el aporte de oxígeno no se restablece, se produce una secuencia de reacciones bioquímicas que llevan a la disfunción celular, al edema intersticial y finalmente a la muerte celular.

El daño miocárdico ocurre por dos mecanismos básicos: hipoxia e isquemia. El primero se produce por reducción del aporte de oxígeno en relación a la demanda debido a una disminución del contenido de oxígeno del flujo sanguíneo coronario, como resultado se reduce el metabolismo oxidativo, estimulándose el anaerobio. La hipoxia, rara vez ocurre excepto como resultado de disfunción en la bomba de oxigenación o por una excesiva hemodilución.

Figura 10. Mecanismos implicados en isquemia-reperfusión.



La isquemia miocárdica se produce como consecuencia de una reducción en el aporte de oxígeno en relación con la demanda debido a un inadecuado flujo sanguíneo coronario a pesar de un contenido de oxígeno adecuado.

Existen múltiples causas que conducen a isquemia durante la circulación extracorpórea, por lo que los objetivos en el manejo del daño miocárdico son prevenir o minimizar la duración de la exposición a los factores que la causan y proveer protección miocárdica durante la isquemia inducida iatrogénicamente.

Con el clampaje aórtico se produce una privación del flujo coronario, por lo que las medidas que maximizan la producción de fosfatos de alta energía minimizando la utilización de los mismos y la acumulación de calcio intracelular durante la isquemia y reperfusión son

efectivas en retrasar y prevenir el desarrollo de contractura isquémica y necrosis miocárdica. Lo primero se consigue aumentando los substratos de alta energía y manipulando las vías de síntesis de los nucleótidos de la adenina. Mientras que lo que minimiza la utilización de los fosfatos de alta energía y la acumulación de calcio intracelular durante el clampaje incluyen la hipotermia miocárdica, la cardioplejia y el bloqueo β -adrenérgico y de los canales de calcio (*Jennings 1991, Dhalla 2000, van Boven et al 2008*).

Glicolisis anaerobia

Si el flujo de oxígeno es interrumpido y el balance entre la producción y el consumo de ATP se altera, como sucede en la isquemia, las células recurren al metabolismo anaerobio para generar energía (*Mela 1982*). Sin embargo, la glicolisis anaerobia es incapaz de mantener los niveles adecuados de ATP. La producción neta de energía durante el metabolismo anaerobio es tan solo de 2 moles de ATP por cada mol de glucosa. En condiciones de oclusión aórtica, la única fuente de energía que le llega al miocardio es a través de la glucólisis anaeróbica, y la producción mínima de ATP no satisface las necesidades de la célula, ni siquiera con la inducción de la cardioplejia fría, ya que el paro hipotérmico depleciona los fosfatos de alta energía y altera la función contráctil del miocardio, y es esa declinación en la producción y concentración de ATP la que lleva a una cascada de fenómenos o reacciones:

- ❑ Aumento del ADP, AMP, adenosina, inosina, hipoxantina, xantina y urato.
- ❑ Producción de lactato y acidosis.
- ❑ Afectación de la bomba de Sodio/Potasio produciéndose un aumento de la concentración celular de Sodio y por consiguiente de Calcio, a causa del intercambio Sodio/Calcio. Este exceso de calcio intracelular, interfiere en la capacidad de las mitocondrias de generar ATP (*Mazakan 2007*).

- Disminuye la Betaoxidación de los ácidos grasos libres por la inhibición de la enzima Trasferasa de acilcarnitina que es necesaria en el transporte de Acil-Coa desde el citosol a la mitocondria.

Todo esto impide el mantenimiento de la homeostasis celular. Uno de los primeros desequilibrios iónicos que se instauran durante la isquemia es el aumento sostenido de la concentración intracelular de Na^+ debido al fallo de la bomba Na^+/K^+ del sarcolema, que no puede operar en ausencia de energía, y la acidificación progresiva del citosol por la puesta en marcha de la glucólisis anaeróbica. La célula trata de corregir la sobrecarga de Na^+ a través del intercambiador de membrana $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su modo reverso, que no requiere energía para funcionar y que extruye el Na^+ intracelular a costa de introducir Ca^{2+} al interior de la células, y de esta forma se inicia un proceso de pérdida progresiva del control de Ca^{2+} , uno de los cationes que en condiciones fisiológicas se encuentra más estrictamente regulado en el medio intracelular (*Guarnieri 1980*).

3.1.2. Fase de Reperfusión

En esta fase se restaura el flujo sanguíneo, la entrada de oxígeno, y es aquí cuando se ponen de manifiesto la toxicidad de los metabolitos generados en la fase previa. Se puede producir lesión tanto a nivel local como sistémico.

En 1980, Guarnieri demostró el papel que juegan los RL en el daño tisular que sufre el miocardio isquémico durante la reoxigenación. Tres años después, Rosenkraz y Buckberg definieron el concepto de daño por reperfusión para referirse a los mecanismos que, en contra de lo esperado, producen alteraciones funcionales y estructurales durante el restablecimiento del flujo sanguíneo en una arteria coronaria previamente ocluida.

Durante la reperfusión se recupera la carga energética a través de la síntesis de ATP mitocondrial y los diferentes transportadores iónicos intentarán eliminar el exceso de calcio y sodio del citoplasma. En esta fase hasta que no se corrija la acidosis intracelular, el sodio puede continuar entrando en la célula. Hasta que no se normalice el gradiente de Na^+ transmembrana, el sodio se intercambiará con calcio extracelular a través del intercambiador $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$, persistiendo las elevadas concentraciones de calcio citoplasmático (*Nauta 1991*).

Cuando la reperfusión se produce lo suficientemente pronto para salvar miocardio isquémico en riesgo, que se encuentra reversiblemente dañado, habrá células capaces de recuperar el control de la homeostasis iónica y sobrevivirán; pero, en una proporción variable de cardiomiocitos el desequilibrio iónico no sólo no se corrige, sino que empeora, y acaba por desencadenar la muerte celular inmediata en forma de necrosis. Ésta se produce durante los primeros minutos de la reperfusión, y se acompaña de rotura de las membranas celulares y liberación al medio extracelular del contenido de las células (principalmente enzimas citosólicas), lo que da lugar a una apariencia histológica característica de necrosis en bandas de contracción, en la que los cardiomiocitos individuales se encuentran masivamente acortados y con una desorganización completa de su estructura sarcomérica. Este tipo de respuesta a escala celular se ha denominado hipercontractura, y la probabilidad de que ocurra depende del tiempo transcurrido entre que se produce una depleción severa de las reservas intracelulares de ATP durante la isquemia y el momento en el que se establece la reenergización. La reenergización en presencia de una concentración anormalmente elevada de Ca^{+2} intracelular es la responsable de la hipercontractura (*Siegmund 1992*).

La reentrada de flujo sanguíneo lava los metabolitos tóxicos producidos durante la fase de isquemia y resuelve rápidamente la acidosis extracelular y secundariamente la intracelular ya que se ponen en marcha el intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ y el cotransportador $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$, favoreciendo el acúmulo de Na^+ intracelular que provoca el paso de agua al interior de la célula, facilitando el edema.

Todo esto conduce a edema celular, edema lisosomal, picnosis nuclear, vesiculización de retículo endoplásmico, pérdida de la organización compartimental intracelular y edema endotelial.

Los RLO y RLN tales como el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxilo (OH^{\cdot}), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los peroxinitritos ($ONOO^-$) aumentan de manera significativa tras restablecerse el flujo sanguíneo durante la reperfusión. También el NO es capaz de provocar daño miocárdico durante la reperfusión por varios mecanismos, incluida la formación de radicales libres. El NO reacciona con el radical superóxido formando peroxinitritos, fundamentalmente en el endotelio, los miocitos y los neutrófilos. El peroxinitrito, como se ha dicho, está implicado en el daño celular oxidativo por peroxidación lipídica por tres mecanismos:

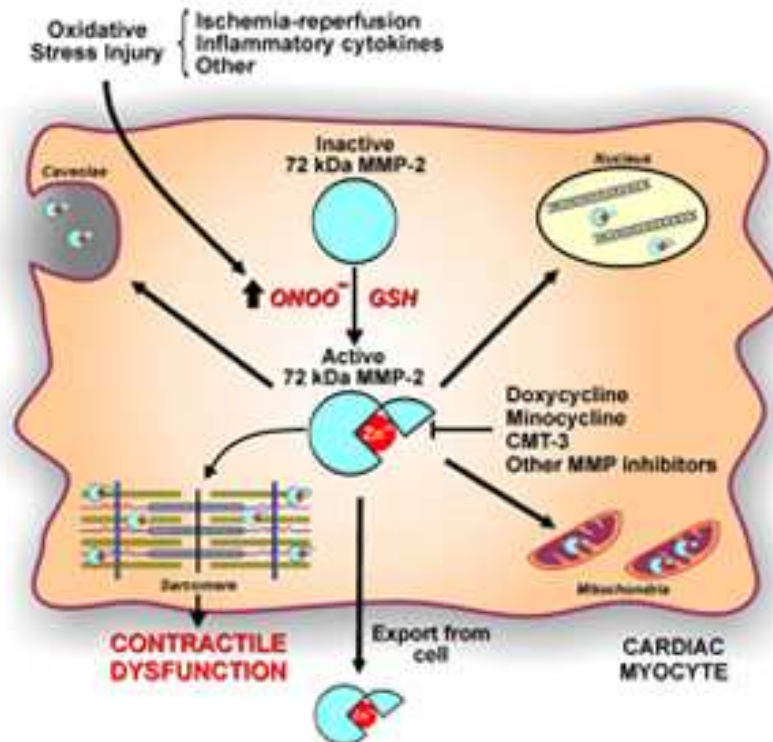
- a) Lisis catalizada por el OH^{\cdot} que genera radical hidroxilo y dióxido de nitrógeno.
- b) Reacción oxidativa directa con grupos sulfhidrilo.
- c) Reacción con iones metálicos para formar un potente agente nitrante.

Esta peroxidación lipídica podría inducir apoptosis y promover la disfunción contráctil de los miocitos cardíacos (*Holmberg 1991*).

En los miocitos cardíacos, la distrofina, junto con la espectrina, otorga estabilidad a la membrana celular, al mismo tiempo que asocia el medio intracelular con el extracelular. La degradación de la distrofina produce fragilidad de la membrana. Se ha sugerido que el preconditionamiento isquémico es capaz de atenuar este daño; sin embargo, el mecanismo se desconoce. La activación de la metaloproteinasa de matriz tipo 2 (MMP-2), debido a un aumento en el estrés oxidativo, es responsable de la degradación de la distrofina (figura 11). El preconditionamiento isquémico atenúa la degradación de la distrofina mediante la inhibición de la actividad de la MMP-2.

Figura 11. Mediación del daño a través de activación de metaloproteinasas (MMP2).

Tomado de Hughes 2014.

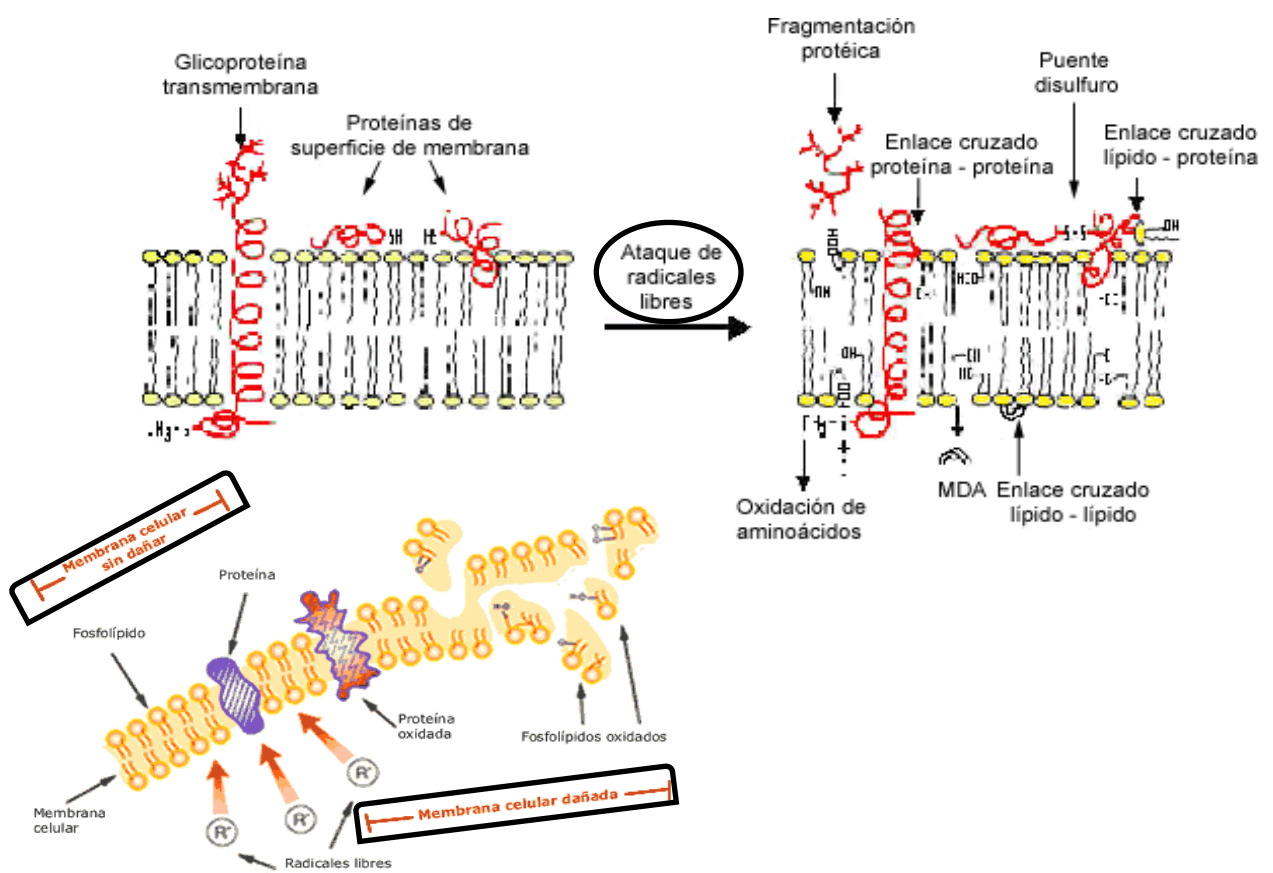


Los tres principales mecanismos de daño celular por radicales libres son: la peroxidación de lípidos, la oxidación de las proteínas y la rotura del ADN. El estrés oxidativo contribuye a su vez al mal funcionamiento de la bomba Na⁺-K⁺ ATPasa y de la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico, aumentando la concentración de calcio intracelular. Éste aumento catalizará la conversión de la xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa que es la fuente principal de RLO tras la reperfusión de un tejido isquémico. Está presente en el plasma y en las células endoteliales. Esta enzima es la encargada del catabolismo de las purinas en muchos tejidos y provoca la oxidación de hipoxantina a xantina y ácido úrico. En condiciones normales se encuentra en la forma xantina deshidrogenasa (utiliza el NAD⁺ como aceptador de electrones), pero en determinadas situaciones patológicas (como en reperfusión) se produce un aumento de conversión de la enzima a xantina oxidasa (por incremento del calcio intracelular y activación de ciertas enzimas proteasas), que al no utilizar NAD⁺ promueve la formación de anión superóxido.

Los acúmulos de xantinoxidasa y de sus sustratos: hipoxantina y xantina durante el período de isquemia parecen ser los acontecimientos necesarios para producir la lesión en las células durante la posterior reoxigenación, puesto que llegará el oxígeno necesario para la enzima con la consecuente producción de radicales libres de oxígeno.

Los radicales libres formados durante el período de reperfusión atacan los enlaces insaturados de los ácidos grasos libres en la bicapa fosfolipídica de la membrana celular (figura 12). Esta peroxidación lipídica se propaga en cadena y provoca la fragmentación de la membrana celular y, con ello, severas alteraciones estructurales y funcionales de la membrana, pudiendo originar en un daño celular irreversible, como es el remodelado endotelial y la hipertrofia cardíaca (*Takimoto et al 2007*).

Figura 12. Representación del daño de membrana epitelial por radicales libres.



3.2. PAPEL DE LAS PLAQUETAS EN LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Las plaquetas se activan durante la isquemia-reperfusión. Durante la fase de isquemia liberan mediadores como el tromboxano A₂ y 5-hidroxitriptamina que favorecen la vasoconstricción, disminuyendo el flujo sanguíneo del área isquémica.

En la perfusión se adhieren al endotelio microvascular del miocardio a través de la L-selectina y liberan factores que contribuyen a la pérdida de la homeostasis del Ca²⁺ y a la muerte miocitaria. Esta activación puede condicionar daño tisular, además de inducir trombosis (*Férez Santander 2004*).

3.3. PAPEL DEL COMPLEMENTO EN LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

El complemento se activa en la fase de isquemia, preferentemente a través de la vía alternativa. Se forman anafilotoxinas (C3a, C5a) que contribuyen a la quimiotaxis de los polimorfonucleares y al daño vascular. El complejo C5b-9 se deposita sobre las membranas celulares, pudiendo alterar el balance de electrolitos y agua en las células.

La participación del sistema de complemento en el daño por I-R se sugirió en 1969 tras el hallazgo de fragmentos del componente C3 en miocardio de rata infartado (*Hill 1969*). Posteriormente se ha demostrado una relación entre la concentración tisular de C1q y la cantidad de leucocitos acumulados en el tejido miocárdico canino isquémico y reperfundido de perro, así como relación entre la concentración de complejo de ataque de membrana y el daño tisular en I-R.

Si la isquemia es indefinida la aparición de complejo de ataque de membrana en la superficie de las células se produce lenta, escasa y tardíamente, de manera que probablemente todas las células en riesgo están ya irreversiblemente dañadas. Pero si el periodo de isquemia es de 30 minutos seguido de una perfusión de tan solo minutos se

asocia a un aumento explosivo del depósito de complejo de ataque de membrana en las membranas afectadas. Este hecho puede explicar en parte el carácter agudo del daño por reperfusión en contraste con la lentitud con la que se establece el daño irreversible en caso de isquemia indefinida sin reperfusión.

3.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.

El endotelio juega un papel muy importante en la lesión por isquemia-reperfusión. El daño al endotelio vascular coronario comienza en los primeros minutos de la reperfusión y progresa con el tiempo. Durante este proceso se produce una activación de la superficie endotelial que conlleva la secreción de mediadores de la inflamación.

Estos mediadores facilitarán posteriormente la penetración de los neutrófilos en el intersticio. En la superficie endotelial se observan receptores para mediadores inflamatorios (interleuquinas, complemento,...) que participan en el desarrollo de la lesión. Entre los mediadores implicados cabe destacar algunas citocinas pro-inflamatorias: IL1, IL6 y el factor de necrosis tumoral α (TNF α). Estas citocinas inducen la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1) en la superficie endotelial y de los neutrófilos. (*Barreiro 2009*).

Los neutrófilos participan activamente en la respuesta inflamatoria que acontece durante la reperfusión. Existe una correlación directa entre la duración de la isquemia, el tamaño del infarto y el acúmulo de neutrófilos en el miocardio. Los neutrófilos se unen a las células miocárdicas a través de moléculas especializadas denominadas moléculas de adhesión intercelular, como la ICAM-1, que aparece en la superficie de los miocitos como resultado de la estimulación de éstos por la interleucina.

Los neutrófilos y monocitos activados y llevados hacia el miocardio durante la reperfusión liberan diversas sustancias tóxicas para las células endoteliales y miocárdicas, incluidos radicales libres, proteasas, elastasas y colagenasas. El daño a las células endoteliales produce alteraciones en la vasorrelajación, interfiere con los mecanismos antitrombóticos del endotelio y es capaz de inducir una respuesta inflamatoria que condiciona el incremento de la permeabilidad capilar, y favorece la adhesión plaquetaria y la infiltración de más leucocitos hacia el miocardio.

Para poder ejercer su efecto tisular los neutrófilos son conducidos al sitio de acción (quimiotaxis). El óxido nítrico junto con los factores quimiotácticos (PAF, LTB₄, C5a) y las citoquinas TNF- α y IL-1 promueven el reclutamiento de polimorfonucleares al sitio de reperfusión y la adherencia al endotelio disfuncional. Esta adherencia es facilitada por las moléculas adhesivas ICAM-1 y ELAM-1, promoviendo la diapédesis del polimorfonuclear a través del endotelio al espacio subendotelial e intersticio tisular¹⁸⁷. Los neutrófilos se adhieren bien a nivel precapilar o en las vénulas poscapilares, provocando un aumento de la viscosidad sanguínea que podría explicar en parte el fenómeno de “no reflujo” que a veces sucede en la reperfusión. La IL-8 activa a los neutrófilos. Los neutrófilos y monocitos activados, en su camino fuera de la luz vascular, liberan diversas sustancias tóxicas para las células endoteliales y miocárdicas como colagenasas, elastasas y radicales libres de oxígeno.

La importancia de la disfunción endotelial consiste en que es el punto de partida de la disminución del flujo coronario después de la reperfusión, fenómeno denominado como de “no reflujo”.

En 1974 Kloner describió el fenómeno de “no reflujo” como la imposibilidad de reperfundir el miocardio previamente isquémico. Demostró que tras la oclusión durante 60-90 minutos y posterior reperfusión de una arteria coronaria, persistían defectos de perfusión subendocárdicos cuando se inyectaba un colorante en la circulación. Asimismo, las zonas de “no reflujo” aumentaban a medida que se alargaba el tiempo de reperfusión, demostrando

que la disfunción endotelial debida a la reperfusión era el punto de partida de este fenómeno. Estudios posteriores han demostrado que los polimorfonucleares (PMN) activados y su interacción con el endotelio microvascular y las plaquetas tienen un papel importante en el fenómeno de “no reflujo”.

El fenómeno de no-reflujo limita el efecto beneficioso de la reperfusión e impide que las drogas administradas durante la misma lleguen al tejido que ha estado sometido a un periodo de isquemia.

Este fenómeno se puede deber a varios factores:

- a) Obstrucción mecánica de los capilares por la adhesión leucocitaria y la pérdida de elasticidad de su membrana inducida por la activación.
- b) La menor capacidad de vasodilatación debida a la inhibición en la producción de NO y prostaciclina y la vasoconstricción con contractura del musculo liso derivada de una liberación aumentada de endotelina y una degeneración de b-receptores disminuyen también la perfusión capilar. Al persistir la vasoconstricción se produce un gradiente de presión transcápilar, por el que se acumulan más neutrófilos.
- c) El daño endotelial produce fugas capilares con edema miocárdico y agregados de fibrina, que contribuyen también al no-reflujo. Aparte del aumento de la permeabilidad capilar, el edema miocárdico se produce por edema miocítico y endotelial en sí mismo, por aumento de la permeabilidad y edema del sarcolema y disfunción del transporte de sodio, potasio y cloro.
- d) También se puede producir apilamiento (fenómeno de “Rouleaux”) de los glóbulos rojos que impide su movimiento y la oxigenación tisular, así como agregación plaquetaria y formación de microémbolos.

3.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL DAÑO POR REPERFUSIÓN

La isquemia y la reperfusión del miocardio se acompañan de una cascada de eventos como el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, el desequilibrio de la homeostasis iónica, principalmente del calcio y la generación de radicales libres derivados del oxígeno. Estos eventos dan lugar a arritmias por reperfusión, daño vascular y no reflujo, aturdimiento miocárdico, edema y necrosis celular.

En la cirugía de revascularización coronaria, cirujanos y anestesistas observan cotidianamente los efectos del restablecimiento de la circulación normal tras la circulación extracorpórea o tras las maniobras de torsión del corazón para la realización de los injertos aorto-coronarios, consistentes en una disfunción contráctil y en la aparición de arritmias ventriculares (*Inafuku 2013*).

Trataremos a continuación las manifestaciones clínicas más frecuentes del daño por reperfusión: la disfunción contráctil y las arritmias.

3.5.1. Disfunción contráctil o miocardio aturdido

Se trata de una disfunción contráctil transitoria que ocurre en el miocardio reperfundido, a pesar de no existir daño celular irreversible. La duración de la disfunción oscila entre horas y días.

En 1935, Tennant y Wiggers demostraron que tras 60 segundos de oclusión coronaria la contracción del ventrículo se deteriora y vuelve a la normalidad de forma inmediata tras el restablecimiento del flujo. Durante décadas se pensó que la oclusión coronaria podía tener dos consecuencias (*Moreu-Burgosa 2007*):

- a) que no se restableciera el flujo, con depresión permanente de la contracción.
- b) restablecimiento del flujo y recuperación precoz de la función contráctil, es decir, daño isquémico reversible.

- c) recuperación tardía de la contracción tras la isquemia severa, que posteriormente fue bautizada por Braunwald et al como *aturdimiento miocárdico*. El aturdimiento miocárdico es un fenómeno ampliamente extendido y con importantes repercusiones clínicas.

La administración de agentes inotrópicos puede atenuar su expresión clínica.

Para el diagnóstico de aturdimiento miocárdico se requiere:

- a) isquemia transitoria.
- b) disfunción ventricular postisquémica.
- c) disfunción contráctil reversible con el tiempo, transitoria por definición.
- d) un miocardio que reciba un flujo normal o casi normal después del episodio isquémico.

En la fisiopatología del aturdimiento miocárdico se han implicado dos mecanismos fundamentales:

- a) la sobrecarga intracelular de calcio.
- b) el daño mediado por los radicales libres de oxígeno.

Tanto los RLO generados durante la reperfusión, como la sobrecarga de calcio y la activación enzimática subsiguiente, pueden dañar las membranas celulares y alterar las proteínas contráctiles, especialmente la troponina I, molécula que puede estar parcialmente degradada en la reperfusión inicial. En definitiva, el aturdimiento consiste en una enfermedad de los miofilamentos contráctiles que ven reducida su sensibilidad al calcio.

3.5.2. Arritmias de Reperusión

Las arritmias representan un factor de morbilidad importante durante la reperusión tras un periodo de isquemia, especialmente durante la cirugía cardiaca. En estudios experimentales se ha comprobado que la presencia de arritmias en el momento de reperfundir el miocardio es un hecho reproducible y predecible. La severidad de las arritmias engloba desde la extrasistolia ventricular hasta la fibrilación ventricular. En su etiopatogenia intervienen diferentes mecanismos: el estrés adrenérgico, las alteraciones de la homeostasis del calcio, los radicales libres de oxígeno, etc. Los RLO han demostrado tener efectos electrofisiológicos directos que contribuyen a las arritmias, aunque todavía existen dudas sobre su papel exacto. Se han desarrollado diferentes estrategias antioxidantes en la reperusión, tanto *in vivo* como *in vitro*, que parecen reducir la incidencia de arritmias al iniciar la reperusión.

4. CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA Y REACCIÓN INFLAMATORIA SISTÉMICA

La CEC forma parte hoy en día del armamentario habitual en los procedimientos quirúrgicos cardiacos. A pesar de los avances que se han obtenido en la biocompatibilidad del sistema de tubuladuras, dispositivos de oxigenación, filtración sanguínea, etc., la CEC sigue generando todavía una importante reacción inflamatoria sistémica que amplifica enormemente la inflamación provocada por el propio acto quirúrgico. Estudios que comparan la reacción inflamatoria en pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria con y sin derivación cardiopulmonar y pinzamiento aórtico demuestran este hecho de manera específica y contundente.

4.1. Inicio de la reacción inflamatoria sistémica por circulación extracorpórea

La inflamación generada durante este tipo de procedimientos quirúrgicos tiene su origen en diversos factores:

- El procedimiento quirúrgico en sí mismo.
- La isquemia-reperfusión, tanto cardiaca inducida por el pinzamiento aórtico, como de otros órganos que por diversas causas pueden sufrir también procesos de isquemia-reperfusión, como son los periodos de hipotensión, bajo gasto e hipoperfusión, el flujo no pulsátil que proporciona el dispositivo de derivación cardiopulmonar, etc.
- El contacto de la sangre con las superficies no endotelizadas del sistema de CEC.
- La endotoxemia transitoria que se observa frecuentemente en el periodo post-CEC.

El trauma quirúrgico induce la reacción inflamatoria correspondiente, cuyo abordaje y estudio se extiende más allá de los objetivos de este trabajo, aunque se tratará someramente en apartados posteriores del manuscrito. El papel de la I/R en la activación inflamatoria ya

ha sido ampliamente comentado en los apartados previos. El patrón temporal de la elevación de alguno de los marcadores inflamatorios, como las citoquinas, ha sugerido que la I/R miocárdicas suponen un importante desencadenante de la activación y amplificación de la cascada inflamatoria sistémica inducida por la CEC, como se comentara en detalle más adelante.

4.2. Contacto de la sangre con el sistema de circulación extracorporea

El suceso más precoz y determinante del inicio de la cascada inflamatoria con relación a la CEC se produce cuando la sangre entra en contacto con las superficies no endotelizadas del sistema (tubuladuras, oxigenador, filtros, etc.), momento en el que se produce una activación masiva del sistema de complemento, con la aparición de grandes cantidades de C3a y C5a en la sangre que retorna del sistema hacia el paciente. Esta activación esta potenciada adicionalmente por el estímulo de la kalikreína que se genera al activarse también de forma importante el factor XII de la coagulación.

El complemento se activa de manera escasa por la vía clásica durante la CEC. Los mecanismos para ello son, probablemente, reconocimiento del complejo heparina-protamina como consecuencia de la existencia de anticuerpos preformados en algunos pacientes o bien la generación durante la propia isquemia de moléculas procedentes de fracciones celulares ricas en mitocondrias. Estas moléculas son capaces de unirse a la subunidad C1q de C1 y activar dicha vía clásica. Sin embargo, la vía alternativa está continuamente activando C3b de manera fisiológica.

Normalmente, en las superficies endotelizadas intactas y normofuncionantes del sistema vascular existen proteínas específicas que degradan ese componente del complemento, como el factor acelerador de la degradación (“Decay Accelerating Factor”, DAF) e impiden su acción (figura 9). Sin embargo, esto no ocurre en el sistema de derivación cardiopulmonar, que carece de estas moléculas, por lo que C3b continúa de

manera rápida y masiva con la activación de la cascada, con la generación del complejo de ataque a la membrana (MAC) y anafilotoxinas C3a y C5a, con las propiedades quimiotácticas y anafilatóxicas mencionadas previamente.

Chenoweth et al demostraron que inmediatamente tras el inicio de la CEC se produce un aumento masivo de la concentración de C3a y C5a en sangre que coincide con un importante secuestro leucocitario en el tejido pulmonar y que posteriormente se ha relacionado con la propiedad de C5a para aumentar la expresión endotelial de P-selectina. Esta selectina es, como ya sabemos, promotor inicial del "rolling" leucocitario necesario para su posterior adhesión. C5a, además, activa a los NEU para la expresión de moléculas de adhesión CD11/CD18, que interactúan con ICAM-1 endotelial, se adhieren al endotelio y migran al interior del tejido. Tras ello liberan proteasas que lisan colágeno, elastina y fibronectina, destruyen las estructuras extracelulares y contribuyen al aumento de la permeabilidad capilar y del espacio extravascular, así como al desequilibrio hidroelectrolítico característicos del periodo postoperatorio después de CEC. Además liberan también radicales libres derivados del oxígeno, como el O₂, OH⁻, H₂O₂ o peroxinitrito que aumentan la peroxidación lipídica y producen lesiones tisulares pulmonar, renal, cerebral y hepática, así como exacerbación del daño por ISQ/REP cardiaca.

Por otro lado, los radicales libres producen hemólisis que libera hierro procedente del grupo hemo de la hemoglobina que, a su vez, cataliza la reacción de Fenton para la formación de cantidades adicionales de OH⁻. El estrés oxidativo se manifiesta muy precozmente tras el inicio de la CEC.

Clermont et al demostraron en un meticuloso estudio utilizando resonancia electrónica de spin que la concentración del reactivo trampa para radicales con spin desapareado (la α -fenil N-t-butilnitrona, PBN) comienza a ascender ya antes de los 30 minutos posteriores al pinzamiento aórtico y se encuentra significativamente elevado de

manera sistemática antes del despinzamiento. La sangre del seno coronario experimenta un ligero ascenso de la concentración de PBN a los 3 minutos del despinzamiento, pero no es significativamente mayor que la de la sangre de la arteria periférica. En el caso específico del O_2^- su concentración es máxima 12 horas después de la cirugía, momento en el cual el recuento leucocitario suele ser también mayor.

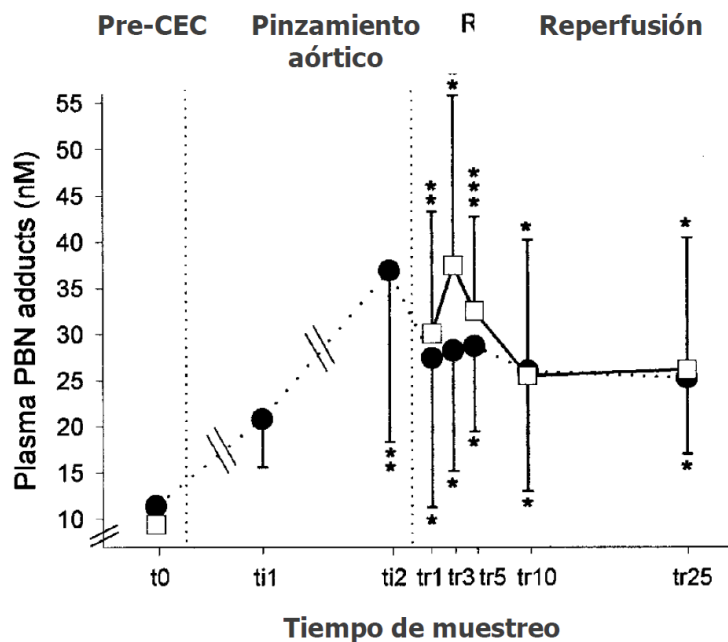
4.3. Endotoxemia

En los últimos años se está dando mucha importancia a la endotoxemia que se produce durante la CEC en el proceso inflamatorio sistémico que se genera durante la misma. Durante la derivación cardiopulmonar se produce una elevación de la concentración de endotoxina por, posiblemente, translocación de gérmenes saprofitos de la luz intestinal por isquemia mesentérica asociada a disfunción de las células de Kupffer.

Figura 13: Evolución temporal de la concentración de PBN en sangre periférica (círculos) y seno coronario (cuadrados).

t0 antes del inicio de la circulación extracorpórea; ti1 30min tras el pinzamiento aórtico; ti2; tr1, tr3, tr5, tr10, tr25 durante la reperfusión miocárdica a 1, 3, 5, 10, y 25 min tras retirar el clamp.

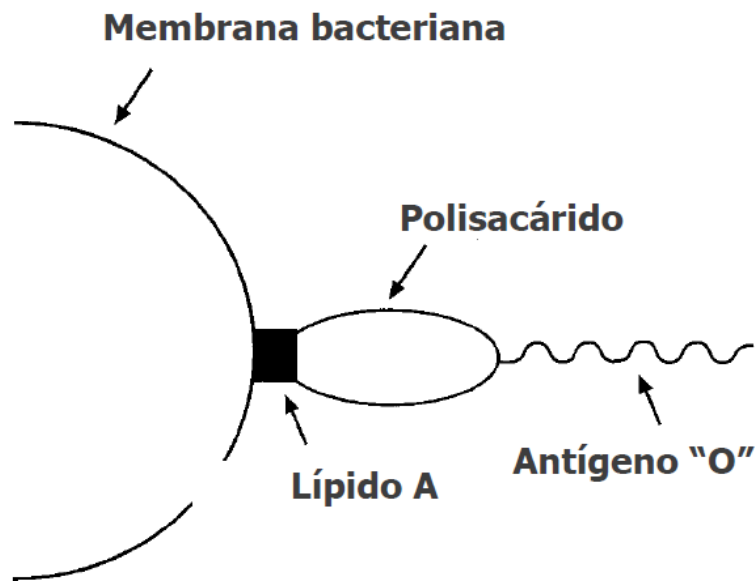
Modificado de Clermont 2002.



Durante la CEC se han detectado niveles anormales de endotoxina que están en relación con la duración de la derivación cardiopulmonar y del pinzamiento aórtico. La unión del lipopolisacárido A de esta molécula (figura 14) con la proteína ligadora de lípidos (“lipid binding protein”, LBP) es 1000 veces más potente que el propio lipopolisacárido en inducir la producción de TNF-a. Además, es capaz de activar al complemento y, por supuesto, a los NEU.

Figura 14: Lipopolisacárido A.

Modificado de Hall 1997.



5. LIBERACION DE CITOQUINAS

La reacción inflamatoria inicial secundaria a la producción de complemento es intensa y precoz pero poco duradera. Este proceso induce la secreción de múltiples citoquinas inflamatorias como la IL-1, IL-6, IL-8 y TNF-a, así como moléculas

antiinflamatorias, como la IL-10, cuyo patrón de liberación durante la CEC se ha estudiado extensamente.

La liberación de TNF-alfa se inicia precozmente durante la derivación cardiopulmonar (ya antes del pinzamiento aórtico), presenta un pico de concentración a las 4 horas del fin de la misma y se mantiene elevado al menos en las 24 horas siguientes. La IL-6 comienza a ascender durante la CEC, alcanza un pico también a las 4 horas de su finalización y se mantiene significativamente elevada al menos hasta el 7º día postoperatorio. La IL-8 alcanza el máximo de concentración más precozmente después de la finalización de la CEC (5 minutos tras la administración de protamina en el trabajo de Birdi et al y después del cierre de la piel en el estudio de *Wan et al 2004*, se mantiene elevada hasta las 4 horas postprocedimiento y posteriormente declina. La IL-10 presenta un pico precoz (entre 10 y 30 minutos tras la reperusión o al finalizar la CEC, según se realice la extracción de muestras) y al 7º día ya ha retornado a sus valores normales preoperatorios.

Estos patrones de liberación de citoquinas, con picos constantemente cercanos al inicio de la reperusión y de manera independiente a la duración de la derivación cardiopulmonar en el caso de la IL-8 y la IL-10, sugiere que la ISQ/REP del corazón y los pulmones es un importante desencadenante de la respuesta inflamatoria sistémica, más que la propia CEC. De hecho, en el estudio de Wan et al que compara la evolución temporal de los incrementos de citoquinas proinflamatorias e IL-10 en pacientes sometidos a cirugía coronaria con y sin derivación cardiopulmonar, se observa que la IL-10 tiene sus concentraciones pico al finalizar la CEC y, sin embargo, en los enfermos sin el uso de la misma el pico es mucho más retrasado, concretamente a las 4 horas de la cirugía.

La CEC produce una liberación de citoquinas que sobrepasa significativamente la que produce la isquemia miocárdica o al trauma quirúrgico aislados. En el estudio de Wan et al se comparó la liberación de citoquinas inflamatorias (IL-6, IL-8), antiinflamatorias (IL-10) y moléculas de adhesión (VCAM-1) entre pacientes sometidos a cirugía coronaria con

derivación cardiopulmonar sin pinzamiento aórtico y pacientes sin CEC, es decir, intentando observar el efecto inflamatorio puro de la derivación cardiopulmonar. Se observó que la liberación de IL-6, IL-8 e IL-10 era significativamente mayor en el grupo con CEC, igualándose las concentraciones a las 4 horas para la IL-6, la IL-10 y el TNF-alfa y a las 24 horas para la IL-8. En el caso de la VCAM-1, los enfermos con derivación cardiopulmonar presentaban valores menores intraoperatoriamente, con un repunte significativamente mayor a las 4 horas del procedimiento. Por su parte, el estudio de *Diegeler et al 2000* supone un completo estudio de la liberación de complemento, interleuquina inflamatorias (IL-6 e IL-8, TNF-alfa) y también de la IL anti-inflamatoria IL-10 (figura 15) antes, durante y después del proceso quirúrgico en pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria por esternotomía media con y sin CEC y por minitoracotomía sin CEC, es decir, supuestamente con menor trauma quirúrgico. Los niveles de C5a se elevaron de manera similar en todos los pacientes con el pico al inicio de la CEC en el grupo intervenido por esternotomía con CEC y un descenso más rápido a niveles normales en los otros dos grupos (en 4 horas) respecto al grupo con derivación cardiopulmonar (significativamente elevado todavía a las 24 horas). El C3d solo se elevó en los grupos con esternotomía, con diferencias significativas entre el sometido a CEC y el menos invasivo a las 4 horas del procedimiento. El TNF-alfa se elevó sobre todo en el grupo sometido a derivación cardiopulmonar, con un pico a las 4 horas del procedimiento y una elevación mantenida durante todo el postoperatorio (hasta 6 días después de la cirugía). La IL-6 aumento de manera similar en los tres grupos con un pico a las 4 horas del procedimiento, con niveles normales en todos los grupos a las 24 horas. La elevación de IL-8 se observó también en todos los grupos, pero de manera significativamente mayor en el grupo con derivación cardiopulmonar. Los niveles se mantuvieron significativamente más elevados en este grupo a las 24 y 48 horas de la cirugía. Por su parte la IL-10 se incrementó significativamente más también a las 4 horas en el grupo

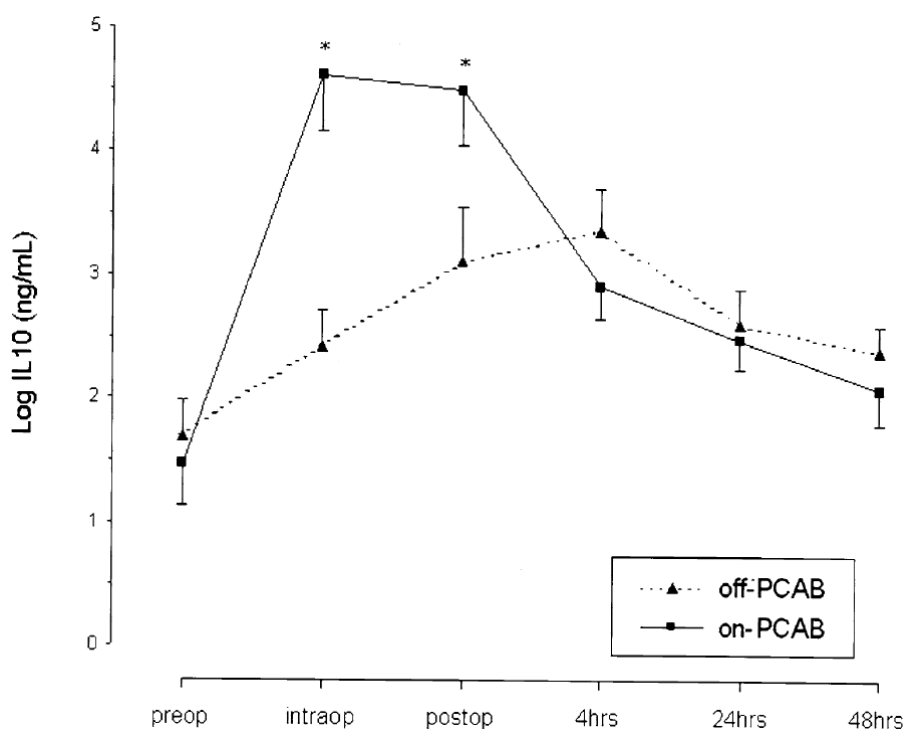
asistido, con valores similares en los tres grupos a las 24 y 48 horas, momento en que las concentraciones retornaron a valores preoperatorios en todos los grupos. Todos estos datos confirman que, efectivamente, la CEC resulta en una respuesta inflamatoria exagerada y en una consecuente liberación aumentada de prácticamente todas las citoquinas.

En algunos trabajos se ha sugerido que el balance entre la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias resulta en la mayor o menor extensión del proceso inflamatorio.

Figura 15: Liberación de IL-10 en cirugía coronaria con y sin CEC.

Off-PCAB: cirugía coronaria sin CEC; on-PCAB: cirugía coronaria con CEC.

Modificado de Wan et al 2004.



6. SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICO (SRIS)

El término sepsis implica una respuesta clínica que deriva de una infección. Una respuesta similar o idéntica puede ocurrir en ausencia de infección. Se propuso el término síndrome de respuesta inflamatoria sistémica para describir este proceso inflamatorio independientemente de su causa. Durante un tiempo los términos infección, sepsis, síndrome séptico, disfunción multiorgánica, fueron empleados de forma indistinta. Por lo que fue necesaria una unificación de las definiciones empleadas (*Bone 1992*).

Se define síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) es el conjunto de fenómenos clínicos y fisiológicos que resultan de la activación general del sistema inmune, con independencia de la causa que lo origine. Este término fue introducido en la conferencia de consenso de la Society of Critical Care Medicine (SCCM) y el American College of Chest Physicians (ACCP) de 1992 (*Bone 1992*). En la Conferencia Internacional para las Definiciones de Sepsis del año 2001 (*Levy 2003*) fue revisado por última vez, siendo además avalado por otras sociedades estadounidenses y europeas aparte de las previamente citadas (European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), American Thoracic Society (ATS) y la Surgical Infection Society (SIS)). Se considera que existe SRIS si se cumplen dos o más de las siguientes condiciones:

- Temperatura $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$.
- Frecuencia cardíaca >90 latidos/minuto.
- Frecuencia respiratoria >20 respiraciones/minuto o $\text{PaCO}_2 <32$ mm Hg.
- Leucocitos $>12000/\text{cm}^3$, $<4000/\text{cm}^3$ o $>10\%$ formas inmaduras.

Se ha propuesto la siguiente cronología en la patogénesis de la respuesta inflamatoria sistémica y la sepsis:

- 1. Estadio-1. Respuesta local.** Ni el SIRS ni la disfunción multiorgánica se desarrollan *de novo* en ausencia de un estímulo. Un foco infeccioso, un traumatismo, quemadura o pancreatitis entre otros, han demostrado la pronta liberación de diversos mediadores inflamatorios (citokinas, eicosanoides, factor activador de plaquetas...), a nivel local. A este nivel los efectos beneficiosos de dichos mediadores predominan sobre los posibles perjuicios. Estos mediadores elaboran una red de reacciones encaminadas a limitar el daño. El organismo precozmente pone en marcha una respuesta anti-inflamatoria (IL-10, antagonista del receptor de IL-1, receptor soluble del TNF...). Sin embargo esta reacción en inicio compensadora puede alterar la función de los monocitos creando un estado de inmunosupresión.
- 2. Estadio-2. Respuesta sistémica inicial.** Cuando el insulto inicial es lo suficientemente severo la respuesta local se refleja en la circulación sistémica. Si la respuesta es adecuada tiene poca traducción clínica y no hay disfunción orgánica.
- 3. Estadio-3. Inflamación sistémica masiva.** En algunos pacientes la regulación de la respuesta inflamatoria se pierde y ocurre una reacción sistémica masiva. Esta reacción inicialmente es proinflamatoria produciendo hipotensión, fiebre y taquicardia. Existe disfunción endotelial que conduce a una permeabilidad vascular aumentada con disregulación de los mecanismos vasodilatadores y vasoconstrictores, con una profunda vasodilatación. Con frecuencia el resultado neto es un shock profundo con compromiso de órganos vitales y posterior fallo de los mismos.
- 4. Estadio-4. Inmunosupresión excesiva.** Muchos pacientes con inflamación persistente fallecen rápidamente en shock. En algunos pacientes la reacción antiinflamatoria es tan intensa que provoca una inmunosupresión que se le ha denominado “*parálisis inmune*” o bien CARS (Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome). Esto explica la susceptibilidad incrementada a las infecciones en pacientes operados.

5. Estadio-5. Disonancia inmunológica. El estadio final de la disfunción multiorgánica se alcanza cuando el paciente desarrolla una respuesta fisiopatológica desproporcionada para sus necesidades biológicas. Los pacientes con disonancia inmunológica pueden recuperar la funcionalidad orgánica si reestablecen el disbalance de lo contrario se establece el fracaso multiorgánico.

La cirugía cardíaca, y concretamente la realizada bajo CEC, provoca una respuesta inflamatoria vigorosa. La incidencia de SDMO en este contexto se ha estimado en un 11%, con una mortalidad asociada de un 41% (*Kollef 1995*). Los factores que influyen en la incidencia, gravedad y resultado clínico de la respuesta inflamatoria no han sido totalmente elucidados. Todos los pacientes sometidos a CEC presentan una alteración de la homeostasis pero la respuesta clínica es variable. Esta depende de la interacción entre las moléculas proinflamatorias y anti-inflamatorias, siendo este balance determinante en el desarrollo del SIRS (*McBride 1996*).

La cirugía cardíaca, y concretamente la realizada bajo CEC, provoca una respuesta inflamatoria vigorosa. La incidencia de síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO) en este contexto se ha estimado en un 11%, con una mortalidad asociada de un 41%.

Son varios los mecanismos implicados en la fisiopatología del SRIS asociada a CEC:

1. La **activación del sistema de contacto** tras la exposición de la sangre al circuito, recluta factores humorales como el complemento y factores celulares. Los fenómenos de isquemia-reperfusión se han asociado a la magnitud de la respuesta inflamatoria. También se ha implicado a la endotoxemia secundaria a la hipoperfusión esplácnica como mecanismo activador de la inflamación en la activación del complemento, en relación con la activación de la proteína C tras la reversión de la heparina. El papel que juega el complemento en la respuesta inflamatoria ha sido demostrado a través del efecto de sus inhibidores. El bloqueo del fragmento C_{3a} previene la activación de

los neutrófilos, monocitos y plaquetas en modelos de CEC. Anticuerpos anti-C5a disminuyen la disfunción pulmonar, miocárdica, mesentérica y microvascular, asociadas a la CEC. Ambos inhibidores disminuyen la expresión de moléculas de adhesión necesarias para la unión de los neutrófilos al endotelio. El grado de activación del complemento tiene importancia clínica. La activación de la vía clásica se correlaciona con el shunt pulmonar postoperatorio y con la incidencia de arritmias postoperatorias. Los niveles postoperatorios de C3a pueden predecir la probabilidad de disfunción cardíaca, pulmonar, renal y hemostática. El empleo de anticuerpos anti-C5a reduce la lesión miocárdica, las pérdidas sanguíneas y los déficits cognitivos postoperatorios.

2. **Citoquinas.** Son proteínas y polipéptidos producidos por una gran variedad de células con una acción mensajera paracrina. Pueden ejercer un efecto proinflamatorio y antiinflamatorio. Se ha analizado la asociación entre los niveles plasmáticos de citoquinas con el curso evolutivo y la mortalidad, encontrándose que los niveles de IL-6 tienen una alta correlación con la mortalidad de pacientes con shock séptico y distrés respiratorio del adulto. Se ha observado un patrón de liberación de citoquinas tras la CEC, encontrando un pico de IL-6 alrededor de las primeras 4-6 horas (Sablitzki et al 2001). En aquellos pacientes que desarrollan SIRS niveles más elevados de IL-8 e IL-18 se han asociado con una peor evolución. Aunque el efecto de las citoquinas antiinflamatorias en la CEC permanece confuso, parece que el balance entre citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias puede determinar el pronóstico clínico de dichos pacientes.
3. **Oxido nítrico.** Mediador biológico que entre sus acciones posee una importante acción sobre el tono vasomotor. Podemos distinguir dos formas de NO, una la constitutiva, beneficiosa, y otra la inducible, perjudicial. Tras un evento isquémico el endotelio produce la sintetasa constitutiva del NO (cNOS), a concentraciones

picomolares, cuya misión sería la de proteger inicialmente la integridad de la permeabilidad vascular, así como prevenir la adhesión leucocitaria y plaquetaria a la misma. Posteriormente si el estímulo persiste, mediado por ejemplo por una producción persistente de citoquinas, o los mecanismos contrarreguladores fallan, tendría lugar la liberación de la sintetasa inducible del NO (iNOS) por múltiples estirpes celulares, a concentraciones nanomolares, esta activación continua de estos mecanismos compensadores conllevaría un daño miocárdico y vascular. La administración de precursores del NO (arginina) en la cardioplejia tiene efectos beneficiosos sobre la acumulación de neutrófilos en la post-reperfusión, la función endotelial y miocárdica. La disfunción miocárdica inducida por el aumento de los niveles de citoquinas parece estar mediada por el incremento en la liberación de la iNOS, la cual aumenta tras la CEC. Como se observa el efecto del NO es dependiente del momento de su liberación, las fuentes de producción y las cantidades que se vierten al torrente sanguíneo, explicando así su acción paradójica.

4. **La respuesta celular.** El proceso de la adhesión leucocitaria al endotelio es esencial en la extensión de la respuesta inflamatoria provocando mayor daño endotelial. Este proceso consta de distintas fases, en un primer momento existe una adhesión al endotelio, y posteriormente comienzan a girar sobre la superficie endotelial. Estos fenómenos son favorecidos por la expresión de la familia de las selectinas (P y E por parte del endotelio; L por los leucocitos), que a su vez parecen ser modulados, entre otros, por las proteínas de la matriz extracelular. Seguidamente se estableceran uniones más firmes, en las que participan las integrinas, para finalmente tener lugar la transmigración de los neutrófilos a través del endotelio. Tras la CEC aumenta la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria, la agregabilidad de los neutrófilos y la liberación de elastasa (*Kawahito 2000*). La expresión incrementada de CD11b se

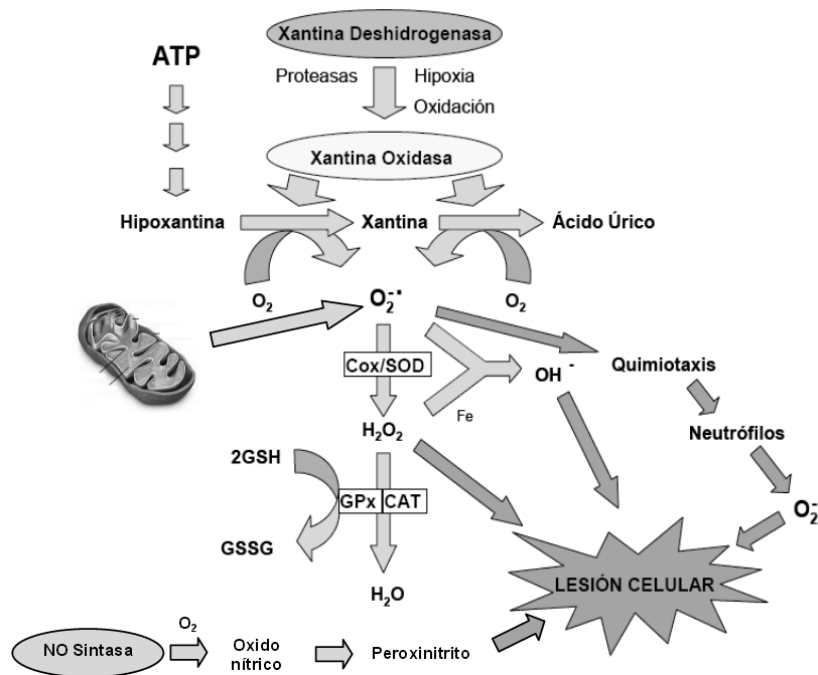
ha asociado a lesión renal, mientras que la inhibición de su expresión mejora la función miocárdica y disminuye la lesión pulmonar tras la CEC.

5. **Los sistemas de la coagulación y fibrinólisis.** Aunque la coagulación-fibrinólisis y la inflamación en diversos aspectos son procesos separados, existe una interconexión entre ambos sistemas, retroalimentándose uno al otro. En este contexto deberían ser considerados como distintas facetas de la misma respuesta del huésped a la agresión. La hemostasia es resultado del equilibrio entre factores procoagulantes y anticoagulantes. La activación celular y citoquinas proinflamatorias juegan un papel determinante, a nivel local, en el inicio de la coagulación en el lugar de la inflamación, activando el endotelio, promoviendo la liberación del factor tisular, de las moléculas de adhesión leucocitaria y la producción de factores activadores plaquetarios. Este hecho, combinado con un descenso de la actividad y expresión de la trombomodulina, del sistema fibrinolítico y de la vía de la proteína C, resulta en un marcado estado procoagulante. A su vez la vía de la proteína C ejerce sus efectos antiinflamatorios inhibiendo los factores humorales y celulares implicados en la inflamación. La gran mayoría de estas acciones son dependientes del receptor endotelial de proteína C (ECPR).
6. **El endotelio.** Pieza dinámica clave en la interacción entre los componentes sanguíneos y los tejidos, siendo su acción reguladora fundamental en la amplificación o inhibición de los procesos inflamo-coagulatorios. El endotelio controla el tono vascular y su permeabilidad, regula la coagulación y fibrinólisis, así como la migración celular, a través de la expresión de proteínas de superficie y la secreción de mediadores solubles. La respuesta inflamatoria tras la CEC viene caracterizada por una activación generalizada del endotelio y cierta disfunción del mismo. Mediadores como el TNF α y la IL-1 β se unen específicamente a receptores endoteliales activando mecanismos transcripcionales (NF- κ B). Este proceso da lugar a la translación de

moléculas de adhesión y citoquinas, amplificando la respuesta inicial. El endotelio activado es el nexo de unión entre los sistemas de coagulación e inflamación por medio de la expresión o supresión de moléculas fundamentales en la regulación de ambos sistemas.

Los factores que influyen en la incidencia, gravedad y resultado clínico de la respuesta inflamatoria no han sido totalmente elucidados. Todos los pacientes sometidos a CEC presentan una alteración de la homeostasis pero la respuesta clínica es variable. Esta depende de la interacción entre las moléculas proinflamatorias y anti-inflamatorias, siendo este balance determinante en el desarrollo del SRIS. Durante la fase hipóxico-isquémica, se produce un acúmulo de sustratos capaces de aumentar de forma importante la producción de radicales libres, debido fundamentalmente a la presencia de oxígeno durante la reperfusión. Son importantes dos mecanismos: el acúmulo de derivados purínicos y la activación de la NOS (figura 16).

Figura 16. Esquema de la fase de reoxigenación y reperfusión.



7. SISTEMAS DE PUNTUACIÓN

Determinar el riesgo de mortalidad de los pacientes internados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP) según la gravedad y el compromiso hemodinámico, permite estimar la probabilidad de muerte según el estado clínico. Para cuantificar dicho riesgo de mortalidad, se desarrollaron puntajes pronósticos de mortalidad que permiten comparar el funcionamiento de la unidad con otras UCIP y determinar la eficacia de los cuidados intensivos brindados a nuestros pacientes, al comparar la mortalidad observada en nuestra población con la estimada por el modelo de predicción.

Los predictores más utilizados son el PRISM (*Pediatric Risk of Mortality*: Riesgo Pediátrico de Mortalidad) que constituye el patrón de referencia de los predictores de mortalidad y el PIM 2 (*Pediatric Index of Mortality*: Índice Pediátrico de Mortalidad) que es un modelo más reciente, por lo que refleja el nivel de los cuidados de la práctica intensiva actual. El PRISM fue publicado en 1988 con los datos obtenidos de 9 UCIP de EE.UU. y determina la probabilidad de óbito en base al análisis de 14 variables fisiológicas que recogen el peor valor en las primeras 24 h de ingreso a los cuidados intensivos. Los datos fueron evaluados mediante análisis de regresión logística, con un excelente resultado predictivo (Área bajo la curva ROC= 0.92). El PRISM está influenciado por la calidad del cuidado recibido en las primeras 24 h y no tiene en cuenta la presencia de comorbilidades de base que puedan influir en el pronóstico del paciente. El PRISM indica el estado clínico del enfermo sin considerar la enfermedad de base, lo que puede influir en el pronóstico. Es más sencillo de aplicar, pero tiene también algunos inconvenientes: la primera valoración de las constantes fisiológicas al ingresar puede tener amplias variaciones, por lo que puede no reflejar la gravedad del niño, pues en cierta forma puede indicar un estado transitorio del paciente por las condiciones en las que se hizo su traslado a la Unidad. La fórmula ideada para el cálculo de la probabilidad de muerte es compleja, por lo que su validez es endeble.

Es importante destacar que ambos puntajes predicen mortalidad y no gravedad, por lo que, si bien la mayoría de nuestros pacientes cardiovasculares intervenidos tiene un bajo riesgo de mortalidad, esto no necesariamente indica escasa gravedad.

El apoyo inotrópico que se precisa en las primeras 48 horas tras la cirugía cardíaca con CEC puede predecir eventual morbilidad y mortalidad en los niños pequeños. El sistema de puntuación de inotrópicos se ha propuesto como marcador de gravedad tras la cirugía cardíaca pediátrica a pesar de la falta de datos que apoyen su utilizar como tal.

8. ANESTESIA GENERAL

En los últimos años, un gran número de estudios ha demostrado que los anestésicos inhalatorios ejercen un efecto protector contra la disfunción isquémica miocárdica; efectos que no son explicados solamente por las alteraciones del flujo coronario o por el balance entre la oferta y el consumo de oxígeno por el miocardio, sino que poseen propiedades cardioprotectoras directas. Su uso se ha hecho más común en la cirugía cardíaca, principalmente con la introducción de agentes más seguros desde el punto de vista cardiovascular, como el isoflurano, el sevoflurano y el desflurano (*Singh 2013*).

8.1. Preacondicionamiento anestésico

En 1985 Freedman et al encontraron en un modelo animal que el enflurano mejoraba la recuperación de la función cardíaca tras un período de isquemia. Desde entonces, se han llevado a cabo múltiples estudios experimentales que han demostrado que los anestésicos halogenados tienen un efecto protector directo sobre el miocardio que reduce la lesión miocárdica por isquemia-reperusión. Este fenómeno de protección miocárdica fue

denominado preconditionamiento anestésico debido a las similitudes con el anteriormente descrito preconditionamiento isquémico.

La mayoría de los estudios han evaluado los efectos de preconditionamiento cardiaco del isoflurano, enflurano y halotano, y más recientemente, los del sevoflurano y desflurano. La protección miocárdica se consigue tras una breve exposición a los anestésicos halogenados y el efecto perdura más allá de la retirada del fármaco. Muchas de las características del preconditionamiento anestésico (PCA) son similares a las del preconditionamiento isquémico, como la implicación de los receptores de adenosina A1, la proteínkinasa C y los canales mitocondriales K-ATP dependientes. De un modo similar, el preconditionamiento anestésico e isquémico reduce la sobrecarga de calcio (*Pavione 2012*), aumentan la respuesta contráctil al calcio tras la isquemia y disminuyen el tamaño del infarto.

Los radicales libres de oxígeno parecen tener un papel importante en la puesta en marcha de los mecanismos protectores, cuya naturaleza no han sido del todo aclaradas hasta el momento. En efecto, los anestésicos inhalatorios aumentan la formación de los RLO en las células cardiacas, principalmente por alteración de la cadena de transporte de electrones mitocondrial y, paradójicamente, pueden disminuir la formación de los RLO durante y después de la isquemia, habiéndose demostrado en diferentes estudios experimentales que la exposición a halotano, isoflurano y sevoflurano disminuye la liberación de radicales libres de oxígeno en la reperusión. Así, los radicales libres de oxígeno tienen un doble papel en el preconditionamiento anestésico dado que se necesita una pequeña cantidad de RLO para activar el PCA, mientras que el descenso de los RLO durante y tras la isquemia sería el responsable, al menos en parte, de la conservación funcional y estructural cardiaca. Esta hipótesis se ve refrendada por el hecho de que la administración de neutralizadores de los RLO junto al anestésico halogenado, anula su efecto protector miocárdico.

Del mismo modo se han descrito efectos del preacondicionamiento anestésico sobre la vasculatura, protegiendo las células endoteliales de la lesión por IR. Este fenómeno parece estar mediado de igual forma por los receptores de adenosina y los canales de K-ATP.

Landoni et al defienden que el grado de protección obtenida con el PCA se relaciona con la concentración del anestésico y con la duración de la administración. Desde 1999, diferentes investigaciones han implementado los protocolos de PCA en pacientes de cirugía cardiaca, principalmente en cirugía de revascularización coronaria. A diferencia de los datos obtenidos en los estudios experimentales, los resultados de los estudios clínicos utilizando protocolos de preacondicionamiento anestésico, principalmente en cirugía cardiaca, han sido más controvertidos. Parece que la mayoría de los estudios sobre PCA, a pesar de detectar cierta acción protectora sobre variables bioquímicas y funcionales, no han podido demostrar un claro beneficio clínico. Se ha defendido que estos resultados podrían atribuirse al pequeño tamaño muestral de muchos de los estudios, que resultaría en una potencia inadecuada para demostrar diferencias significativas entre grupos.

8.2. Postacondicionamiento anestésico

Los anestésicos inhalatorios administrados justo antes o tempranamente durante de la reperusión pueden, de igual forma, ejercer efectos cardioprotectores. Este fenómeno fue descrito por primera vez por el grupo de Schlack y desde entonces ha sido confirmado por otros autores. Como en el preacondicionamiento anestésico, los mecanismos del postacondicionamiento son muy similares a los del preacondicionamiento y postacondicionamiento isquémicos (*Zhong 2013*). Los estudios clínicos son escasos hasta el momento. Se ha comparado el efecto de diferentes protocolos de administración del sevoflurano sobre la función cardiaca postoperatoria y el daño miocárdico, no pudiendo demostrar menores niveles postoperatorios de TnI en el protocolo de postacondicionamiento,

pero sí una recuperación de la función postoperatoria del miocardio más precoz que en el grupo control. Otros trabajos tampoco encontraron diferencias en valores postoperatorios de TnI, pero los pacientes sedados con sevoflurano en el postoperatorio mediante el dispositivo Anaconda presentaron mejor función miocárdica y menor uso de inotrópicos.

8.3. Anestesia inhalatoria con sevoflurano

El sevoflurano es uno de los anestésicos halogenados más utilizado en la práctica clínica en el mantenimiento de la anestesia general en cirugía cardíaca. Múltiples estudios han evidenciado sus efectos cardioprotectores en estos pacientes, especialmente en cirugía de revascularización coronaria con y sin circulación extracorpórea.

La mayoría de trabajos defienden que el sevoflurano intraoperatorio en comparación con los anestésicos intravenosos parece asociarse a un mejor mantenimiento de la función cardíaca postoperatoria y menores niveles de troponina I postoperatoria principalmente en aquellos casos en los que el anestésico halogenado se utiliza a lo largo de toda la intervención y no solo durante un breve periodo previo a la isquemia. Así, De Hert *et al* hallaron que el sevoflurano se asociaba a mejor estabilidad hemodinámica y menor lesión miocárdica que el propofol en pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria.

Se han propuesto mecanismos de diferente naturaleza para explicar este efecto cardioprotector: La mayoría de los estudios, a pesar de alguna discrepancia, coinciden en asignarle un efecto preconditionador, mediado principalmente por la apertura de los canales K-ATP de la mitocondria, por el estímulo de los receptores de adenosina y por la activación subsecuente de la proteinkinasa C. Como se ha comentado anteriormente, este mecanismo se activaría en presencia de RLO y de nitrógeno y, como el preconditionamiento isquémico, reduciría la sobrecarga de calcio. Por otro lado, el sevoflurano parece reducir la cantidad de neutrófilos y plaquetas secuestrados en la vasculatura coronaria tras la isquemia, efecto que podría conllevar una mejora de la función mecánica durante la reperfusión. Otra propiedad

del sevoflurano que ha sido propuesta para explicar su efecto cardioprotector frente a la lesión por isquemia-reperfusión es la disminución de la demanda de oxígeno miocárdica debido a su efecto inotropeo negativo. Así, De Hert *et al* defienden que es precisamente este efecto junto al de precondicionamiento el responsable de la miocardioprotección. Asimismo, se defiende que uno de los mecanismos más importantes de cardioprotección del sevoflurano durante la cirugía de revascularización coronaria es su efecto antiinflamatorio. El sevoflurano disminuye la adhesión plaquetaria intracoronaria y suprime la producción de IL-6 e IL-8, pero no la de IL-10 ni IL-1, protegiendo el corazón al modular niveles de citoquinas pro y antiinflamatorias.

9. ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO

Disponemos de unos 200 diagnósticos y 150 procedimientos quirúrgicos, a esto tenemos que añadir los procedimientos de cateterismo intervencionista que las palian o corrigen. Medir resultados es difícil por la alta complejidad que manejamos (*Kogon 2014*), con gran número de variantes, bajo volumen de cada una de ellas y un gran número de procedimientos terapéuticos.

La Asociación Europea de Cirugía Cardiorádica (EACTS) y la Sociedad de Cirujanos Torácicos de los Estados Unidos de Norteamérica (STS) han creado una nomenclatura para las diversas cirugías cardiovasculares y a partir de ella han creado una base de datos que permita crear un registro europeo de cirugía cardíaca de cardiopatías congénitas. Además en la actualidad disponemos de dos métodos para estratificación de riesgo internacionalmente aceptados y validados: RACHS-1 (*Jenkins et al 2002*) por sus siglas en inglés (Risk Adjustment in Congenital Heart Surgery) y Aristóteles.

El hecho de que el rendimiento quirúrgico de los cirujanos cardiovasculares pediátricos se valoraba en función de la mortalidad hospitalaria sin tener en cuenta la complejidad de las intervenciones llevó a crear el método Aristóteles. La primera estratificación de riesgos se creó por consenso de expertos pues la base de datos internacional no tenía aún datos reales y basándose su principio filosófico: “Cuando no hay respuesta científica disponible la opinión percibida y admitida por la mayoría tiene valor de verdad” recibió el nombre de método Aristóteles.

La estratificación por el sistema de Aristóteles fue publicado en 2004 (*Lacour-Gayet 2004*). Ha sido elaborado por cirujanos cardiovasculares de 23 países (incluida España) y de alrededor de 50 instituciones para evaluar la mortalidad hospitalaria pero integrando la complejidad de los diferentes procedimientos y el estado clínico de los pacientes. Este sistema se basa en la nomenclatura de la EACTS y STS y está consensuado que permanezca sin cambios por períodos de 4 años y su actualización se lleve a cabo, de acuerdo a su validación con sustento en la base de datos Internacional, en los Congresos Mundiales de Cardiología Pediátrica y Cirugía Cardíaca.

El sistema introduce el concepto de complejidad de un procedimiento quirúrgico que es la suma del potencial de mortalidad operatoria (≤ 30 días), más el potencial de morbilidad (tiempo de estancia en cuidados intensivos), más el potencial de dificultad técnica de la cirugía dividida en 5 rangos y que va de elemental hasta muy difícil. La evaluación de la complejidad consta de dos modelos: puntuación (score) básico y puntuación (score) completa. El básico es sólo aplicable a los 145 procedimientos quirúrgicos analizados, con una escala que va de 1.5 a 15 puntos y que se agrupan en 4 niveles de riesgo: 1: 1.5-5.9 puntos; 2: 6.0-7.9 puntos; 3: 8.0-9.9 puntos y 4: 10.0-15.0 puntos. El score completo ajusta la complejidad a las características de los pacientes y se dividen en dos:

- Factores dependientes: variantes anatómicas, procedimientos asociados y edad.
- Factores independientes:

- **Factores generales:** Peso $\leq 2,5$ kg (2 puntos); prematuridad de 32 a 35 semanas de gestación (2 puntos) y prematuridad extrema ≤ 32 semanas de gestación (4 puntos).
- **Factores clínicos** (presentes en un lapso máximo de 48 horas antes de la cirugía): acidosis metabólica con pH $\leq 7,2$ ó lactato ≥ 4 mmol/L (3 puntos); disfunción miocárdica FE $\leq 25\%$ (2 puntos); ventilación mecánica para manejo de insuficiencia cardíaca (2 puntos); hipertensión pulmonar ≥ 6 UW...
- **Factores extracardíacos** como hidrocefalia (0,5 puntos); alteraciones cromosómicas o genéticas como el síndrome de Down (1 punto) o microdelección del cromosoma 22 (1 punto).
- **Factores quirúrgicos.**

El Score completo añade 10 puntos más y 2 niveles superiores de complejidad (Calderon-Colmenero 2008):

SCORE BÁSICO	
Niveles	Complejidad
1	1,5-5,9
2	6-7,9
3	8-9,9
4	10-15
SCORE COMPLETO	
5	15,1-20
6	20-25

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

- I. En base a la revisión bibliográfica realizada al respecto de este trabajo, nos planteamos que el clampaje aórtico es un ejemplo típico de isquemia-reperusión, y que como respuesta fisiológica del organismo a este estrés y la reperusión se debe producir un deterioro de la actividad oxidorreductora durante la cirugía cardiovascular mediante circulación extracorpórea en niños.
- II. A tenor de los estudios realizados en animales y humanos planteamos que durante la CEC se produce una activación de la cascada inflamatoria y antiinflamatoria, de etiología multifactorial, que genera una respuesta inflamatoria sistémica que acompaña el postoperatorio de corrección de cardiopatías congénitas en pacientes pediátricos.
- III. Existe una alteración de la agregación plaquetaria que podría contribuir al sangrado postoperatorio.
- IV. Existen diferentes escalas que predicen el riesgo de mortalidad y otros métodos de estratificación de riesgo en la cirugía de cardiopatías congénitas que permiten estimar el resultado quirúrgico dependiendo tanto del tipo de cardiopatía, del tipo de reparación y de algunos otros elementos como edad, peso y anomalías asociadas principalmente. Nos planteamos la posibilidad de que los parámetros de respuesta inflamatoria sistémica y estrés oxidativo que investigaremos se relacionaran con las puntuaciones obtenidas en las escalas clínicas.

2. OBJETIVOS

- I. Analizar las alteraciones del estrés oxidativo, ocurridas en las primeras 24 horas, debidas a cirugía cardiovascular mediante circulación extracorpórea para la corrección de cardiopatías congénitas en una cohorte de niños menores de 15 años.
- II. Estudiar la posible relación entre estrés oxidativo y diferentes parámetros analíticos en el postoperatorio de cirugía cardiovascular con CEC en niños.
- III. Comprobar las alteraciones de la agregación plaquetaria en el postoperatorio de cirugía cardiovascular con CEC en una cohorte de niños menores de 15 años en nuestro centro.
- IV. Constatar la relación entre estrés oxidativo y las escalas clínicas predictoras de riesgo quirúrgico y las clasificaciones clínico-analíticas.
- V. Valorar los principales marcadores analíticos de respuesta inflamatoria, tanto desde el punto de vista de los proinflamatorios como de los antiinflamatorios, poniéndolos en correlación con las variables analíticas e índices clínicos antes señalados.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. PACIENTES

1.1 Selección de pacientes

Los pacientes de estudio fueron seleccionados de la población de pacientes pediátricos sometidos a CCV con CEC en un único centro (Hospital Regional Universitario de Málaga), por un único servicio (Servicio de Cirugía Cardiovascular Infantil) y con seguimiento postoperatorio en una sola UCIP (Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del HRU de Málaga). Los pacientes intervenidos en dicho centro tenían procedencia de Málaga, Almería, Melilla, Algeciras y Marruecos.

El período de inclusión de los pacientes en el estudio se prolongó desde Febrero de 2010 a Abril de 2011. Los pacientes fueron seleccionados de forma consecutiva.

Se entregó a todos los padres/tutores de los pacientes del estudio un consentimiento informado aprobado por el Comité Ético de Málaga-Nordeste. Previamente a la inclusión de los pacientes en el estudio todos los padres/tutores firmaron dicho consentimiento.

Se realizó una anamnesis minuciosa para establecer los antecedentes personales y familiares de los pacientes. En todos los casos se estimó el PRISM II score y el Aristóteles score, tanto el básico como el ampliado.

1.1.1. *Criterios de inclusión*

1. Pacientes pediátricos.
2. Peso mayor o igual de 5 kg.
3. Edad menor de 15 años.
4. Intervención de cardiopatía congénita mediante circulación extracorpórea.
5. Ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Materno-Infantil de Málaga.

1.1.2. Criterios de exclusión

Se excluyeron del estudio aquellos pacientes con cualquier situación clínica que pudiese enmascarar el estado de estrés oxidativo o inflamatorio:

- Pacientes con enfermedad autoinmune.
- Pacientes intervenidos de forma emergente o urgente.
- Pacientes cursando una sepsis.

Se excluyeron también aquellos pacientes:

- Con peso >5 kg pero cifra de hemoglobina basal preoperatoria <10 g/dL.
- Cuyos padres o tutores legales no firmaron el consentimiento informado.
- Con ausencia o mal procesamiento de la primera muestra de sangre (basal).

1.2. Técnica quirúrgica

Los pacientes son sometidos a cirugía en quirófano. Se les canaliza una vía periférica, una vía venosa central y una arteria radial o femoral para la monitorización de la presión arterial y la toma de muestras para gasometría arterial sanguínea durante la intervención.

A los pacientes se les administra anestesia general combinada con sedación total y relajación muscular. En la inducción y mantenimiento anestésico del paciente se emplean los siguientes fármacos:

- Midazolam.
- Propofol.
- Fentanilo.
- Remifentanilo.
- Rocuronio.
- Sevofluorano inhalado con una mezcla con oxígeno.

Todos los pacientes son intubados orotraquealmente y se les asiste con ventilación mecánica. Los enfermos son colocados en la mesa de quirófano en posición de decúbito supino. Se prepara el campo quirúrgico mediante lavado con alcohol 60% y povidona yodada posteriormente.

1.3. Extracción de muestras

A cada paciente se le realizó mediciones séricas en tres momentos diferentes:

- **PREOPERATORIO (PRE):**
 - Extracción de sangre en quirófano al canalizar las vías centrales, bajo inducción anestésica pero sin haber iniciado la cirugía propiamente dicha.
 - Las variables analizadas en este tiempo se nombrarán con un “1” al final.
- **REPERFUSIÓN PRECOZ (PO1):**
 - Extracción de muestras de sangre tras 30-60 minutos del final del clampaje aórtico (en reperfusión).
 - Las variables analizadas en este tiempo se nombrarán con un “2” al final.
- **REPERFUSIÓN TARDÍA (PO2):**
 - Tras 12-18 horas de terminar la CCV con CEC.
 - Las variables analizadas en este tiempo se nombrarán con un “3” al final.

Laboratorios implicados en el trabajo realizado:

- Laboratorio de HMI: hemograma, bioquímica (creatinina, transaminasas, enzimas cardíacas (CPKmb, troponina 1), ácido úrico, LDH, lactato, PCR y PCT). El Laboratorio del Hospital regional Universitario Carlos Haya de Málaga permite la determinación plasmática cuantitativa de la mayoría de analíticas necesarias, ya que son rutinarias en estos pacientes en la práctica diaria.

- Farmacología Clínica (Universidad de Málaga): análisis y determinación de parámetros de estrés oxidativo y peroxidación lipídica, óxido nítrico sintetasa (NOs) e interleuquinas.

Las muestras de sangre a extraer en cada momento de análisis fueron:

- 2,5 ml para bioquímica (tubo especial para bioquímica, que contiene un producto activador de la coagulación).
- 5 ml de sangre anticoagulada para placa (tubo con citrato sódico al 3.2% Azul Hemogard TM (Vacutainer ©, Estados Unidos).
- 9 ml de sangre en tubo con EDTA para factores inflamatorios.
- 4'5 ml de sangre en tubo para agregación plaquetaria y curvas de agregación con colágeno y ácido araquidónico.
- 2'5 ml de de sangre anticoagulada para agregación plaquetaria y curvas de agregación con ADP.

Las muestras son enviadas al Servicio de Laboratorio del Hospital Materno-Infantil de Málaga para su centrifugación, son enviadas a temperatura ambiente hasta un máximo de 30 minutos para su procesamiento en el Laboratorio del Departamento de Farmacología Humana de la Facultad de Medicina de Málaga. Universidad de Málaga.

2. VARIABLES ANALIZADAS:

2.1. Analíticas (variables cuantitativas):

2.1.1. Parámetros analíticos básicos inflamatorios y de función de órganos:

- Proteína C Reactiva (PCR): marcador de inflamación activa, determinada en plasma-heparina por inmunturbidimetría en un analizador estándar con un límite de detección de 3,6 mg/L.

- Procalcitonina (PCT) por inmunofluorescencia, medida en ng/mL. La determinación cuantitativa de la PCT tiene una sensibilidad de 0,02 ng/ml y los estudios realizados con esta técnica generalmente nos muestran puntos de corte menores y mucho más ajustados para pronosticar la mortalidad, la progresión a sepsis grave o shock séptico o la bacteriemia que con la determinación semicuantitativa que otros trabajos utilizan.
- Para estudiar la función renal se estudian los valores de urea, creatinina (mg/L), sodio (mEq/L), potasio (mEq/L), colesterol (mg/dL), triglicéridos (mg/dL), calcio (mg/dL), fósforo (mg/dL) y ácido láctico (mmol/L).
- Para valorar la función del hígado se solicitan las transaminasas (U7L) y la bilirrubina (mg/dL).
- Para valorar la función cardiaca se determina la CPKmb (UI/dL) y la troponina 1 (ng/mL).

2.1.2. El **estado oxidativo** se evaluó en dos vertientes distintas:

- ***Daño oxidativo:*** Determinación de la capacidad de peroxidación lipídica de las membranas celulares, a través de la cuantificación de productos de reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), cuyo principal representante es el malondialdehído (MDA) en nmol/mg proteína.
- ***Defensa antioxidante:*** Cuantificación del contenido celular de glutatión total, oxidado y reducido (GST, GSSG y GSH respectivamente), medidos en nmol/mg proteína.

2.1.3. **Parámetros de agregación plaquetaria** inducida por colágeno (Col), araquidónico (ARA) y ADP, medidas en Ohmios. Métodos: agregómetro. El

principio de este test es que un plasma rico en plaquetas podrá tener un cambio en la densidad óptica de la muestra cuando varios reactivos sean añadidos. La agregación de las plaquetas es inducida por la adición de varios reactivos como ADP, epinefrina, colágeno, ristocetina, trombina y ácido araquidónico. Las plaquetas individuales causan más dispersión de luz que los aglomerados. La agregación plaquetaria se mide mediante impedancia eléctrica, técnica en la que se coloca una muestra de sangre en una cubeta o recipiente a 37°C, se introducen dos electrodos de platino a distancia fija y entre los electrodos se aplica una corriente eléctrica. La adición de un agonista (en nuestro estudio hemos empleado secuencialmente ADP, colágeno (Col) y ácido araquidónico (ARA)) estimula la agregación de las plaquetas en la superficie de los electrodos, lo que impide el flujo de la corriente eléctrica. El aumento en la resistencia al flujo de electricidad es proporcional a la agregación de las plaquetas en torno a los electrodos y se genera una curva de agregación (medida en Ohmios).

2.1.4. Parámetros de **interleuquinas**:

- Proinflamatorias:
 - Interleuquina 1 (pg/mL).
 - Interleuquina 6 (pg/mL).
 - Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) (pg/mL).
- Antiinflamatoria:
 - Interleuquina 10 (pg/mL).

2.2. Variables clínicas:

2.2.1. Epidemiológicas:

- Edad (años).

- Sexo (varón o mujer).
- Raza (caucásico, árabe, subsahariano, latinoamericano).
- Síndrome de Down (Sí o No).
- Tipo de cardiopatía:
 - Agrupadas según haya shunt D-I o no.
 - Agrupadas según tipo de abordaje (extracardiaco, intracardiaco).
 - Agrupadas según tipo de sección (ventriculotomía o no).

2.2.2. Antropométricas:

- Talla (cm), expresado en desviaciones estándar.
- Peso (kg), expresado en desviaciones estándar.
- Índice de Masa Corporal – IMC (kg/m^2), expresado en desviaciones estándar.
- Pliegue tricípital (mm), expresado en percentiles.
- Perímetro braquial (mm), expresado en percentiles.
- Circunferencia muscular del brazo (mm), expresado en percentiles.

2.2.3. Variables quirúrgicas:

- Tiempo de circulación extracorpórea – CEC (minutos).
- Tiempo de clampaje aórtico (minutos).

2.2.4. Variables postquirúrgicas:

- Tiempo de estancia en UCIP:
 - Variable cuantitativa (días).
 - Variable cualitativa ordinal (<7 días o ≥ 7 días).
- Tiempo de ventilación mecánica (horas): VM.
- Ritmo de sangrado por drenajes torácicos en primeras 8 horas ($\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$).
- Ritmo de sangrado por drenajes torácicos en segundas 10 horas ($\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$).

2.2.5. Variables de sistemas de puntuación y clasificación:

- SRIS-CEC (Sí o No).

- Sistema de Puntuación de Aristóteles:
 - Aristóteles Básico.
 - Aristóteles Ampliado.
- Inotropic Score (IS).
- Vasoactive Inotrope Scoring (VIS).

2.2.6. Variables evolutivas:

- Necesidad de transfusión de hemoderivados en UCIP (Sí o No).
- Desarrollo de arritmia (bloqueo AV o Ritmo nodal) a modo de cualitativa dicotómica (Sí o No).
- Desarrollo de sepsis en primeros 5 días de estancia en cuidados intensivos (Sí o No).
- Necesidad de técnica de continua de reemplazo renal (Sí o No).
- Fiebre, definida como T^a rectal >38°C (Sí o No).
- Disfunción renal, definida como aumento de creatinina >20% (Sí o No).
- Disfunción Pulmonar, definida como PaO₂/FiO₂ < 300.
- Disfunción hemodinámica (IS >20).
- Necesidad de drogas vasoactivas (0: <2 fármacos; 1: ≥2 fármacos).
- Disfunción endotelial clínica, valorada en base a drenaje por tubos torácicos por encima del tercer cuartil (Sí o No).
- Disfunción neurológica si ha existido lesión vascular cerebral (objetivada en prueba de imagen), crisis convulsiva o saturación cerebral menor de 40% con buena señal de captación (Sí o No).
- Marcador de morbilidad del procedimiento se ha definido como el requerir al menos 1 semana de estancia en la unidad de cuidados intensivos.

- Adoptamos el tiempo de CEC de 120 min como indicador de dificultad técnica quirúrgica.
- Mala evolución: Al menos uno de los siguientes: Muerte en los primeros 30 días postoperatorios, parada cardíaca, necesidad de técnica continua de reemplazo renal, daño de SNC (evento isquémico asociado a hallazgos clínicos o convulsiones).

3 CONCEPTO DE SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICO ASOCIADO A CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA (SRIS-CEC):

Se analizaron las variables clínicas asociadas al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica asociado a la circulación extracorpórea (SRIS-CEC) en los primeros tres días del postoperatorio, que corresponden al período de intensa actividad inflamatoria: El score fue elaborado atribuyendo un punto a cada uno de los siguientes criterios alterados: fiebre, disfunción hemodinámica, disfunción pulmonar, disfunción renal y disfunción endotelial (clínica y radiológica). Así, la puntuación varió de 0 a 6.

De acuerdo al número de variables alteradas (atribuyendo un punto a cada una), fue posible dividir la muestra en dos grupos.

- a) fiebre (mayor o igual a 38° Celsius).
- b) disfunción hemodinámica (score inotrópico >20).
- c) disfunción pulmonar (relación PaO₂/FiO₂ < 300).
- d) disfunción renal (aumento de la creatinina > 20% en el postoperatorio).
- e) disfunción endotelial clínica (valoración de drenaje por tubos torácicos).
- f) disfunción endotelial radiológica.

En el grupo I, se ha agrupado a los pacientes que presentan tres o más puntos, considerándose en ese caso la presencia de SRIS-CEC. El grupo II estaba formado por los pacientes que no presentaron SRIS-CEC, y que poseían hasta un máximo de dos puntos.

4 **SISTEMA DE PUNTUACIÓN DE ARISTÓTELES:**

La medicina moderna y sus avances técnicos han hecho cada vez más complejos y costosos los procesos asistenciales. Hasta hace pocos años, sorprendía que frente al volumen de recursos implicados, la información era muy deficiente para estimar objetivamente la calidad de los servicios prestados. Los datos disponibles no permitían comparar la eficacia, eficiencia o calidad de los servicios médicos y hospitales de una manera objetiva. De ahí que en las últimas décadas se han desarrollado los sistemas de clasificación de pacientes orientados a explicar y comprender los resultados de la asistencia sanitaria.

Las CC tienen un tratamiento eminentemente quirúrgico y en ello básicamente habrá que tasar los resultados.

Actualmente disponemos de dos Modelos internacionales de estratificación de riesgos, el Modelo RACHS-1 y el Modelo Aristóteles. El Método Aristóteles fue publicado por Lacourt-Gayet y col. en el año 2004 (*Lacourt-Gayet Fet al. 204*). Ha sido elaborado a partir de 1.999 por 54 cirujanos pediátricos pertenecientes a 50 Centros de 23 países (entre ellos España), representantes de las 4 Sociedades Internacionales más importantes de cirugía cardiaca pediátrica. Se ha servido del proyecto anterior de nomenclatura internacional y base de datos internacional elaborado por la STS y la EACTS (*Mavroudis et al. 2000*). Introducen el concepto de complejidad que es la suma del potencial de mortalidad (mortalidad a 30 días), más el potencial de morbilidad (tiempo de estancia en UCI) más el potencial de dificultad técnica del procedimiento. La complejidad es una constante en un tiempo dado

para un procedimiento dado en un paciente dado, cualquiera que sea el Centro y su localización geográfica.

La evaluación de la complejidad se lleva a cabo en dos Modelos: puntuación (score) básica y puntuación (score) completa.

El Score básico es la complejidad ajustada al proceso y sólo aplicable a los procedimientos. Se analizó la complejidad de 145 procedimientos. La suma de los valores medios de mortalidad, morbilidad y dificultad técnica, dio la puntuación básica final de cada procedimiento. La escala varió entre 1,5 y 15 puntos y se definieron 4 categorías de riesgo.

El Score completo introduce la complejidad ajustada a las características de los pacientes. Incluyeron 2 categorías de factores de complejidad:

1. Factores dependientes del procedimiento:

Factores anatómicos (nº 76).

Procedimientos asociados (nº 85).

Edad (6 grupos).

2. Factores independientes del procedimiento:

Factores generales (nº 3).

Factores clínicos (nº 31).

Factores extracardíacos (nº 39).

Factores quirúrgicos (nº 8).

Cada factor es puntuado por su contribución a la mortalidad, morbilidad y dificultad técnica. Todos los factores reúnen los siguientes requisitos: cuantificables con seguridad, fácilmente disponibles, admitidos por la mayoría y contrastables.

El Score completo añade 10 puntos más y 2 niveles superiores de complejidad al Score básico (ver introducción).

5 DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ESTRÉS

OXIDATIVO

1. **Sistema antioxidante:** se cuantifica el contenido celular de glutatión total oxidado y reducido.
2. **Daño oxidativo:** se determina la capacidad de peroxidación lipídica de las membranas celulares, a través de la cuantificación de productos de reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), cuyo principal representante es el malondialdehído (MDA).

5.1. Determinación de los niveles de glutatión:

La determinación de los niveles de glutatión se realizó mediante espectrofluorimetría:

1. Para el desarrollo de esta experiencia se tomaron 250 μ L de lisado de hematíes, que se pusieron en un homogenizador al que se adicionó un volumen fijo de tampón fosfato sódico 0.1 M (pH 8.0) de 1,88 mL.
2. Se realizó la homogeneización manual y una vez obtenida una mezcla homogénea, se añadió 0,5 mL de ácido fosfórico al 25%.
3. Esta solución contenida en el homogenizador fue vertida en un tubo siliconado para proceder a su centrifugación, la cual se realizó a 15000 x g durante 33 minutos a una temperatura de 4°C.
4. Durante la espera de la centrifugación, se elaboró una curva patrón de GSH, a partir de una solución 1 mol/L (3.073 mg de GSH en 10 mL de tampón fosfato sódico), realizando sucesivas diluciones: 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, etc. Todo ello se mantuvo en frío utilizando hielo triturado y agua.

5. Una vez finalizada la centrifugación, se recogió el sobrenadante mediante pipeta Pasteur.
6. Para la determinación de GSSG, se separaron 200µL de sobrenadante de cada muestra y se añadieron 8 µL de 4-vinilpiridina, con el objeto de bloquear todo paso de glutatión reducido a oxidado. Se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente.
7. A continuación se pusieron en tubos de plástico y según el orden que se indica, los siguientes componentes: 0,9 mL de tampón fosfato sódico a todos los tubos, 50µL de las muestras (ya sean de GST o de GSSG) o de la correspondiente concentración estándar y por último a todos los tubos se les adicionó 50µ L de o-phtaldehído (sustancia fluorescente).
8. Se agitaron y se incubaron durante 15 minutos.
9. Pasado este tiempo se procedió a la lectura en el espectrofluorímetro, utilizando una longitud de onda de excitación de 350 nm y de emisión de 440 nm dando lugar a los valores de la curva patrón y el glutatión total (GST).

5.2. Valoración de los resultados:

Los datos de los registros gráficos (cm) correspondientes a las concentraciones de la curva estándar, se introdujeron en un programa gráfico que calculó su regresión.

Una vez obtenido el dato de glutatión en nmol/100 µL, teniendo en cuenta las diluciones realizadas y el peso del tejido añadido, se aplicó una expresión matemática (para dilución 1:5), expresándose los resultados, de esta forma, en µmol/g de tejido.

Esta valoración se realizó para glutatión total (GST) y glutatión oxidado (GSSG), calculándose el glutatión reducido (GSH) mediante la diferencia:

$$\text{GSH} = \text{GST} - \text{GSSG}$$

5.3. Reactivos para la determinación del glutatión total por espectrofluorimetría:

- **Tampón** de homogeneización fosfato sódico 0.1 M, conteniendo EDTA (5mM). pH 8,0. La composición del tampón es la siguiente:
 - Sodio Fosfato bisódico ($\text{Na}_2\text{PO}_4\text{H}$): Forma anhidra. Pm 141,98. Riqueza 99%. Probus, S.A©. España. 14,19 g/L.
 - Fosfato Monosódico (NaPO_4H_2): Pm 156,03. PROBUS, S.A©. España. 15,60 g/L.
- **EDTA**: Pm 292.2. Lote 55F-0045. Forma anhidra. Riqueza 99%. Sigma Chemical Co©. USA. 146 mg/100 mL.
- **REACTIVOS**:
 - o Acido Ortofosfórico (H_3PO_4): Pm 98.00. Riqueza 85% por lo que debemos diluir para conseguir que la riqueza sea del 25%. Lote 28070. Montplet y Esteban S.A. © España. 1 mL.
 - o 4-Vinilpiridina. Lote 73H1066. Sigma Chemical Co. © USA.
 - o O-Phtaldehido (OPA): Pm 134.1. Lote 93H7750. Riqueza 99%. Sigma Chemical Co©. USA. 6 mg en 6 mL de metanol.

5.4. Determinación de los productos de reacción con ácido (TBARS)

Para la determinación de TBARS en tejidos, seguimos la técnica descrita previamente por Bellido y De La Cruz (*Bellido et al., 1991; De la Cruz et al., 1992*).

1. Se procedió a la dilución de las alícuotas de lisado de hematíes mediante agitación en el tampón de incubación descrito para la obtención de la fracción P2 con Tris-20 mM en proporción 1:2 (peso/volumen).

2. Una vez obtenida la dilución, se repartieron las muestras en alícuotas en tubos de cristal y se acomodaron en una gradilla. Éstas se mantuvieron inmersas en hielo triturado y agua durante todo el tiempo de preparación.
3. En los casos de incubación con algún compuesto (experimentos *in vitro*), se hizo en un volumen de 50 μL . A las muestras problema se les añadió los inductores de la peroxidación lipídica, sulfato ferroso y ácido ascórbico, ambos en un volumen de 50 μL también, mientras que al control se le añadió el mismo volumen pero de agua. El volumen final de la muestra fue en todos los casos el mismo.

La incubación del compuesto se hizo durante 30 minutos en un baño a 37 °C. En los casos en que se indujo a la peroxidación lipídica, las sustancias se añadieron a continuación en las mismas condiciones pero durante un periodo de tiempo de 45 min. Durante todo el proceso, los tubos se taparon y cubrieron con papel de aluminio, para evitar de este modo, su exposición a la luz y en agitación continua a una velocidad de 100 bats/min.

4. Tras la incubación, las muestras fueron extraídas del baño y destapadas. Se añadió a las muestras problema y sus controles un volumen de 500 μL de una solución de ácido tiobarbitúrico al 0.5% en ácido tricloroacético al 20%, para colorear los TBARS formados en el primer caso y para precipitar las proteínas y frenar de esta forma la reacción en el segundo.
5. A continuación todas las muestras, problemas y controles, fueron introducidas en un baño termostatzado a 100°C durante 15 minutos.
6. Finalizado este tiempo fueron pasadas a tubos de plástico siliconados y centrifugadas a 2000 x g durante 15 minutos a 4°C.

7. Una vez obtenido el sobrenadante, se procedió a su medición mediante un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 532 nm en el espectro de luz visible.

El valor de la absorbancia resultante, fue transformado en nmoles de TBARS mediante su comparación con una curva de calibración estándar de TBARS realizada previamente con malondialdehído-bis-dietilacetal en un rango de concentraciones de 0 a 100 nmol/L y siguiendo la metodología anteriormente descrita para la determinación de TBARS en los tejidos, pero utilizando como sustituto del tejido concentraciones crecientes de TBARS.

Los datos de la curva estándar de TBARS se analizaron mediante un programa de regresión no lineal y sobre estos datos se compararon las absorbancias de las muestras, obteniéndose la cantidad de TBARS de las mismas en nmol/mL.

Los valores de TBARS en nmoles producidos por las muestras, se relacionaron posteriormente con los mg de proteínas existentes en ella, expresando el índice de productos lipídicos reaccionantes con el ácido tiobarbitúrico en último término en nmoles de MDA/mg de proteínas.

En cuanto a la cuantificación del daño producido a través del estrés oxidativo, utilizamos una técnica que a través de la cuantificación de malonildialdehído, nos permitió obtener una medición indirecta del daño en la membrana (*Kohen 2002*).

5.5. Componentes de la solución de incubación para peroxidación lipídica.

- Bicarbonato sódico (NaHCO₃): Pm 84.01. Riqueza 99.5%. Lote K30929. Merck©. Alemania.
- Cloruro sódico (NaCl): Pm 58.44. Lote 126 F-02731. Sigma. Chemical Co©. USA.
- Cloruro cálcico (CaCl₂): Pm 110.99. Riqueza 95%. Panreac©. España.
- Cloruro potásico (KCl): Pm 58.45. Probus©. España.

- D-glucosa (C₆H₁₂O₆): Pm 180.16. Forma anhidra. Lote 5231339. Merck©. Alemania.
- Fosfato monopotásico (KH₂PO₄): Pm 136.09. Lote 59676. Probus©. España.
- Sulfato de magnesio (MgSO₄·7H₂O): Pm 246.48. Riqueza 99.5%. Lote 5272745. Alemania.

La composición molar de la solución de incubación fue: ClNa 0.1 M, ClK 5x10⁻⁴ M, Cl₂Ca 3.1x10⁻³ M, MgSO₄ 1x10⁻³ M, Glucosa 4.9x10⁻³ M, NaCO₃H 2.4x10⁻² M, PO₄H₂K 5.5x10⁻⁴ M, en agua bidestilada y desionizada.

Agentes inductores de la peroxidación lipídica

- Sulfato ferroso (FeSO₄·7H₂O): Forma heptahidratada con un 98% de riqueza. Pm 278.0. Lote 115 F-0368. Sigma Chemical Co©. USA.
- Ácido l-ascórbico (C₆H₈O₆): Pm 176.13. Lote 16 F-06401. Sigma Chemical Co©. USA.

Reactivos para la reacción de malondialdehído

- Tampón de homogenización Ringer, conteniendo ClNa, ClK, Cl₂Ca, SO₄Mg, Glucosa, CO₃HNa y PO₄H₂K.
- Ácido tiobarbitúrico (4,6-hidroxi-2-tiopiridina): Forma anhidra. Pm 144.1. Lote 46F-0110. SIGMA Chemical Co©. USA.
- Ácido tricloroacético: En solución al 20% (P/V). Montplet y Esteban S.A.© España.
- Malonaldehído-bis-(diethylacetal): Pm 220.31. Densidad 0.919. Riqueza 98%. Lote 04318 CT. Aldrich Chemical Co. © USA.

6. ÍNDICES VASOACTIVOS

Las dosis por hora de los siguientes medicamentos inotrópicos y vasoactivos se registraron durante las primeras 48 horas después del ingreso postoperatorio en la UCI: dopamina, dobutamina, adrenalina, noradrenalina, milrinona y vasopresina. En nuestro análisis, se calculó la puntuación de inotrópicos (IS) como fue descrito por Wernovsky en 1995. Hemos ampliado esta fórmula para incluir otros agentes vasoactivos utilizados habitualmente en la práctica actual para definir una puntuación-vasoactivo inotrópico (VIS) basándonos en lo descrito por Gaies et al en 2010. Hemos elegido utilizar coeficientes de milrinona, vasopresina y noradrenalina que los convierte a un valor entero y para dar a cada medicamento el mismo peso en el cálculo como se había hecho por Wernovsky y colegas.

$$\text{Wernovsky IS} = \text{dopamina (mcg/kg/min)} + \text{dobutamina (mcg/kg/min)} + \\ + 100 \times \text{adrenalina (mcg/kg/min)}$$

$$\text{VIS} = \text{IS} + 10 \times \text{milrinona (mcg/kg/min)} + 10000 \times \text{vasopresina (U/kg/min)} + \\ + 100 \times \text{noradrenalina (mcg/kg/min)}$$

7. ESTADÍSTICA

La valoración estadística de dichos resultados se realizó mediante la utilización del programa R Commander para Windows.

Para conseguir una potencia del 80% para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula $H_0: \rho=0$ mediante una Prueba T-Student bilateral para el coeficiente de correlación de Pearson entre dos variables, teniendo en cuenta que el nivel de significación es del 5%, y asumiendo que la correlación esperada es 0.45, era necesario incluir 27 pacientes en el estudio. El tamaño muestral se ajustó dado que se esperaba tener un 10% de pérdidas por lo que el número de sujetos que era necesario reclutar para el estudio era de 27.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables con estimación puntual e intervalo de confianza para el 95% de seguridad, tratándose las variables continuas como medias, desviación estándar o medianas según la distribución de la variable sea normal o no respectivamente. Las variables categóricas se presentarán en frecuencias y porcentajes. Análisis estadístico bivariado mediante t de Student. Para variables categóricas se evaluó la diferencia de proporciones, empleando Chi Cuadrado. Se valoraron los promedios con 3 o más grupos por medio de ANOVA.

Para comparar si existen diferencias entre los valores analíticos tomados en el paciente en los tres momentos temporales (PRE, PO1 y PO2) se aplicará la prueba no paramétrica de Friedman, que es una extensión de la no paramétrica de Wilcoxon.

Para efectuar comparaciones múltiples y analizar que variables difieren entre sí se aplicó la prueba de Wilcoxon aplicando la corrección de Bonferroni para controlar la tasa de error; se consideró que los promedios de dos variables difieren significativamente cuando el nivel crítico obtenido era menor que 0,016.

Al afrontar el estudio de la relación entre el tiempo de CEC, tiempo de clampaje y tipo de cirugía con las variables de estrés oxidativo en PO1 y PO2, para comparar las

variables continuas se utilizó el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman, considerando que si los coeficientes son bajos y no significativos se indica una ausencia de correlación. Para las variables categóricas aplicamos el test de Kruskal-Wallis.

En la valoración de la relación entre estrés oxidativo y las demás variables analíticas medidas en cada uno de los tiempos, aplicamos el coeficiente de correlación de Spearman.

Se realizó un análisis multivariante con regresiones logísticas para identificar variables predictivas de mayores daños por isquemia-reperfusión de entre las variables dependientes de interés controlando por posibles factores de confusión e interacciones.

Los factores predisponentes para SRIS-CEC fueron comparados mediante el test de Chi-cuadrado (X^2) de Pearson y el test t de *Student*. Para las variables categóricas, se calcularon adicionalmente los riesgos relativos con los respectivos intervalos de confianza del 95%.

Se realizó también una regresión logística, considerando SRIS-CEC la variable dependiente.

Con relación a la comparación de resultados entre pacientes con y sin SRIS-CEC, se utilizaron el test de X^2 de Pearson y el test de Mann-Whitney.

También se realizó la regresión lineal múltiple para altas continuas y se utilizó la correlación de Spearman para la evaluación de la SRIS-CEC en forma de score continuo.

8. ASPECTOS ÉTICOS

Los pacientes fueron reclutados desde la UCIP y el Servicio de Cirugía Cardiovascular Infantil del Hospital Regional Universitario de Málaga. La participación en el proyecto fue voluntaria y la solicitud de participación fue realizada como una propuesta de investigación de salud, independiente del proceso asistencial convencional del sistema sanitario. A los participantes o en su caso a los padres o tutores legales, se les informó por

escrito de la naturaleza de la investigación y del uso que se va a hacer de la información que se obtenga. Además de la información verbal y escrita, a los participantes se les presentó un consentimiento informado por escrito. El proyecto fue evaluado para su aprobación por el comité de Ética y de Investigación Provincial de Málaga.

Para garantizar la confidencialidad de la información todos los datos recogidos en este proyecto son registrados de forma anónima, siguiendo estrictamente las leyes y normas de protección de datos en vigor (Ley 41/2002 de 14 de noviembre; Ley 15/1999 de 15 de diciembre). Con el fin de proteger la confidencialidad de la información personal de los participantes se han tomado las siguientes medidas:

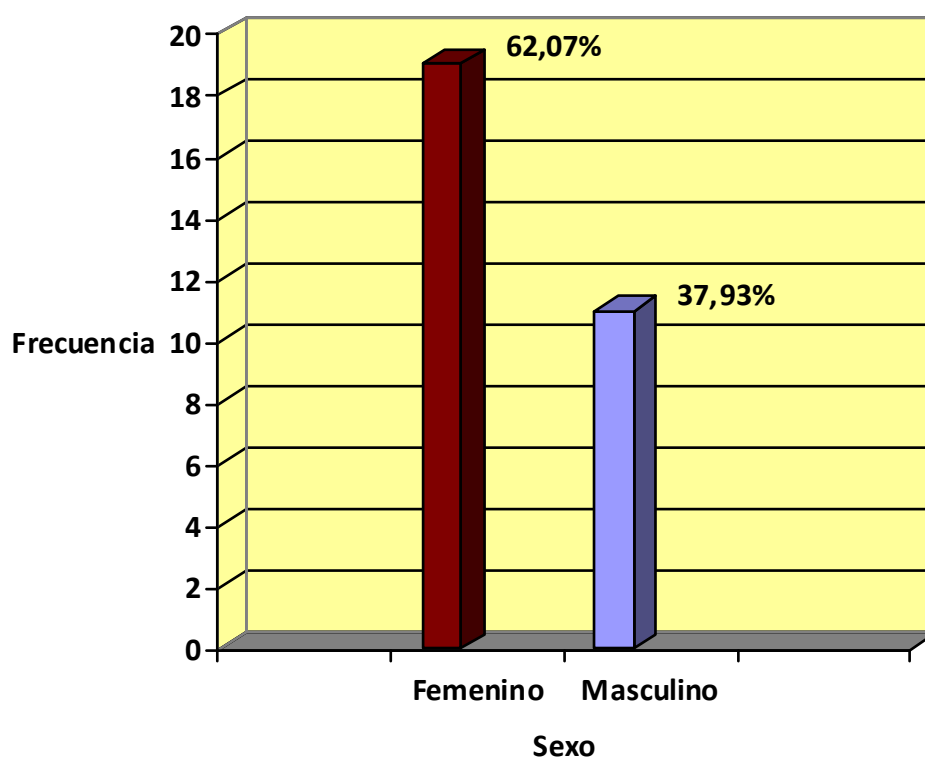
- ❑ Todos los datos que puedan identificar al participante se mantienen separados del resto de la información recogida en los diferentes cuestionarios del estudio así como de la historia clínica.
- ❑ Cada caso del estudio cuenta con un número de identificación que es el que figura en las bases de datos.
- ❑ El análisis de la información se ha hecho siempre de forma agregada y nunca individual.
- ❑ Todos los investigadores implicados en el proyecto se comprometieron a cumplir las normas necesarias para preservar la confidencialidad de la información facilitada por los participantes.
- ❑ Los datos personales se han desvinculado permanentemente de los datos clínicos con el fin de proteger la identidad de los participantes.
- ❑ Todas las bases de datos del proyecto están protegidas electrónicamente con códigos que limitan el acceso únicamente a los investigadores del proyecto.

IV. RESULTADOS

1. GENERALES / EPIDEMIOLÓGICOS

En el actual trabajo durante el período de estudio se han incluido 30 pacientes pediátricos sometidos a CCV mediante CEC. La mediana de edad es de 4,1 años (IQ: 2,7; 8,0) y se observó un predominio de niñas (62,07%) en la muestra como se puede ver en la figura 17.

Figura 17. Distribución por sexos



En lo referente a la valoración antropométrica (figuras 18 y 19), se observó una mediana de desviaciones estándar de peso de -0,39 (IQ: -0,76; 0,24), de talla -0,22 (IQ: -0,74; 0,27) y de IMC -0,43 (IQ: -1,0; 0,45).

**Figura 18. Diagrama de cajas de los datos antropométricos
Figura 2a. IMC, Peso, Talla.**

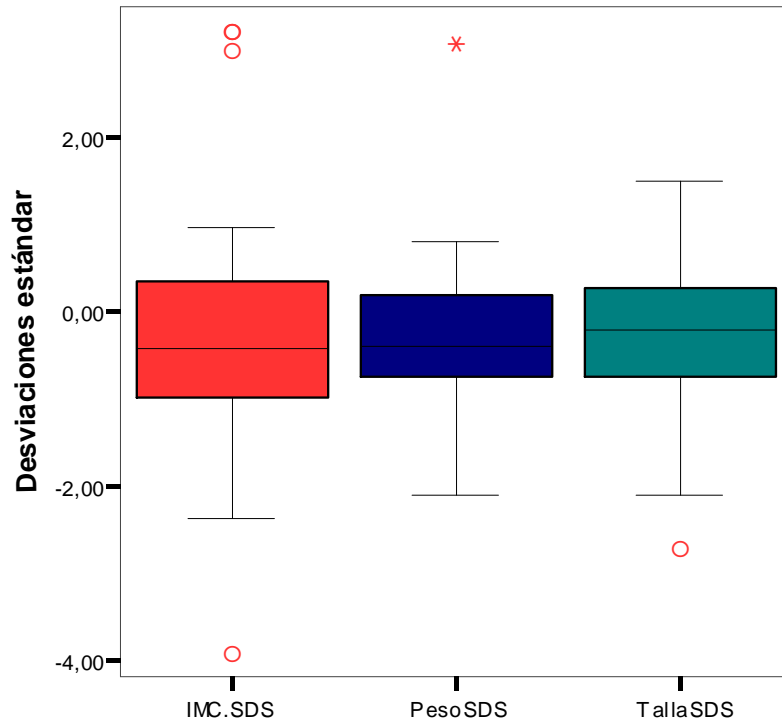
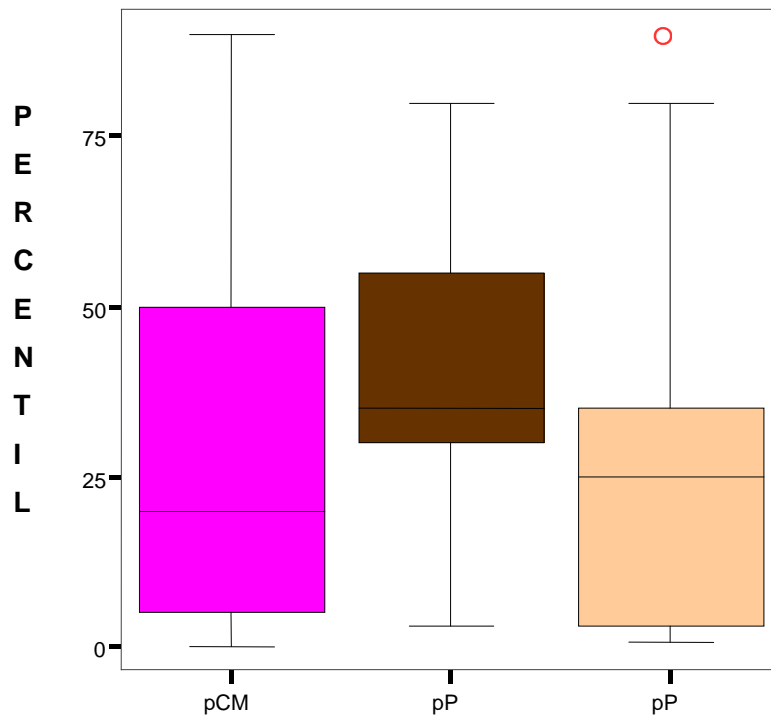


Figura 19. Datos de antropometría (CMB, pT, pB)



En cuanto a los pliegues cutáneos, que permiten la valoración de masa grasa y masa magra (PT, PB, CMB), la siguiente tabla resume los resultados obtenidos.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las principales variables antropométricas.

		SDS de peso	SDS de talla	SDS de IMC	pPT	pPB	pCMB
Mediana		-0,39	-0,22	-0,43	35,00	25,00	20,00
Percentiles	25	-0,76	-0,74	-1,00	27,50	2,50	4,25
	75	0,24	0,27	0,45	56,25	38,75	51,25

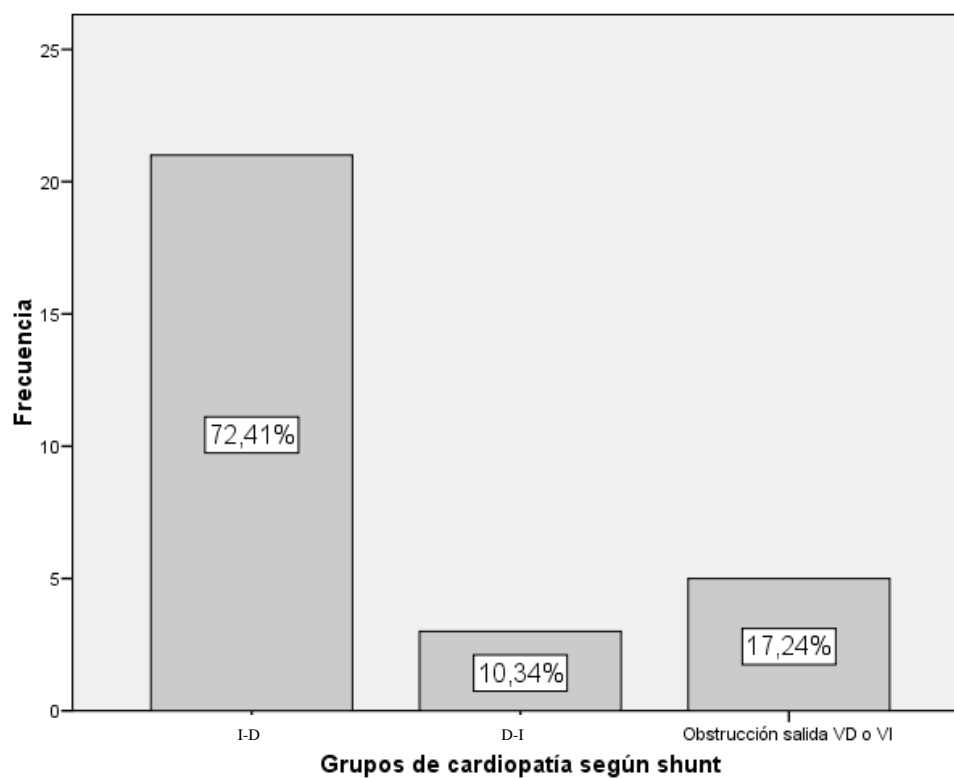
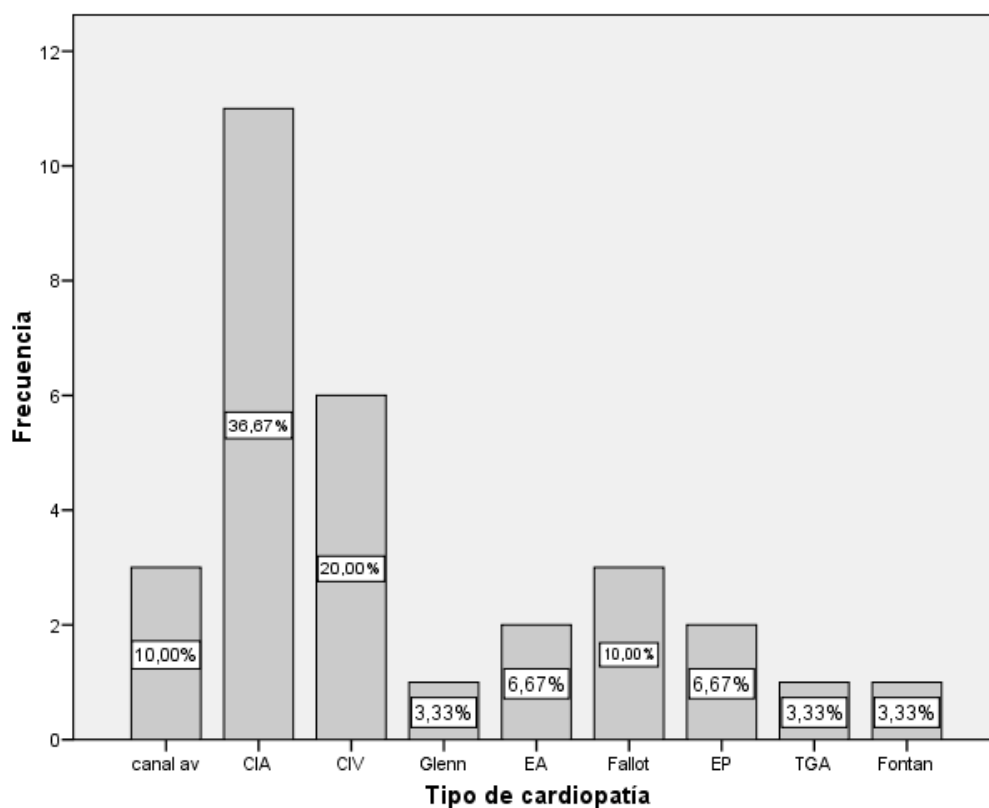
Las cirugías realizadas han sido 11 cierres de comunicaciones interauriculares (CIA), 2 cirugías de estenosis pulmonar (EP), 3 correcciones completas de tetralogía de Fallot, 3 correcciones de canales AV, 6 cierres de comunicación interventricular (CIV), 2 cirugías de estenosis aórtica (EA), dos correcciones de corazón univentricular (una mediante técnica de Glenn y otra mediante Fontan) y una corrección anatómica de transposición de grandes arterias (TGA), lo cual queda reflejado en la tabla 2. Podemos también dividirlo en 23 casos de cirugía intracardiaca y 7 de extracardiaca. Cuando agrupamos en base a la existencia de un shunt, podemos dividir las cirugías en tres grandes grupos: shunt I-D, siendo 22 casos (73,3%), shunt D-I, correspondiendo a 3 casos (10%), y obstrucción de tracto de salida de VD o de VI, 5 casos (16,6%). Todo esto se puede apreciar en los gráficos de barras en la figura 3.

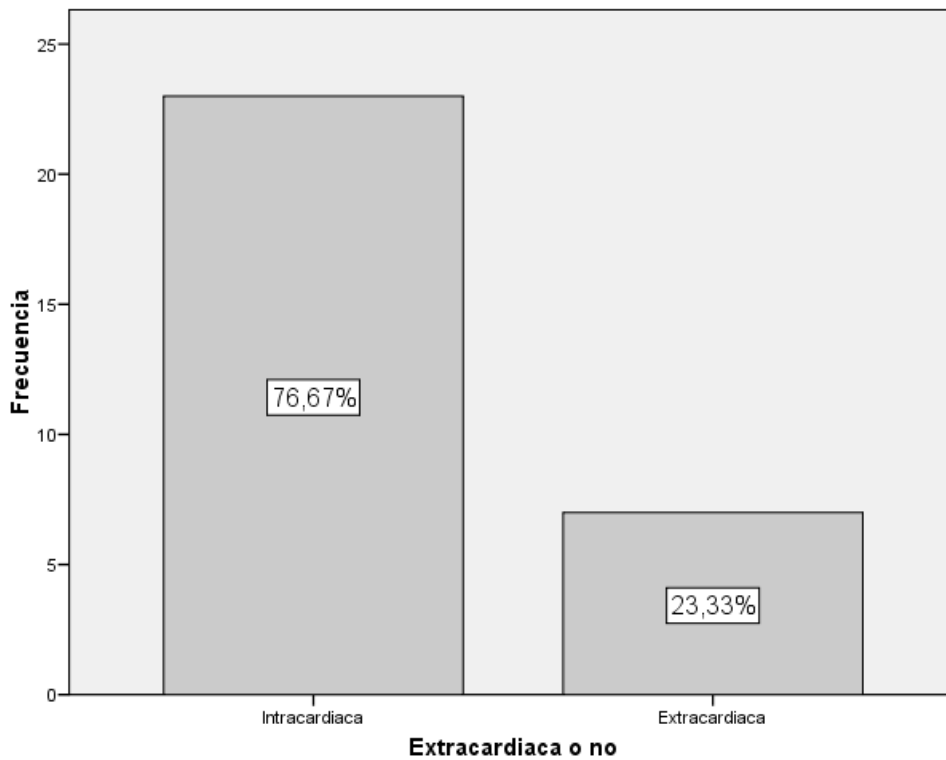
Tabla 2. Tipos de cirugía incluídas

		n	%
Tipo de cardiopatía	Canal AV	3	10%
	CIA	11	36,6%
	CIV	6	20%
	Glenn	1	3,3%
	EA	2	6,6%
	T. Fallot	3	9,9%
	EP	2	6,6%
	TGA	1	3,3%
	Fontan	1	3,3%
Grupos quirúrgicos	Cirugía Intracardiaca	23	76,6%
	Cirugía Extracardiaca	7	23,3%
Grupo de cardiopatía	Shunt I-D	22	73,3%
	Shunt D-I	3	10%
	Obstrucción tracto de salida ventricular	5	16,6%
Tiempo de CEC agrupado	30-60 min	7	25,0%
	60-90 min	12	42,9%
	90-120 min	2	7,1%
	>120 min	7	25,0%

En la figura 20 podemos apreciar visualmente las frecuencias de aparición de los tipos de cirugía incluídos y las diversas formas de agruparlos en base al tipo de cardiopatía y el tipo de abordaje quirúrgico practicado.

Figura 20. Gráficos de barras de frecuencia de las cardiopatías intervenidas y agrupadas en base al shunt existente y a si son extra o intracardiacas.



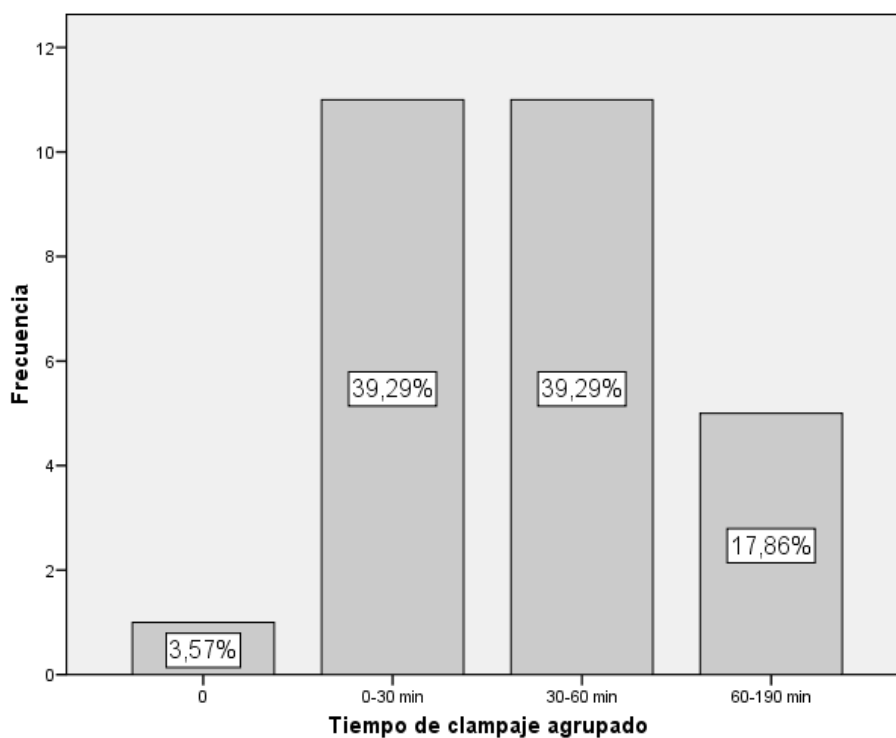
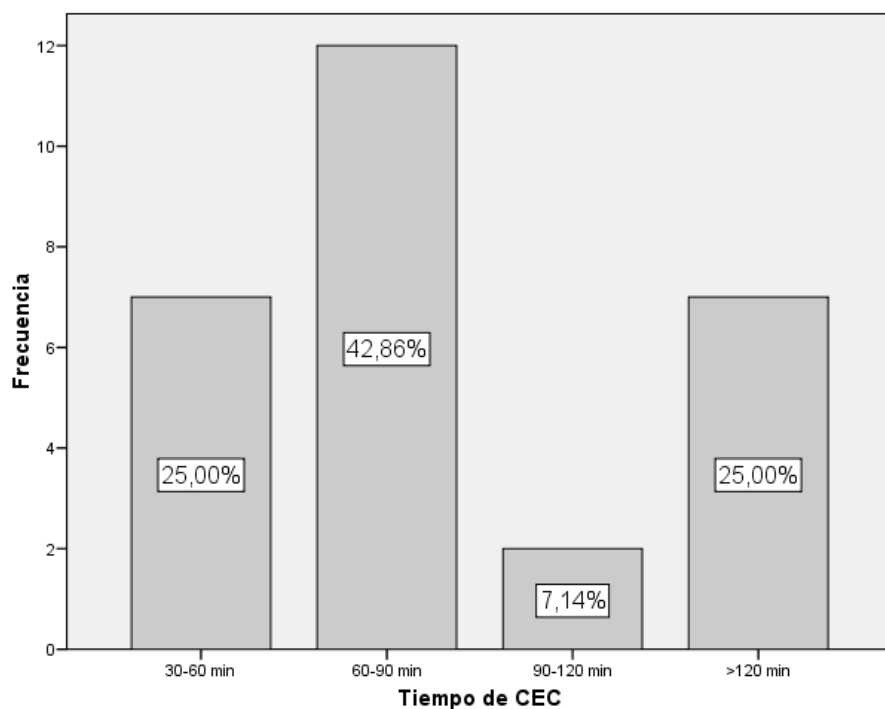


Los tiempos quirúrgicos empleados en la fase intraoperatoria se pueden dividir en dos apartados: un tiempo total de circulación extracorpórea (CEC), con una mediana de 79 minutos (IQ: 52,5; 125,5), y un tiempo de clampaje aórtico, que está incluido dentro del anterior, con una mediana de 38,5 minutos (IQ: 22; 59).

La figura 21 representa los tiempos de circulación extracorpórea y de clampaje aórtico en forma de gráfico de barras simple. La mayoría de las intervenciones transcurren con tiempos de CEC menores de 90 minutos (67,86%) y con clampajes menores de 60 minutos (82.1%).

La mediana de estancia en la unidad de cuidados intensivos tras la intervención es de 2 días (RIQ 2; 7,25), con una mediana de duración de ventilación mecánica de 6 horas (4,75; 10,5). Hay tres pacientes con síndrome de Down.

Figura 21. Gráficos de barras de los tiempos de circulación extracorpórea (CEC) y de clampaje aórtico.



2. PARÁMETROS ANALÍTICOS GENERALES

En la tabla 3 se expresan las principales variables analíticas de determinación habitual en los laboratorios hospitalarios que representan la respuesta inflamatoria (PCR y PCT), afectación tisular [enzimas cardíacas (CPKmb y troponina)] y bajo gasto (ácido láctico). Se puede apreciar el ascenso en los valores de cada analito en los tiempos postoperatorios (PO1 y PO2) respecto al preoperatorio (PRE), en diferente grado según cada variable.

Tabla 3. Tablas de valores de PCR, PCT, láctico y enzimas cardíacas (CPKmb y troponina) y comparaciones en los tres momentos de estudio.

	PCR (mg/l)	PCT (ng/ml)	CPKmb (UI/dl)	Troponina (ng/ml)	Láctico (mmol/l)
PRE	3,91±7,9	0,05±0,01	4,51±2,34	0,09±0,02	1,2±0,2
PO1	2,02±2,38	0,23±0,27	154,21±130,43*	34,45±36,68*	3,16±2,36*
PO2	50,16±22,08*¥	4,01±4,02*¥	51,34±35,78*¥	13,81±18,41*¥	1,68±0,60¥

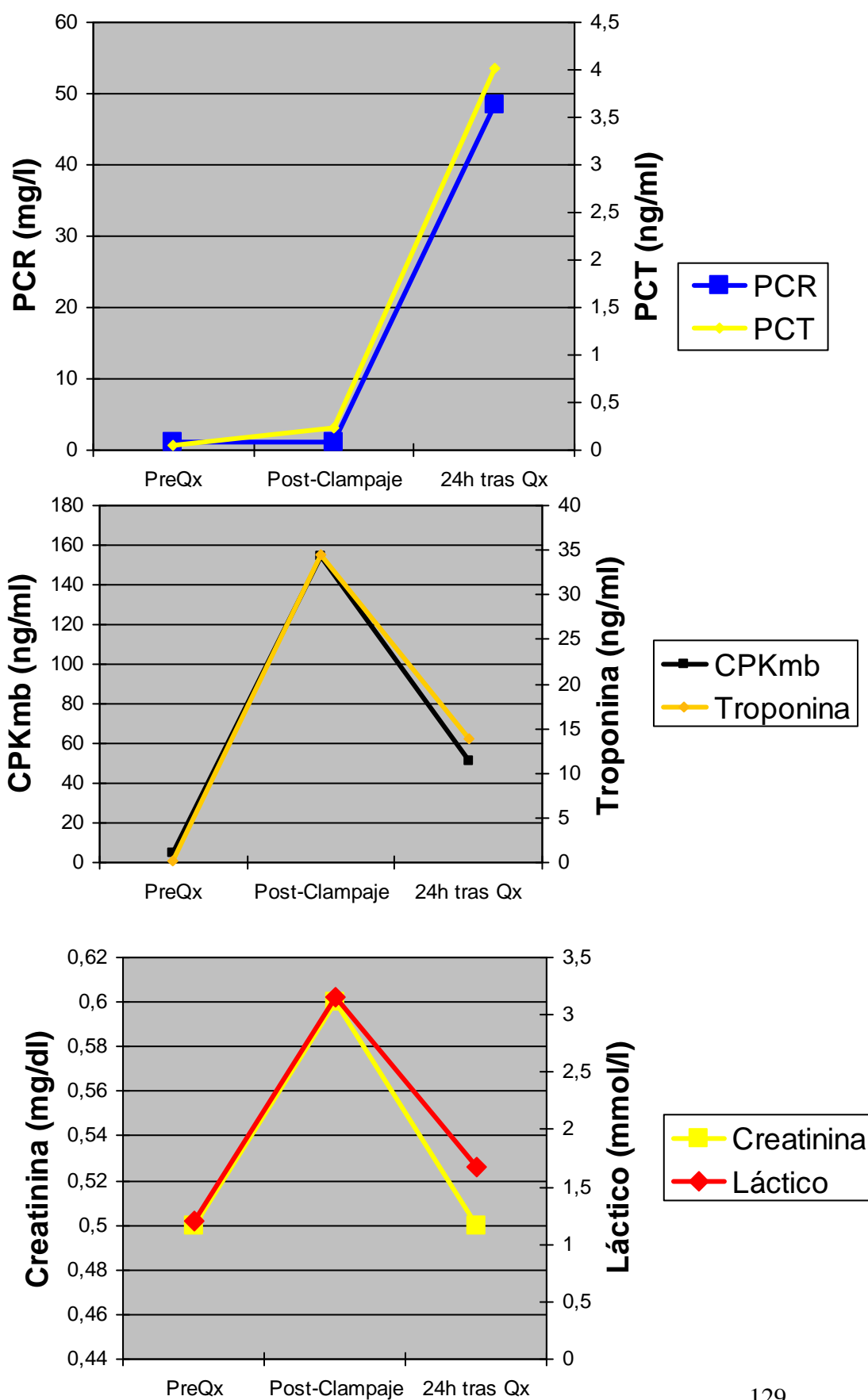
* p < 0,05 comparando con variable en PRE

¥ p < 0,05 comparando con variable en PO1

prueba de Friedman (p<0,001) y de Wilcoxon (p< 0,016)

En la figura 22 se representan los diversos analitos según el momento de extracción de la muestra, para valorar visualmente el ascenso o descenso de los mismos según cada fase, y en la figura 23 se aprecian las variaciones de las enzimas musculares en base al tipo de sección quirúrgica practicada.

Figura 22. Gráficas de evolución temporal de diversos analitos.



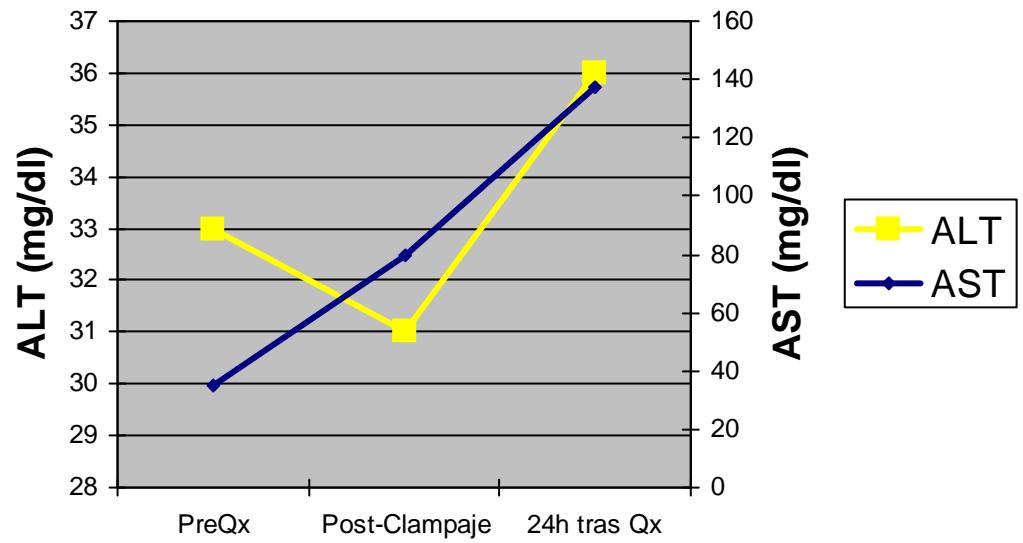
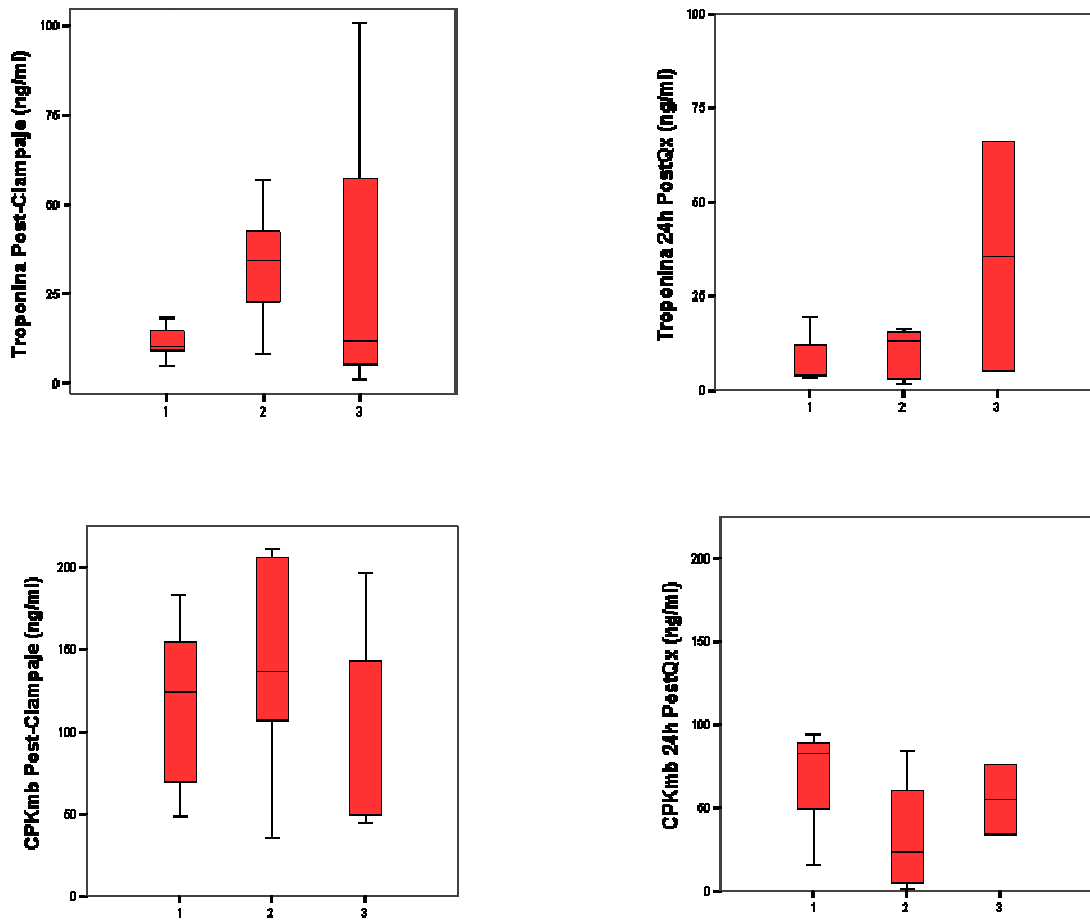


Figura 23. Gráfica de enzimas musculares en base a tipo de sección quirúrgica realizada (1: auriculotomía, 2: ventriculotomía; 3: extracardiaca).



3. VALORACIÓN DEL ABORDAJE EXTRA O INTRACARDIACO

Se aprecia, en la tabla 4, la nula influencia del tipo de abordaje, extra o intracardiaco, en los marcadores analíticos, incluyendo estrés oxidativo, interleukinas y agregación.

Tabla 4. Análisis estadístico de los diferentes analitos en los tiempos PO1 y PO2 en base a cirugía extra o intracardiaca.

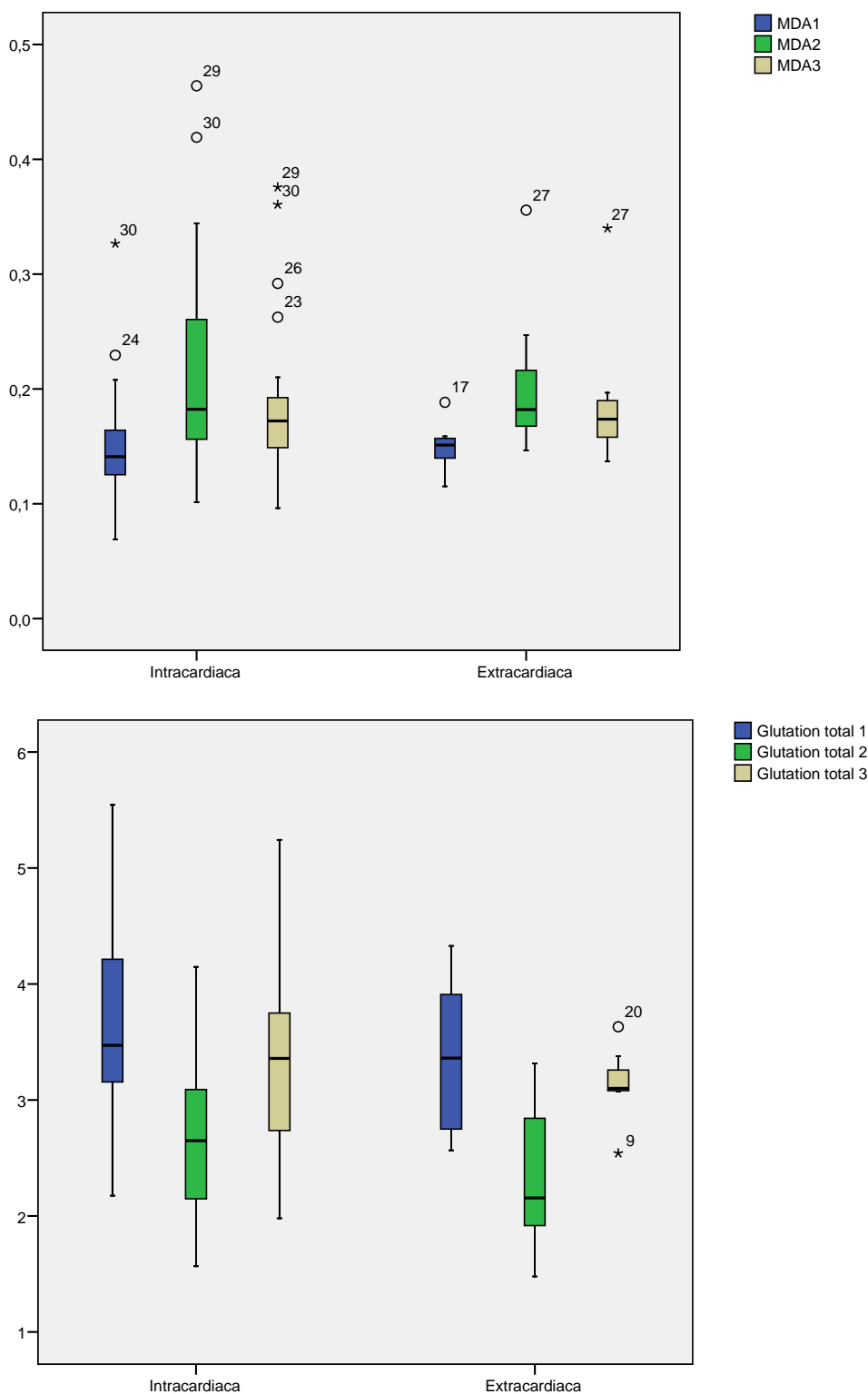
Variables	Tipo de cirugía	Postoperatorio inmediato (PO1)	Postoperatorio tardío (PO2)
PCR	Intracardiaca	2,17±2,73	50,38±5,67
	Extracardiaca	1,58±0,66	49,51±6,74
PCT	Intracardiaca	0,22±0,27	3,38±1,10
	Extracardiaca	0,28±0,33	5,56±2,69
CPKmb	Intracardiaca	143,46±89,29	50,53±13,76
	Extracardiaca	175,71±198,67	54,55±21,15
Troponina	Intracardiaca	25,46±16,87	8,96±2,30
	Extracardiaca	56,03±61,45	35,62±30,40
Creatinina	Intracardiaca	0,61±0,22	0,52±0,059
	Extracardiaca	0,58±0,23	0,47±0,071
Láctico	Intracardiaca	2,87±2,00	1,71±0,15
	Extracardiaca	3,98±3,22	1,62±0,13
GPT	Intracardiaca	47,19±43,76	42,57±12,95
	Extracardiaca	36,10±12,98	42,00±4,72
GOT	Intracardiaca	96,06±54,34	136,17±17,41
	Extracardiaca	161,50±156,51	179,00±94,34
MDA	Intracardiaca	0,21±0,09	0,18±0,07
	Extracardiaca	0,20±0,07	0,19±0,06
Agregación inducida por colágeno	Intracardiaca	15,66±5,14	21,22±3,66
	Extracardiaca	11,00±3,10.	15,00±2,45
Agregación inducida por araquidónico	Intracardiaca	13,77±1,20	19,33±1,41
	Extracardiaca	17,00±2,34	21,00±3,45

Agregación inducida por ADP	Intracardiaca	12,88±1,61	18,00±2,64
	Extracardiaca	13,00±1,54.	18,00±1,23
Glutation total	Intracardiaca	2,63±0,72	3,29±0,74
	Extracardiaca	2,35±0,66	3,13±0,33
Glutation oxidado	Intracardiaca	0,24±0,21	0,28±0,19
	Extracardiaca	0,20±0,09	0,23±0,17
Glutation reducido	Intracardiaca	2,38±0,71	3,00±0,78
	Extracardiaca	2,15±0,63	2,90±0,44
Interleukina 1b	Intracardiaca	1,90±0,02	1,91±0,01
	Extracardiaca	1,91±0,02	1,92±0,01
Interleukina 6	Intracardiaca	6,61±1,65	5,26±1,00
	Extracardiaca	8,91±7,65	5,51±0,61
Interleukina 10	Intracardiaca	291,92±154,80	13,13±15,21
	Extracardiaca	375,36±362,51	27,89±36,85
TNF alfa	Intracardiaca	35,20±2,17	35,07±1,98
	Extracardiaca	35,11±1,16	33,79±1,74

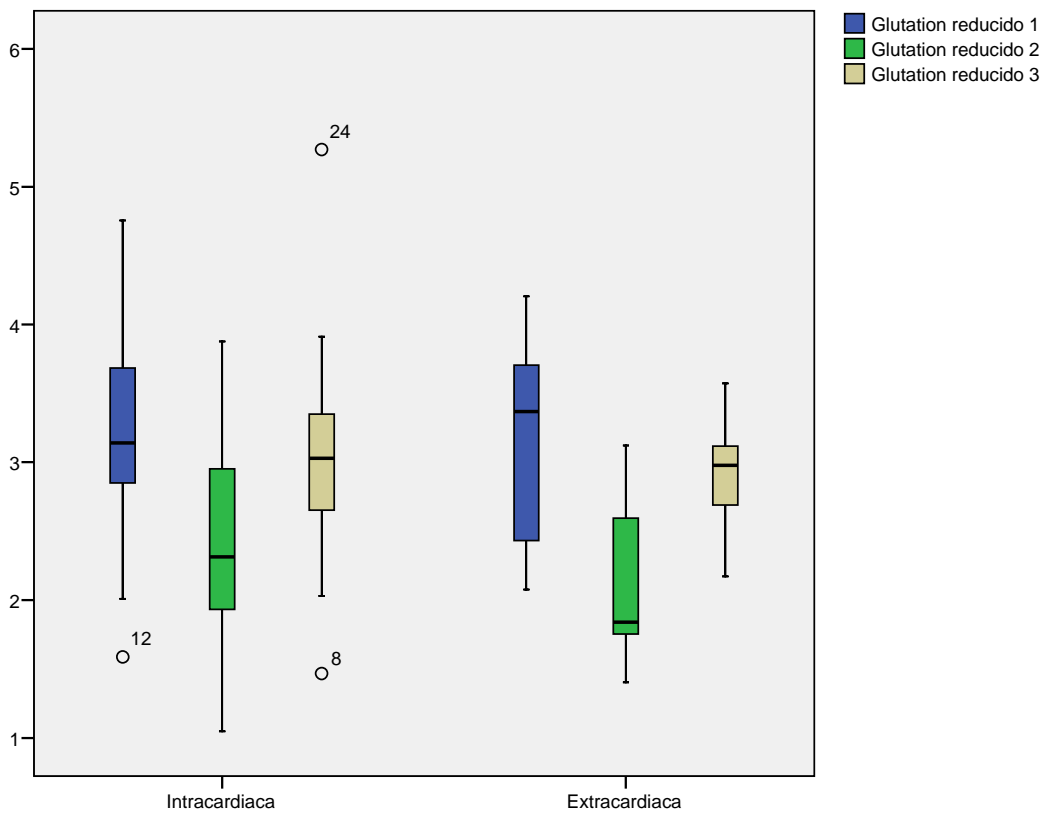
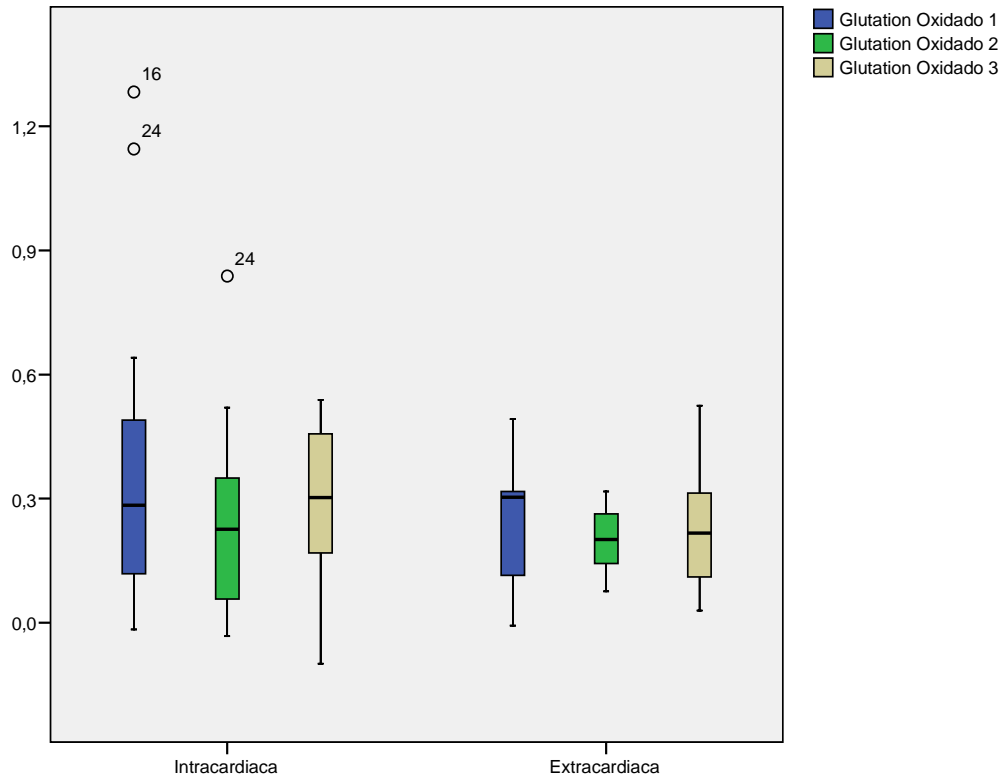
Analizando, mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney, la diferencia de medias entre las variables descriptivas según haya habido ventriculotomía o no en el acto quirúrgico, se aprecia que las variables entre las que hay diferencias estadísticamente significativas son: Glutation total en PO1 (p 0,043), glutati6n reducido en PO1 (p 0,027), agregaci6n inducida por ADP en PO2 (p 0,019), IL6 en PO2 (p 0,036), TNF α en PO2 (p 0,03).

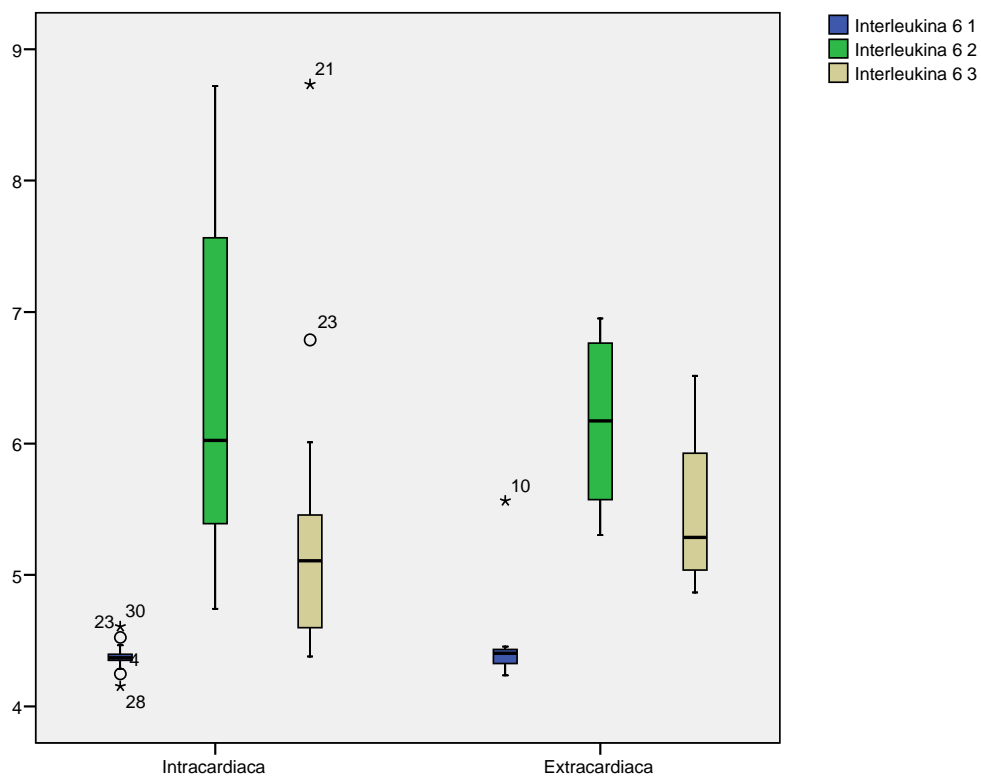
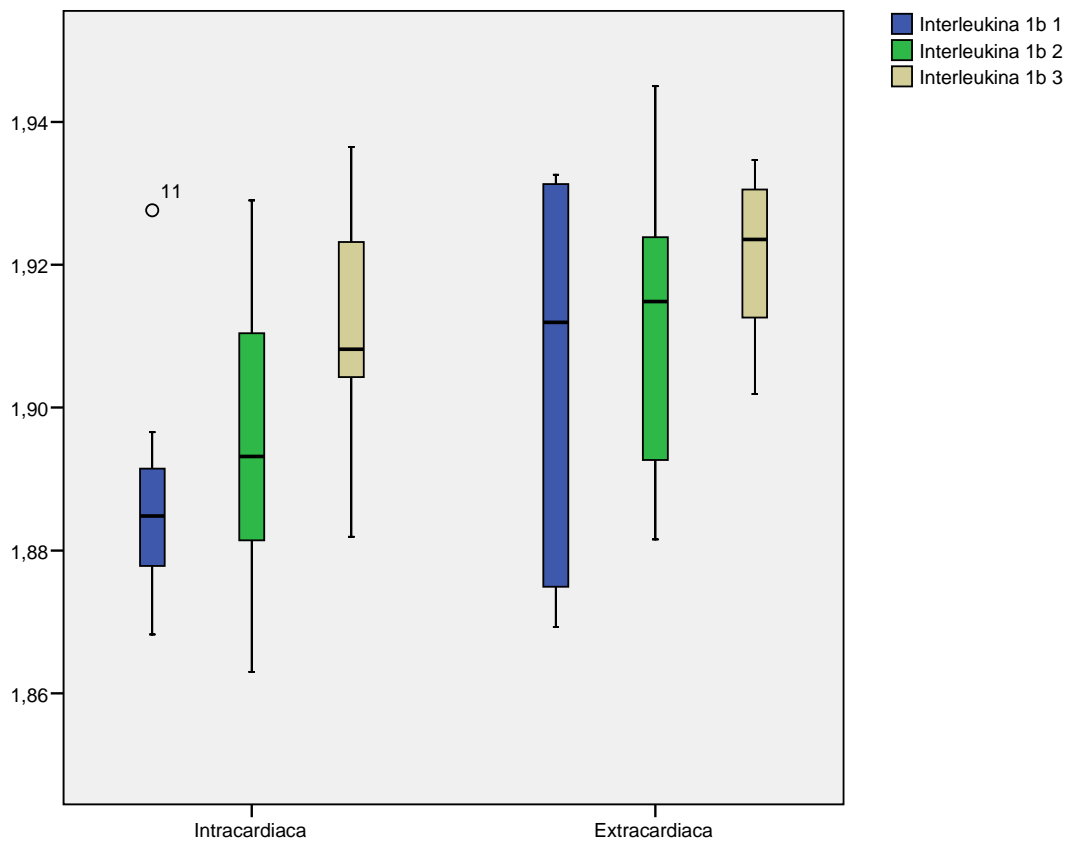
La figura 24 refleja las comparativas de los parámetros de estrés oxidativo e interleuquinas en los tiempos postoperatorio inmediato (PO1) y tardío (PO2), apreciándose visualmente la cinética de esas variables y su diferencia según el tipo de cirugía tras haberlas agrupado en aquellas con abordaje intracardiaco (auriculotomía y ventriculotomía) y aquellas extracardiacas.

Figura 24. Parámetros de estrés oxidativo e interleukinas en los tiempos PO1 y PO2 de extracción analítica, en relación a cirugía extra o intracardiaca.

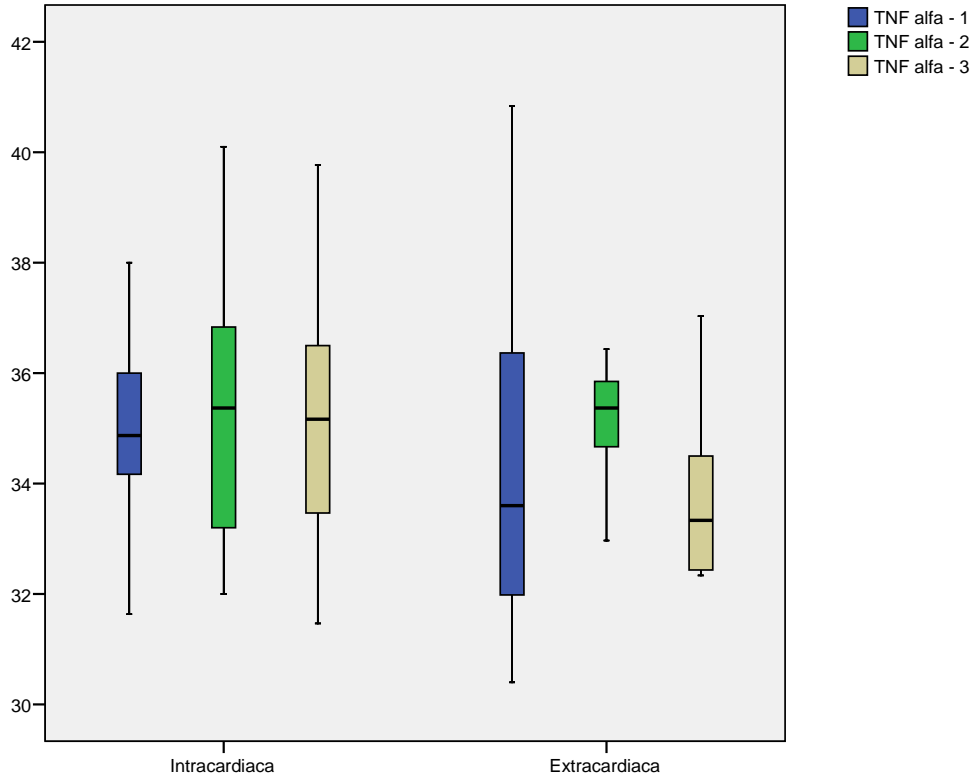
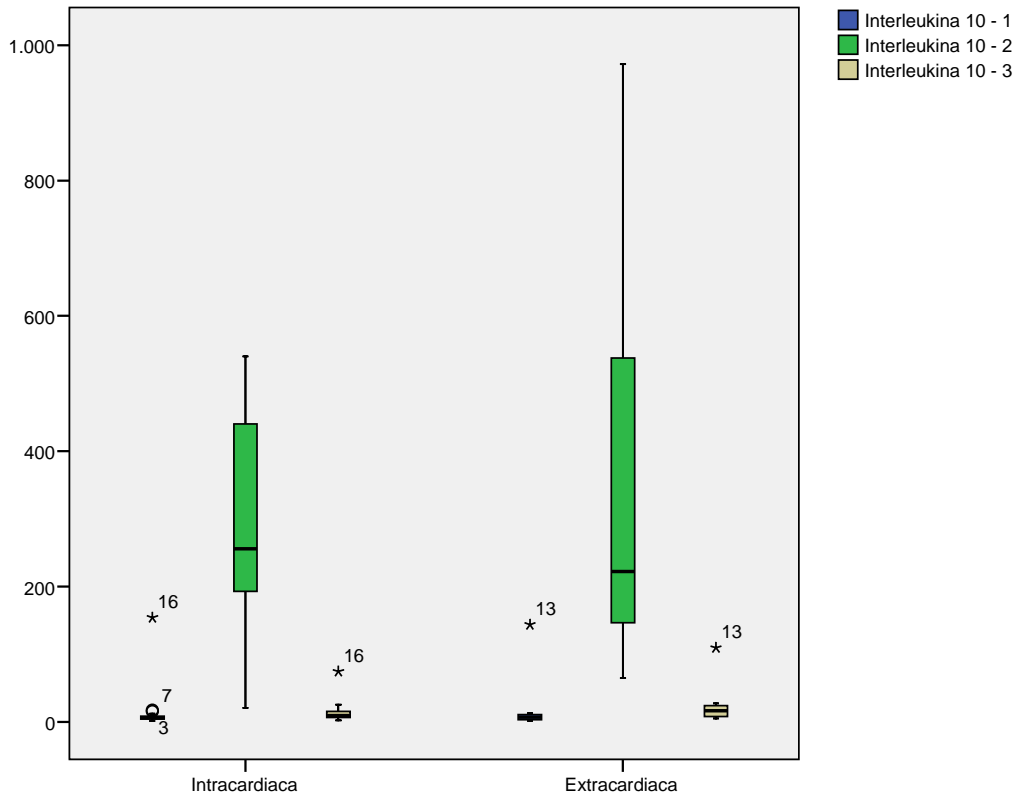


Resultados





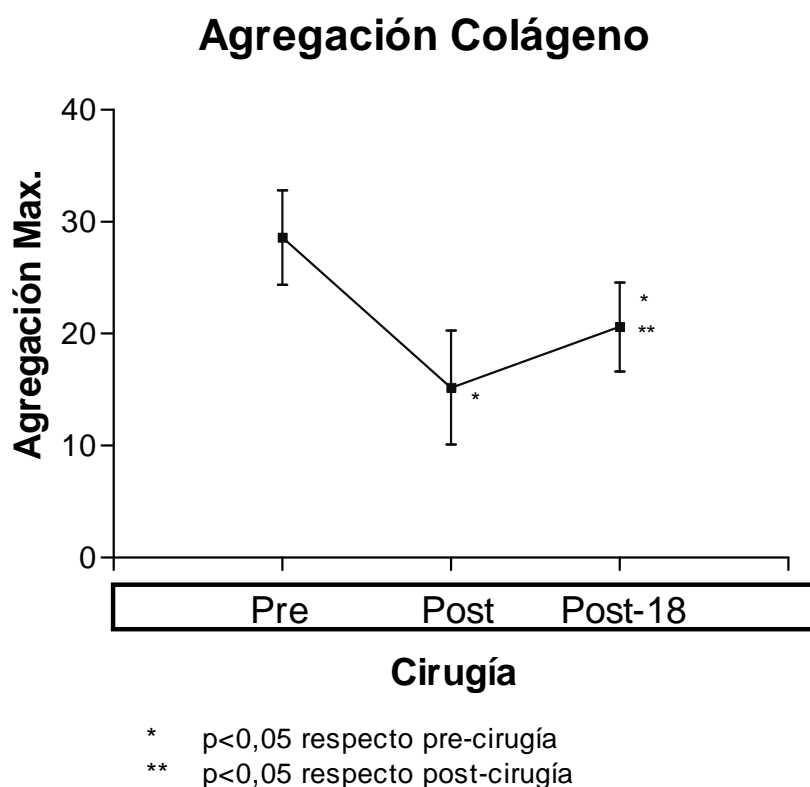
Resultados



4. AGREGACIÓN PLAQUETARIA

En las figuras 25 a 27 podemos observar los siguientes patrones de respuesta de la agregación plaquetaria ante el colágeno, el ácido araquidónico y el ADP. A la vista de la gráfica de la figura 25, podemos observar cómo se produce un descenso significativo en la actividad de las plaquetas ante la presencia colágeno en la primera hora tras despinzar la aorta, actividad que se recupera parcialmente en el control PO2.

Figura 25. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por colágeno



En cuanto al ácido araquidónico, en la figura 26 encontramos un patrón parecido al que observamos con el colágeno, reduciéndose casi un 50% la capacidad de agregación de las plaquetas en presencia del inductor en la muestra extraída en el postoperatorio inmediato, para recuperarse ligeramente en el PO2.

Figura 26. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por AA

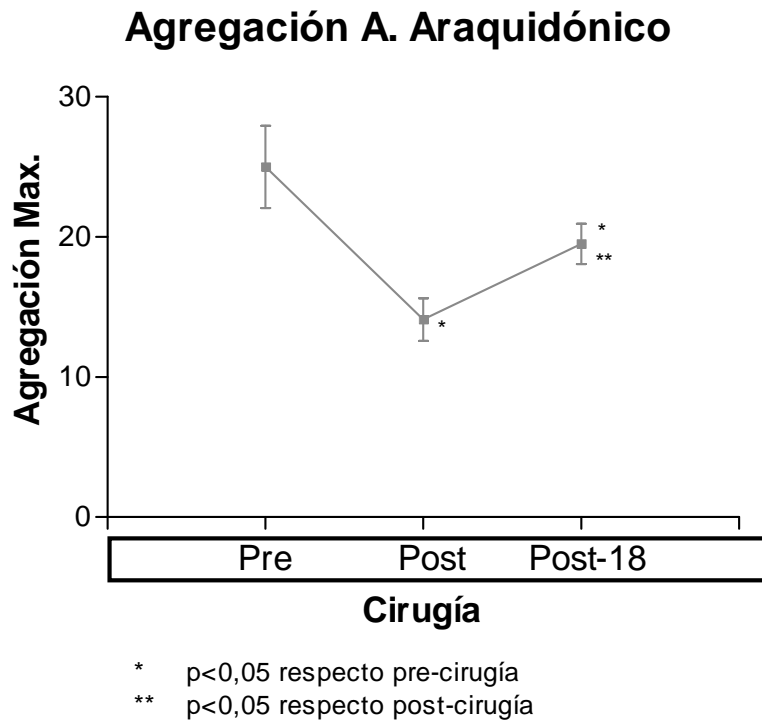
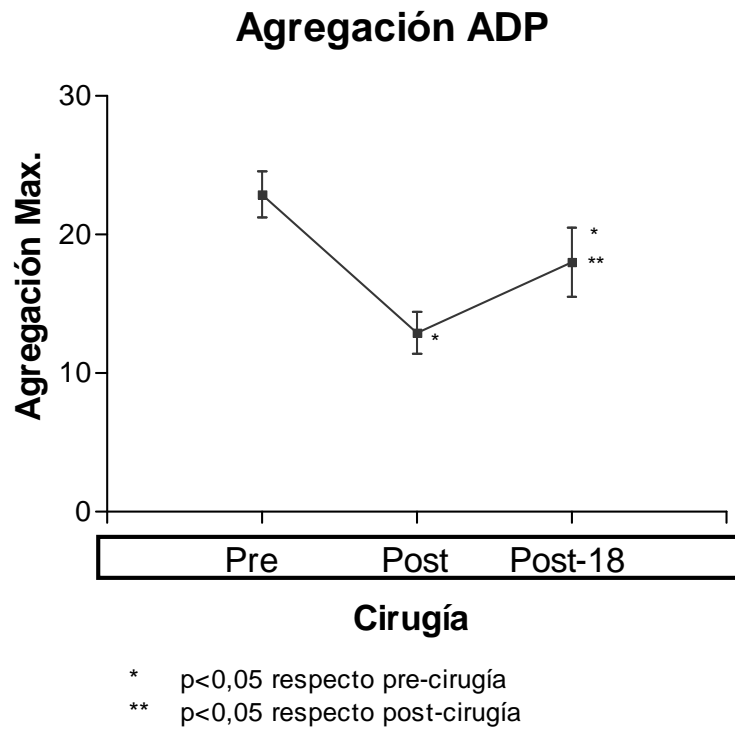


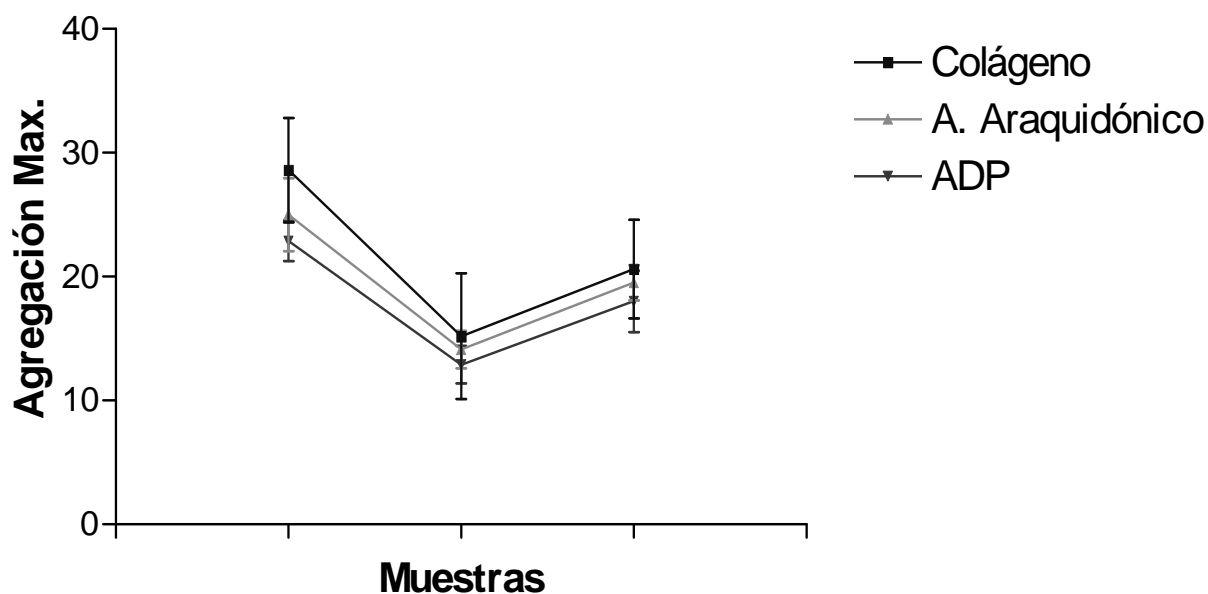
Figura 27. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por ADP



Para el ADP obtuvimos el mismo patrón de descenso de la agregación con una posterior recuperación que ya habíamos observado en los otros dos inductores (figura 27).

En la gráfica de resumen (figura 28), se puede apreciar de una forma más simple como con los 3 inductores existe una respuesta similar, obteniendo unos valores más altos en la muestra pre-quirúrgica, que descienden en las que se extraen justo después de la intervención (descenso más marcado para a agregación inducida por colágeno), observando un patrón de recuperación en el periodo de 18 horas inmediato a la intervención.

Figura 28. Evolución temporal de la agregación plaquetaria inducida por los diferentes estimulantes



Los valores indicativos de la agregación plaquetaria demuestran una caída en la resistencia en los tiempos postoperatorio 1 y 2, en las tres formas diferentes de medición como se puede ver plasmado en la tabla 5. En las tablas 5 y 6 se puede apreciar la significación estadística de este patrón, mediante la prueba no paramétrica de Friedman entre los valores de las tres formas de medición de la agregación plaquetaria (Col, AA, ADP) entre

los tres tiempos ($p < 0,001$ en los tres casos). Se efectúan comparaciones múltiples y se describe igualmente que los datos difieren significativamente ($p < 0,016$) entre sí en los tres momentos tras aplicar la prueba de Wilcoxon aplicando la corrección de Bonferroni para controlar la tasa de error (tabla 6).

Tabla 5. Tabla de valores de agregación plaquetaria (inducida por colágeno (Col), araquidónico (AA) y ADP, medidas en Ohmios).

	Col	AA	ADP
PRE	28,60 ± 4,22	25,00 ± 2,94	22,90 ± 1,66
PO1	15,20 ± 5,07	14,10 ± 1,52	12,90 ± 1,52
PO2	20,60 ± 3,98	19,50 ± 1,43	18,00 ± 2,49

Tabla 6. Análisis estadístico para valores de agregación plaquetaria (prueba de Friedman y de Wilcoxon). Las variables etiquetadas con 1 equivalen al tiempo preoperatorio, las etiquetadas con 2 al postoperatorio inmediato (PO1) y las 3 al postoperatorio tardío (PO2). Se expresan estadísticos descriptivos y de contraste.

	Media±DE	Percentiles		
		25	50 (Mediana)	75
Col1	28,60±4,22	26,00	29,00	31,50
Col2	15,20±5,07	11,00	13,50	20,25
Col3	20,60±3,98	17,75	19,50	24,25
AA1	25,00±2,94	23,25	25,00	28,00
AA2	14,10±1,52	13,00	14,00	15,25
AA3	19,50±1,43	18,00	19,00	21,00
ADP1	22,90±1,66	21,75	23,00	24,25
ADP2	12,90±1,52	11,75	13,00	14,00
ADP3	18,00±2,49	16,00	17,50	20,25

Prueba de Friedman: $p < 0,001^*$

Comparaciones	p	Prueba de Wilcoxon
Col1 – Col2	0,005*	
Col2 - Col3	0,005*	
Col1 - Col3	0,005*	
AA1 – AA2	0,005*	p<0,016
AA2 - AA3	0,005*	
AA1 - AA3	0,008*	
ADP1 – ADP2	0,005*	
ADP2 – ADP3	0,005*	
ADP1 - ADP3	0,005*	

Esto es indicativo de que la agregación plaquetaria está principalmente alterada en el postoperatorio inmediato, con recuperación en las primeras 24 horas pero sin llegar aún al nivel preoperatorio. En las tres formas de estimulación de la agregación se puede apreciar la misma pauta, siendo ligeramente más cuantiosa la diferencia cuando se emplea el colágeno como proagregante.

5. SANGRADO POSTOPERATORIO

La mediana del ritmo de sangrado de las primeras 8 horas postquirúrgicas es de 1,00 (IQ: 0,37; 1,74) mL/kg/h frente a 0,61 (IQ: 0,18; 0,95) ml/kg/h de las siguientes 10 horas, con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) y con correlación estadísticamente significativa (rho de Spearman 0,66; $p < 0,0001$) entre ellos.

Todos los pacientes recibieron transfusión de plaquetas en quirófano, en cantidades similares que no demuestran diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo

analizando exclusivamente las transfusiones de hemoderivados recibidas tras su llegada a la Unidad de Cuidados Intensivos, 9/30 pacientes recibieron transfusión de hematíes, pero sólo 2/30 de plaquetas y 6/30 de plasma fresco congelado.

La media de drenaje en ambos períodos es mayor en los que necesitaron transfusión de al menos un componente sanguíneo ($1,56 \pm 0,96$ mL/kg/h en las primeras 8 horas; $0,85 \pm 0,54$ mL/kg/h en las siguientes 10 horas) que en los que no la necesitaron ($0,79 \pm 0,58$ mL/kg/h en las primeras 8 horas; $0,43 \pm 0,36$ mL/kg/h en las siguientes 10 horas), con diferencias que resultan estadísticamente significativas.

6. ESTRÉS OXIDATIVO Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

La producción de MDA está significativamente aumentada y los diferentes glutatones significativamente disminuidos (tabla 7), cuando se compara el momento basal y ambos tiempos postoperatorios (PO1 y PO2), con diferencias estadísticamente significativas, sin embargo sin poderse apreciar correlación que resulte estadísticamente significativa con respecto al tiempo de CEC ni el de clampaje aórtico.

Tabla 7. Tabla de valores de parámetros de EO: glutatión total (GST), glutatión oxidado (GSSG) y glutatión reducido (GSH) medidos en nmol/mg proteína; y de peroxidación lipídica: malondialdehído (MDA) en nmol/mg proteína.

	GST	GSSG	GSH	MDA
PRE	3,56±0,77	0,33±0,30	3,23±0,78	0,15±0,04
PO1	2,56±0,71	0,23±0,19	2,32±0,69	0,21±0,09
PO2	3,25±0,66	0,27±0,18	2,99±0,71	0,18±0,06

Comparando si los valores analíticos correspondientes a los sistemas antioxidante (glutación total, oxidado y reducido) y de peroxidación lipídica (MDA), tomados en el paciente en tres momentos temporales (PRE, PO1 y PO2), mediante la prueba no paramétrica de Friedman, obtenemos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre los valores de MDA entre los tres tiempos. Se efectúan comparaciones múltiples y se describe que las cifras de MDA difieren significativamente ($p < 0,016$) entre sí en los tres momentos tras aplicar la prueba de Wilcoxon, aplicando la corrección de Bonferroni para controlar la tasa de error.

Tabla 8. Análisis estadístico para valores de MDA (prueba de Friedman y de Wilcoxon) y los diferentes glutaciones. Las variables etiquetadas como “1” corresponden al tiempo basal, las “2” al postoperatorio inmediato y las “3” al postoperatorio tardío.

	Media±DE	Percentiles		
		25	50 (Mediana)	75
MDA1	0,1504±0,0474	0,1255	0,1462	0,1628
MDA2	0,2163±0,0912	0,1530	0,1820	0,2587
MDA3	0,1895±0,0693	0,1450	0,1729	0,1950
GST1	3,56±0,78	3,07	3,43	4,25
GST2	2,57±0,71	2,01	2,55	3,09
GST3	3,26±0,67	2,75	3,25	3,66
GSSG1	0,33±0,30	0,10	0,29	0,49
GSSG2	0,24±0,19	0,07	0,22	0,34
GSSG3	0,27±0,19	0,14	0,26	0,43
GSH1	3,23±0,78	2,71	3,16	3,80
GSH2	2,33±0,69	1,81	2,27	2,94
GSH3	2,98±0,71	2,59	3,00	3,34

Prueba de Friedman: $p < 0,001$

Comparaciones	p	Prueba de Wilcoxon
MDA1-MDA2	0,0001	p<0,016
MDA2-MDA3	0,002	p<0,016
MDA1-MDA3	0,002	p<0,016
GST1-GST2	0,0001	p<0,016
GST2-GST3	0,0001	p<0,016
GST1-GST3	0,005	p<0,016
GSSG1-GSSG2	0,020	p<0,016
GSSG2-GSSG3	0,153	ns
GSSG1-GSSG3	0,688	ns
GSH1-GSH2	0,0001	p<0,016
GSH2-GSH3	0,0001	p<0,016
GSH1-GSH3	0,05	p<0,016

7. RESULTADOS DE PARÁMETROS DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA

De entre todas las interleuquinas determinadas, medidas por metodología de ELISA, se ha decidido reflejar sólo las más representativas de las antiinflamatorias (IL10) y de las proinflamatorias (IL1, IL6 y TNF α), medidas en pg/ml. Esto queda reflejado en la tabla 9.

Tabla 9. Tablas de valores de analitos de respuesta inflamatoria sistémica (interleuquinas) y comparaciones en los tres momentos de estudio.

	IL1	IL6	TNF α	IL10
PRE	2,08 \pm 1,03	4,4 \pm 0,24	34,9 \pm 2,27	16,8 \pm 37,5
PO1	1,90 \pm 0,02*	7,1 \pm 4,01*	35,1 \pm 1,95	312,7 \pm 219,7*
PO2	1,91 \pm 0,01* ¥	5,32 \pm 0,92* ¥	34,7 \pm 1,9	16,8 \pm 22,7 ¥

* p <0,05 comparando con variable en PO1
 ¥ p <0,05 comparando con variable en PO 2
 prueba de Friedman (p <0,001) y de Wilcoxon (p < 0,016)

La proteína C reactiva (PCR) se representa en la tabla 3 en mg/l y la procalcitonina (PCT) viene expresada en ng/ml.

Se comparan los valores analíticos correspondientes a PCR, PCT, láctico, creatinina, e interleuquinas (IL1b, IL6, IL10, TNF α), tomados en los pacientes en los tres momentos temporales (PRE, PO1 y PO2), mediante la prueba no paramétrica de Friedman, y en aquellas en las que se obtiene significación estadística se efectúan comparaciones múltiples y se estudia si las cifras de la variable difieren significativamente (p <0,016) entre sí en los tres momentos tras aplicar la prueba de Wilcoxon empleando la corrección de Bonferroni para controlar la tasa de error.

Con todo ello, obtenemos los siguientes resultados, algunos de los cuales se pueden ver expresados en la tabla 10:

- Diferencias estadísticamente significativas (p <0,001) entre los valores de PCR del postoperatorio inmediato (PO1) y la medición preoperatoria (PRE) y tras 24h de la intervención (PO2).
- Diferencias estadísticamente significativas (p = 0,024) entre los valores de PCT preoperatoria y la medición tras 24h (PO2).

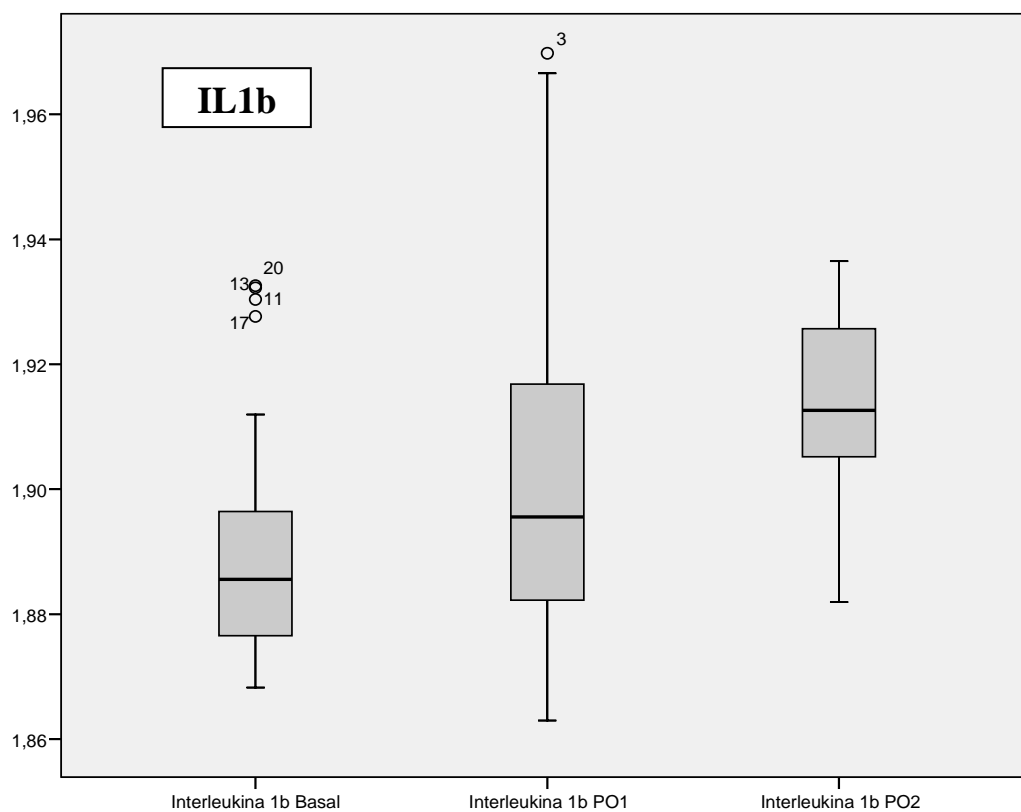
- Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre los valores de creatinina post con la medición pre y tras 24h.
- No diferencias significativas entre los lácticos en los tres tiempos.
- Diferencias estadísticamente significativas en IL1b entre preoperatorio y PO2.
- Diferencias estadísticamente significativas entre valores de IL6 en todos los tiempos.
- Diferencias estadísticamente significativas entre valores de IL10 entre los tiempos postoperatorio inmediato (PO1) con preoperatorio y postoperatorio tardío (PO2).
- No diferencias estadísticamente significativas en los valores de TNFalfa entre los tres tiempos de muestreo.

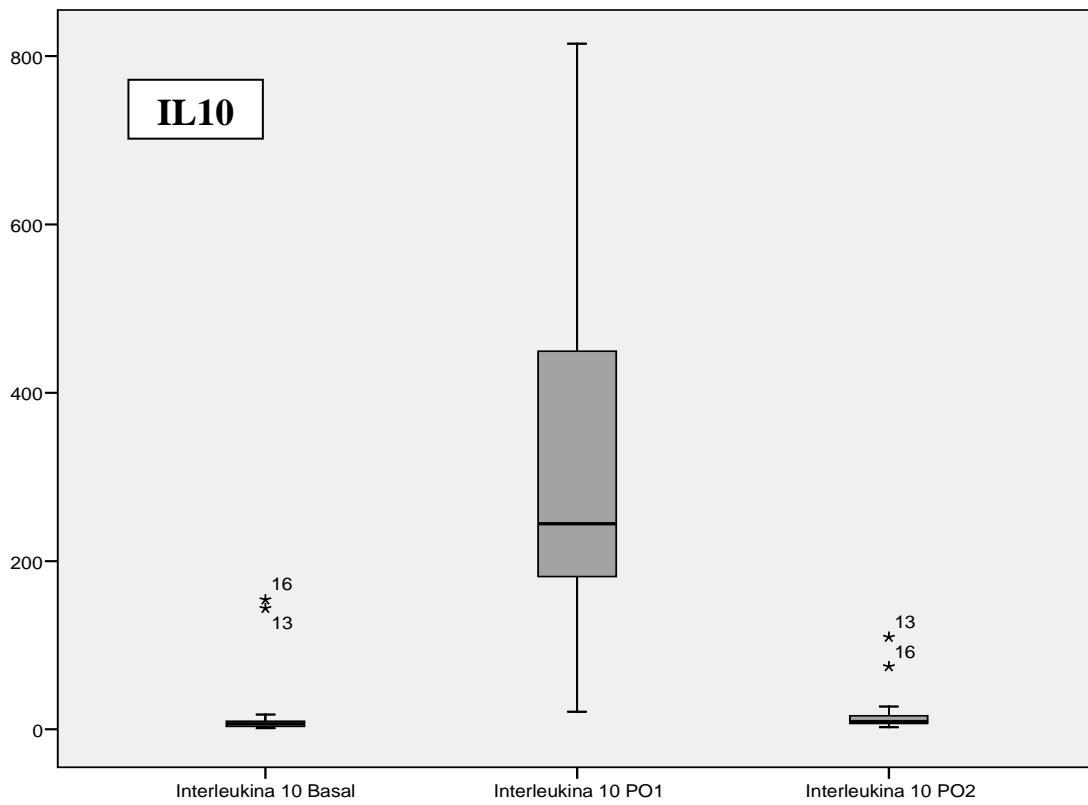
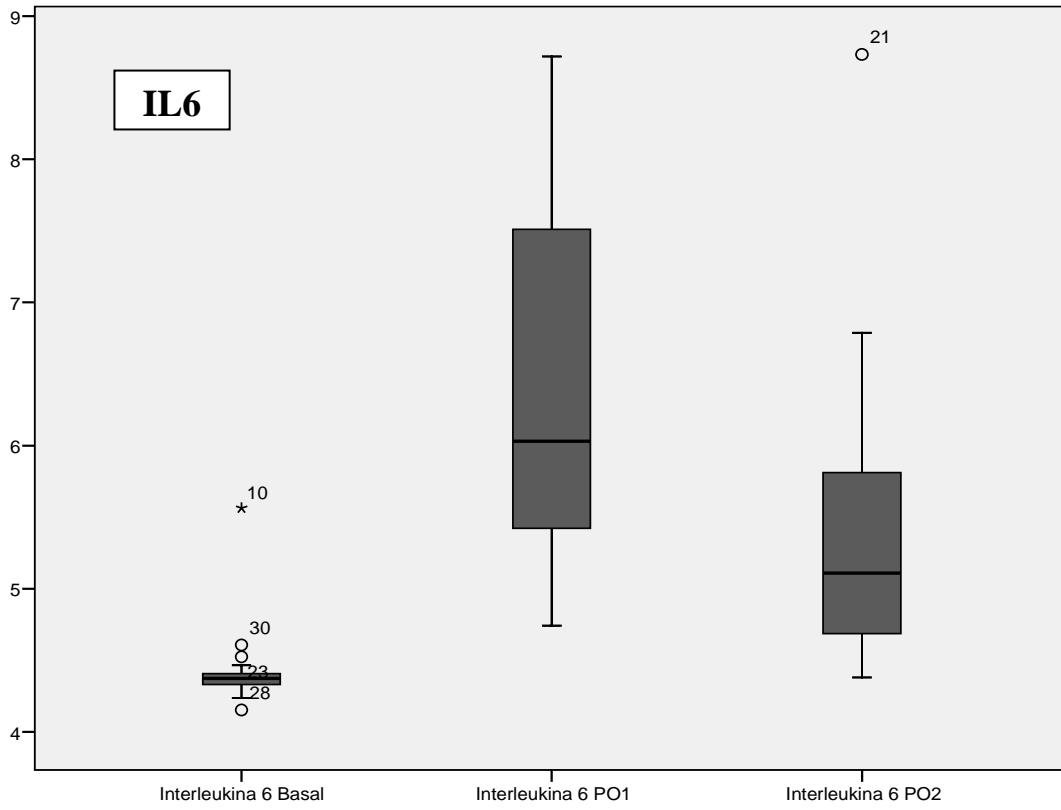
Tabla 10. Análisis estadístico para valores de interleuquinas estudiadas (pruebas de Friedman y de Wilcoxon) en pg/ml. Las variables etiquetadas con 1 equivalen a las del tiempo preoperatorio, las etiquetadas con 2 al momento PO1 y las 3 al tiempo PO2.

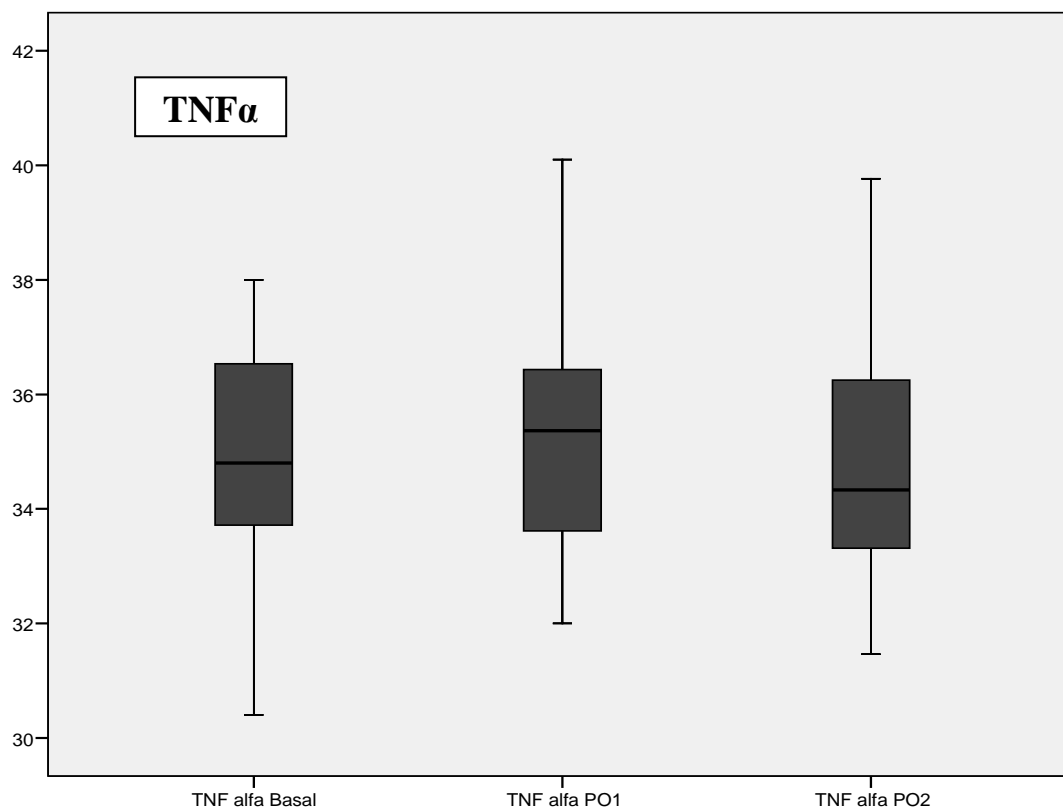
	Media±DE	Percentiles			Prueba Friedman (p)
		25	50 (Mediana)	75	
IL1B.1	2,08±1,039	1,876	1,886	1,897	} p < 0,001
IL1B.2	1,90±0,027	1,882	1,896	1,918	
IL1B.3	1,91±0,016	1,905	1,913	1,927	
IL6.1	4,41±,242	4,321	4,373	4,410	
IL6.2	7,18±4,010	5,406	6,031	7,537	
IL6.3	5,32±0,923	4,684	5,109	5,832	
IL10.1	16,87±37,58	3,16	6,64	10,18	
IL10.2	312,79±219,79	176,44	244,46	453,87	
IL10.3	16,82±22,71	6,73	9,36	16,24	
TNFa.1	34,92±2,27	33,66	34,80	36,80	} p = 0,69
TNFa.2	35,19±1,95	33,41	35,37	36,43	
TNFa.3	34,75±1,98	33,31	34,33	36,38	

Comparaciones	p	Prueba de Wilcoxon
IL1B.1 - IL1B.2	0,039	p<0,016
IL1B.2 - IL1B.3	0,035	p<0,016
IL1B.1 - IL1B.3	<0,0001	p<0,016
IL6.1 - IL6.2	<0,0001	p<0,016
IL6.2 - IL6B.3	<0,0001	p<0,016
IL6.1 - IL6B.3	<0,0001	p<0,016
IL10.1 - IL10.2	<0,0001	p<0,016
IL10.2 - IL10.3	<0,0001	p<0,016
IL10.1 - IL10.3	0,062	ns

Figura 29. Cinética de valores de principales interleucinas estudiadas (pg/ml)







En lo referente a las correlaciones entre las citoquinas medidas y el resto de variables bioquímicas analizadas (tabla 11), mediante test estadístico de Pearson, se puede apreciar que en el momento postoperatorio inmediato, se encuentra algunas correlaciones directas estadísticamente significativas, sobre todo relacionadas con las IL6 e IL10:

1. IL-6 en el postoperatorio inmediato con:
 - a. variables de PO1: PCT, láctico, CPKmb, troponina, GOT e IL10.
 - b. variables del tiempo postoperatorio tardío/PO2: troponina, PCT y GOT.
2. IL10 en el postoperatorio inmediato con:
 - a. variables de ese mismo tiempo PO1: CPKmb, troponina, GOT y láctico.
 - b. variables del tiempo postoperatorio tardío/PO2: PCT, CPKmb, troponina.

Igualmente se aprecia las siguientes correlaciones directas estadísticamente significativas entre variables del momento postoperatorio tardío (PO2):

1. IL-6 con láctico.
2. IL-1 con PCT.
3. IL-10 con troponina.

Tabla 11. Tabla de correlaciones de citoquinas en cada uno de los tiempos postoperatorios con las demás variables bioquímicas en esos tiempos.

PO1		PO1					PO2			
		CPKmb	Troponina	Láctico	PCR	PCT	GOT	Troponina	GOT	CPKmb
IL-6	r	0,81(**)	0,70(**)	0,81(**)	-0,07	0,82(**)	0,82(**)	0,89	0,96	0,28
	p	0,001	0,002	0,001	ns	0,001	<0,0001	0,0004	0,0001	ns
IL-1	r	0,13	0,43	-0,01	0,30	-0,22	0,16	0,41	0,22	0,48
	p	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
IL-10	r	0,59(*)	0,53(*)	0,57(**)	-0,13	0,455	0,61(**)	0,71	0,54	-0,07
	p	0,01	0,03	0,002	ns	ns	0,004	0,02	ns	ns
TNFα	r	0,17	-0,22	-0,16	0,29	-0,04	0,25	-0,04	-0,03	0,73
	p	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,01

* La correlación es significativa al nivel 0,05

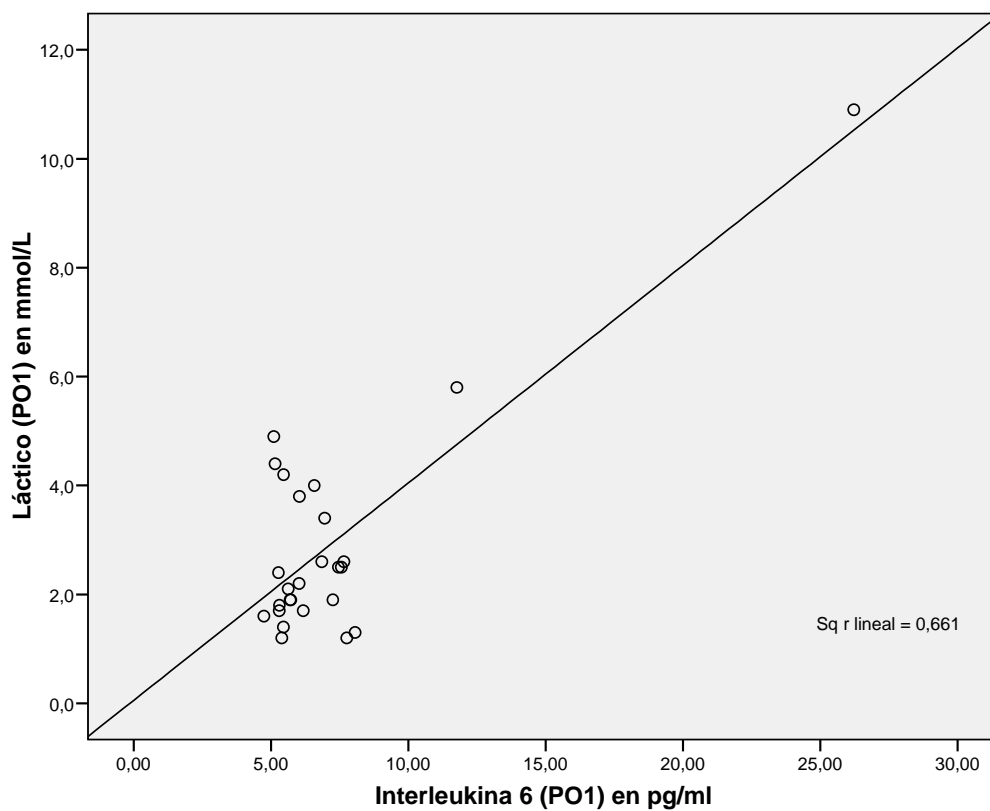
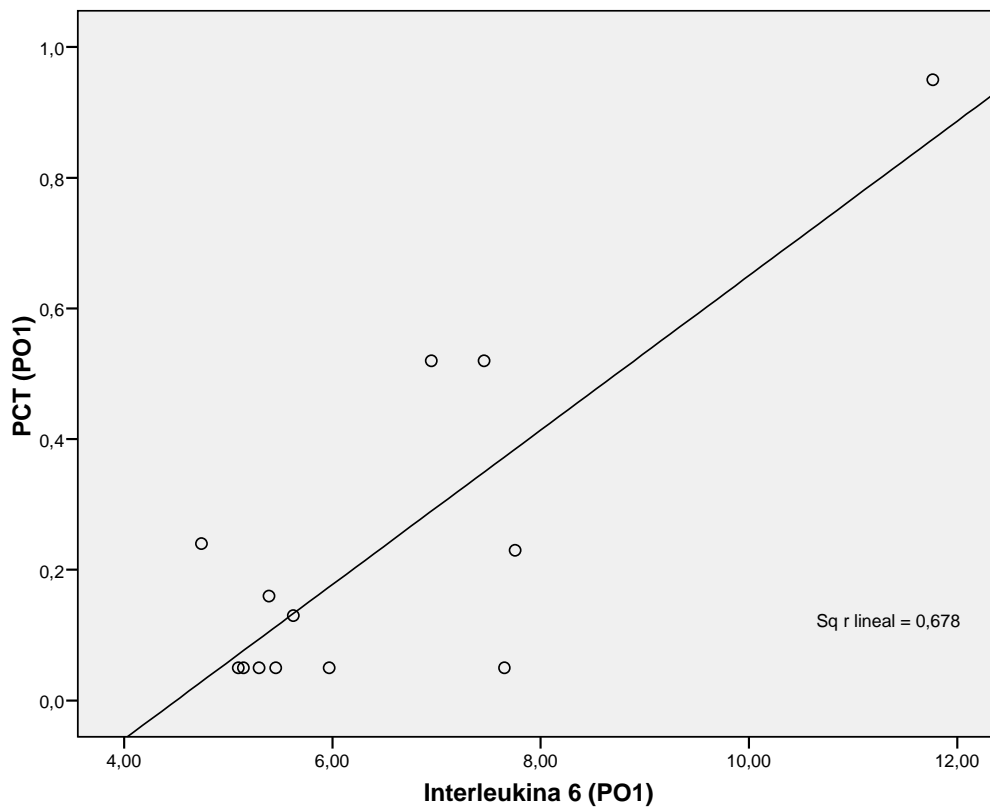
** La correlación es significativa al nivel 0,01

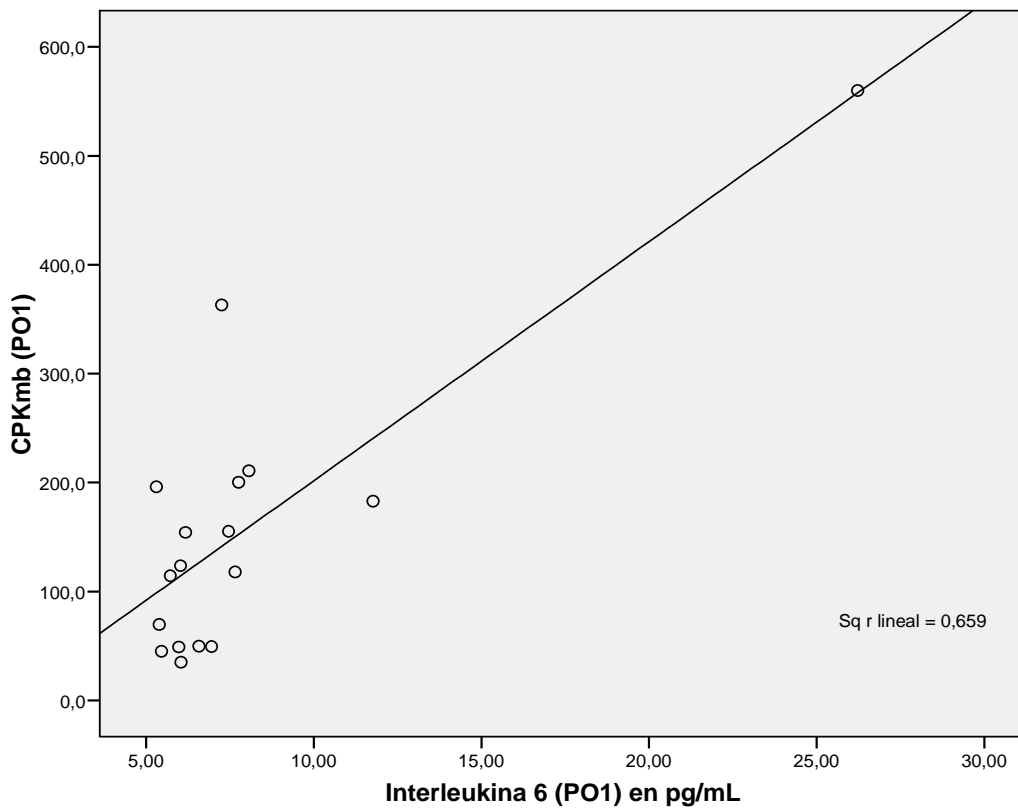
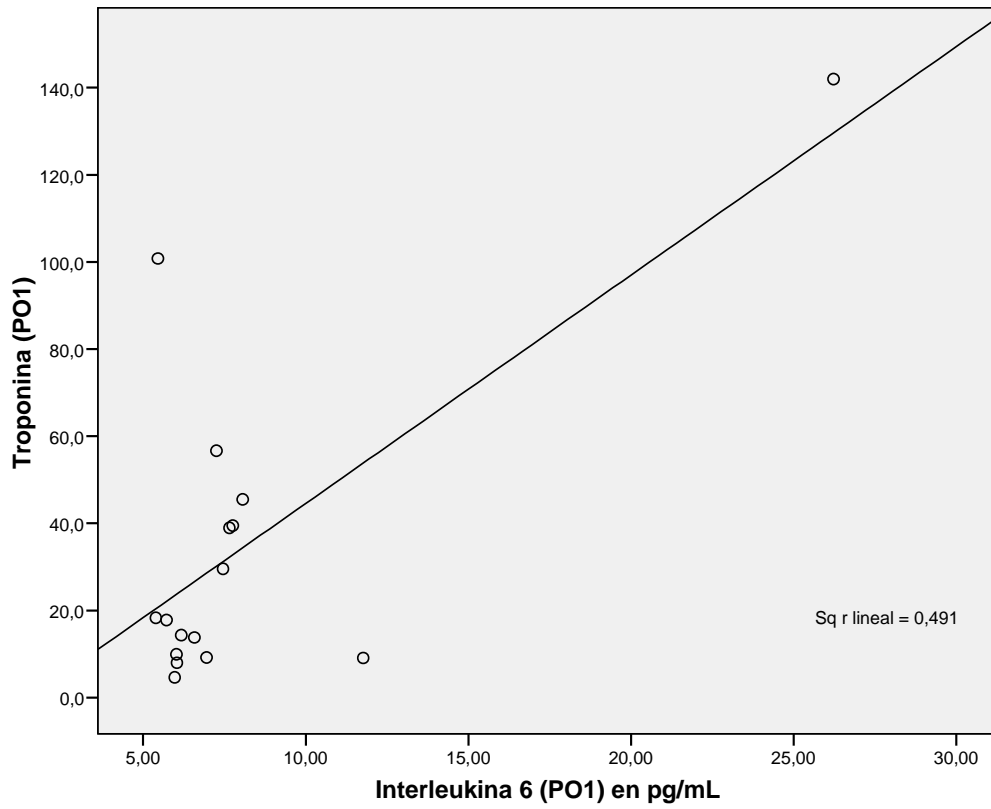
PO2		PO2				
		CPKmb	Troponina	Láctico	PCR	PCT
IL-6	r	-0,12	0,14	0,41(*)	0,25	0,11
	p	ns	ns	0,035	ns	ns
IL-1	r	-0,23	0,478	-0,24	-0,04	0,71(**)
	p	ns	ns	ns	ns	0,004
IL-10	r	0,24	0,82(**)	0,04	-0,03	-0,15
	p	ns	0,003	ns	ns	ns
TNFα	r	-0,32	-0,33	0,01	-0,03	0,18
	p	ns	ns	ns	ns	ns

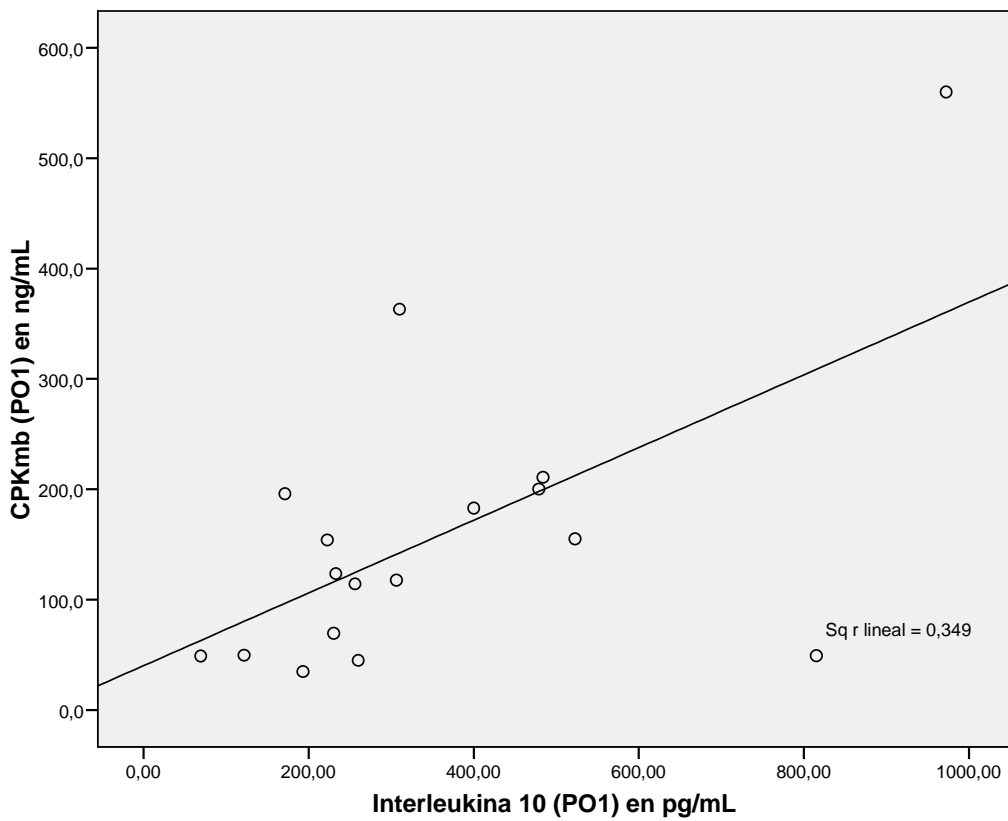
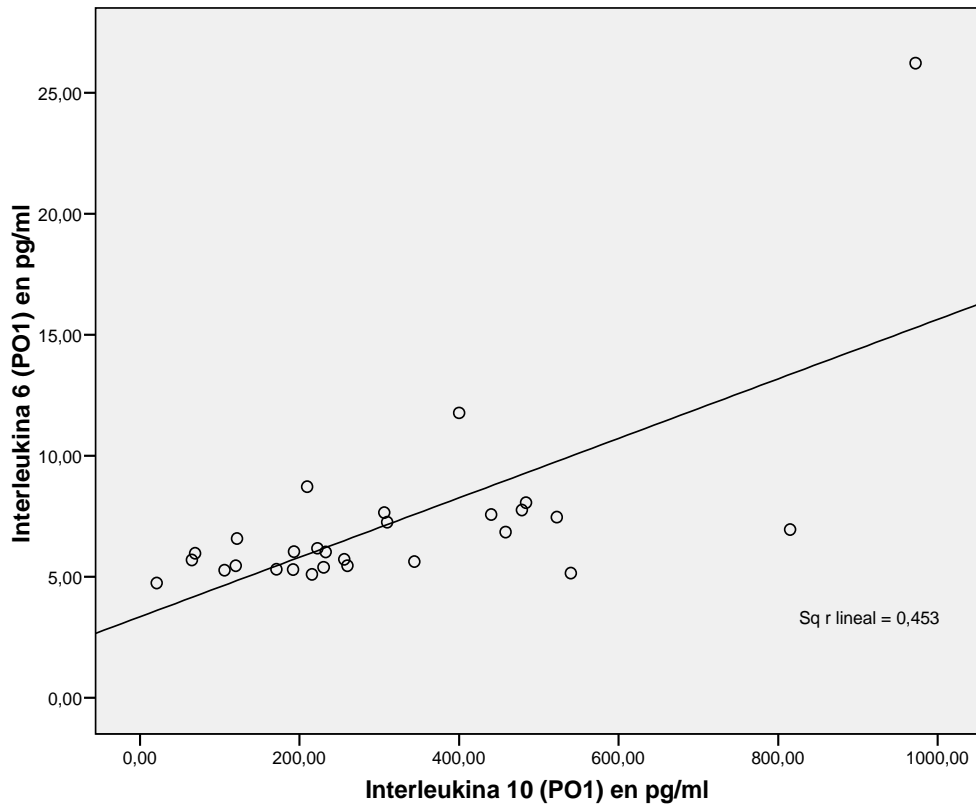
* La correlación es significativa al nivel 0,05

** La correlación es significativa al nivel 0,01

Figura 30. Gráficas de correlaciones estadísticamente significativas entre interleukinas y diversas variables en el postoperatorio inmediato (PO1)







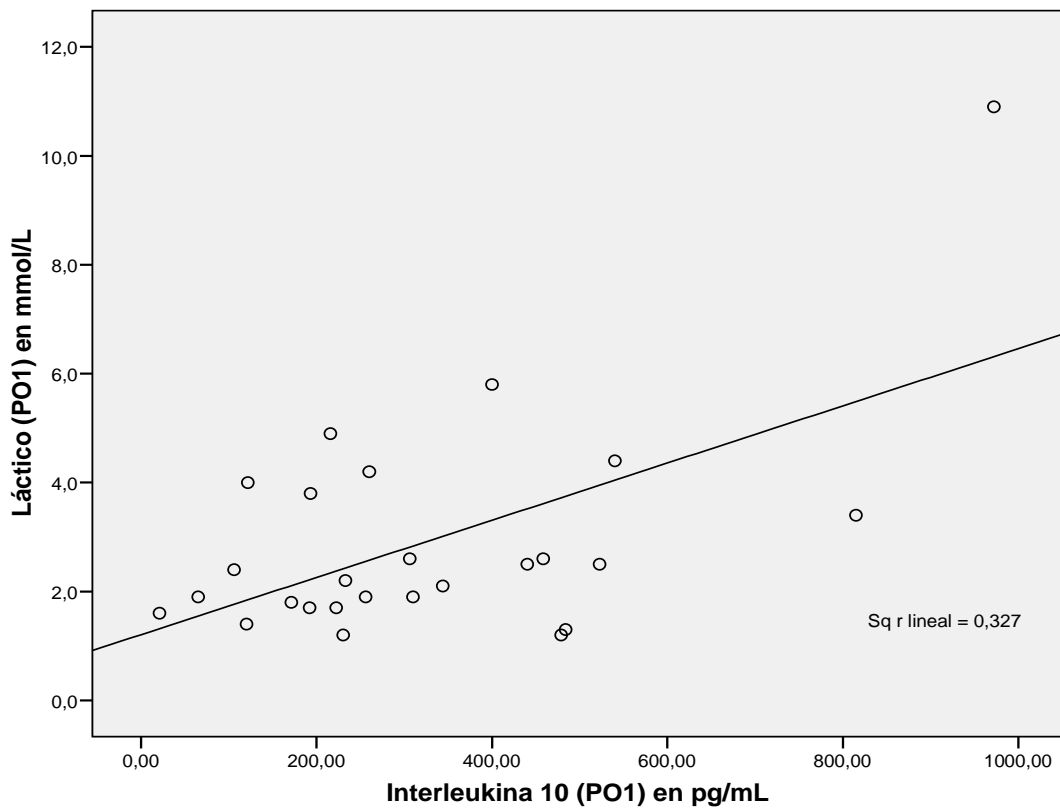
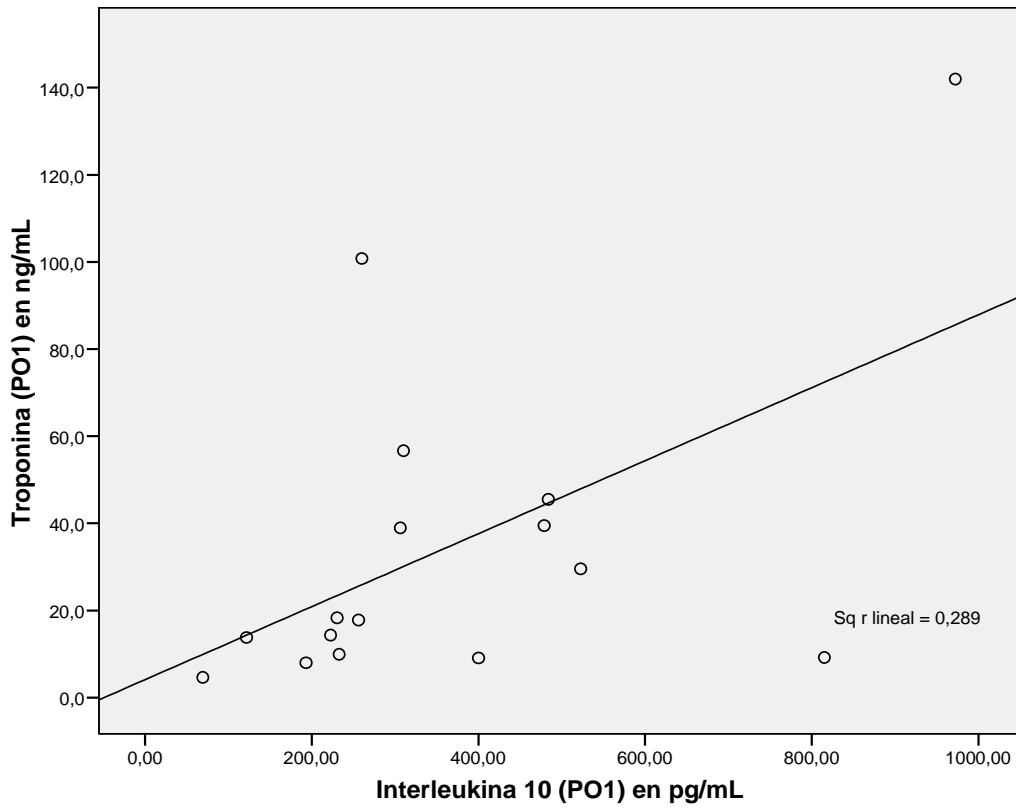
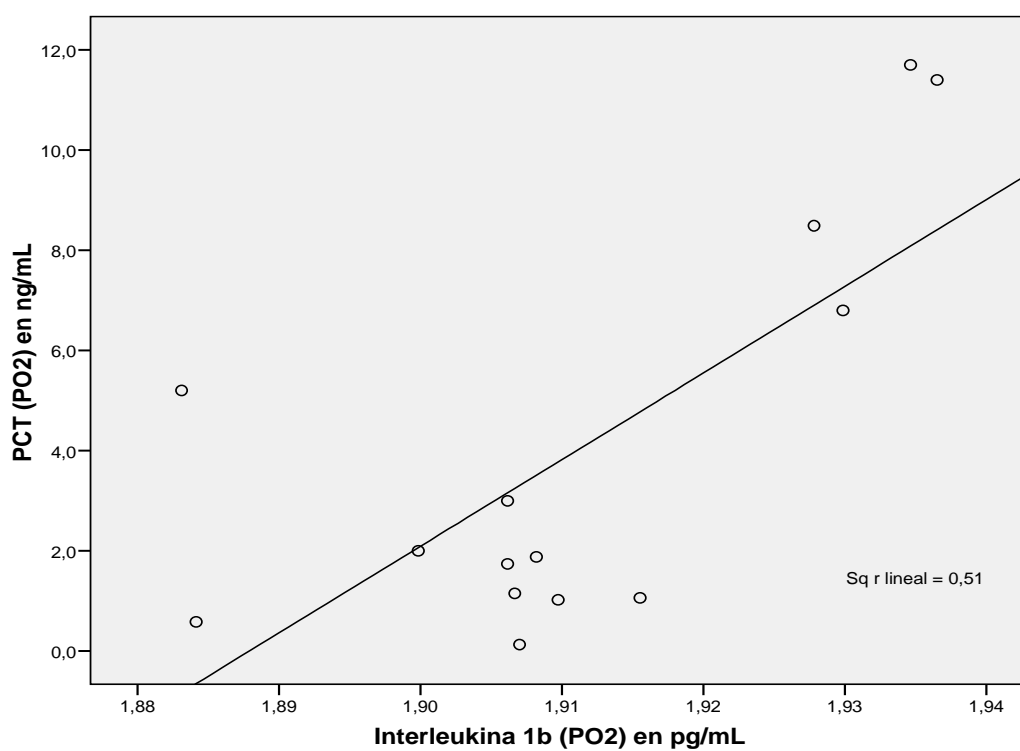
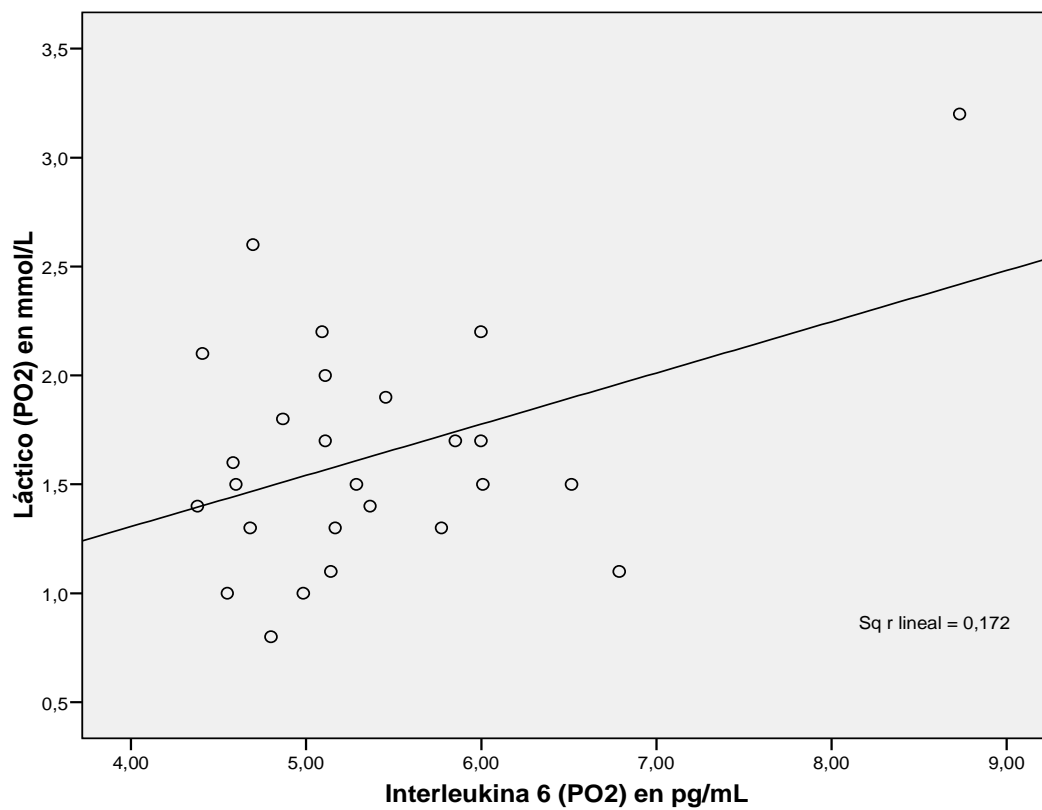
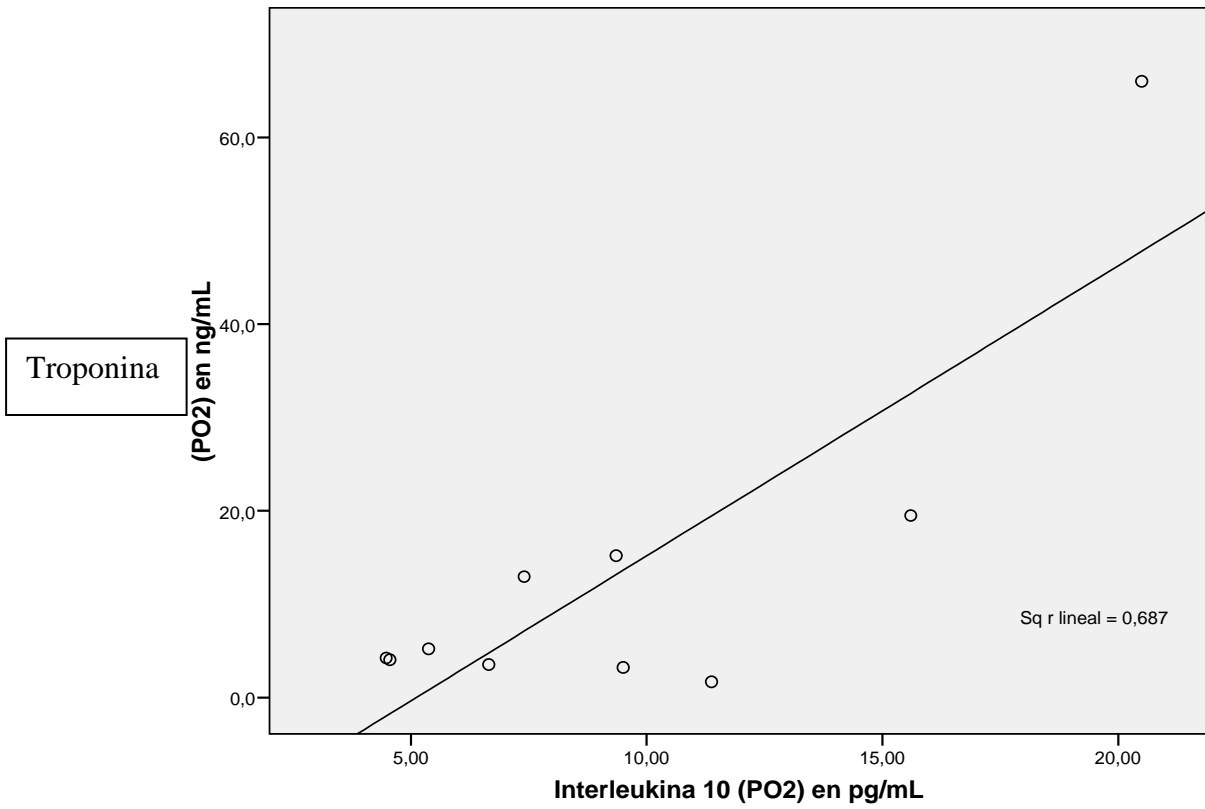


Figura 31. Gráficas de correlaciones estadísticamente significativas entre interleukinas y diversas variables en el postoperatorio tardío (PO2)

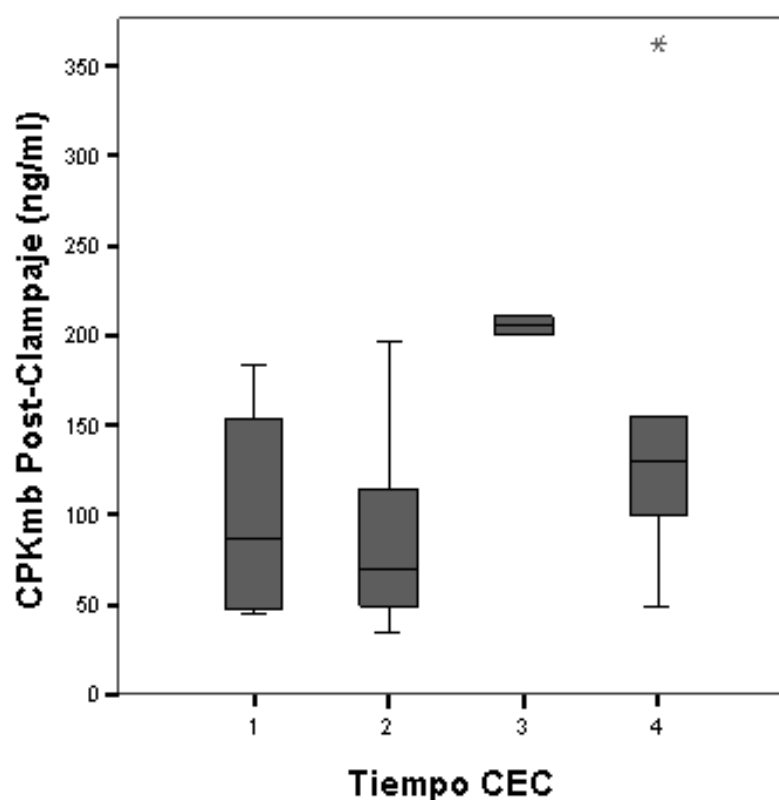


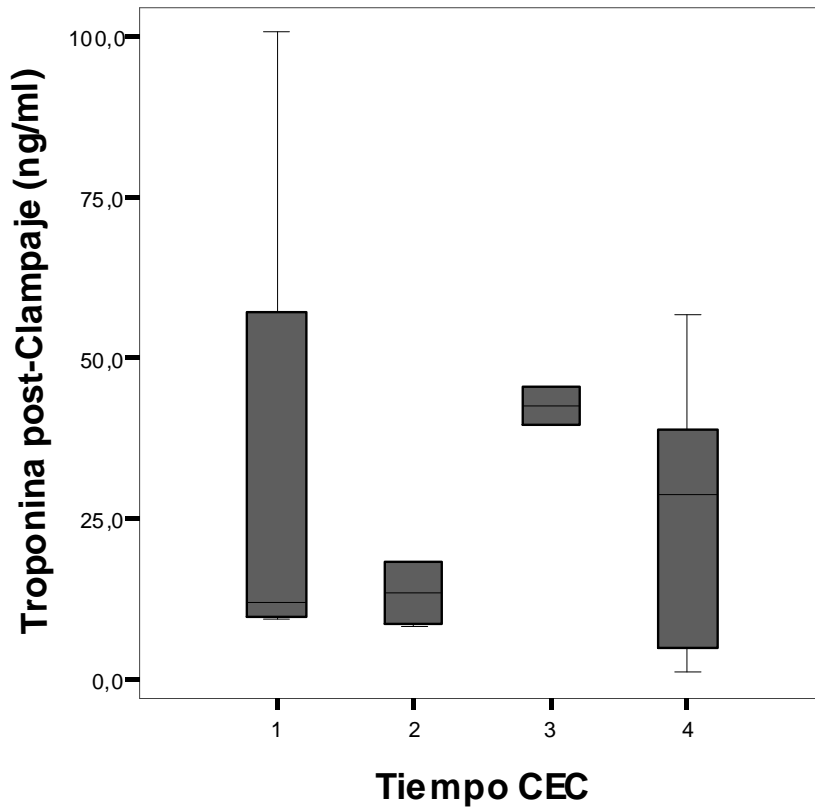
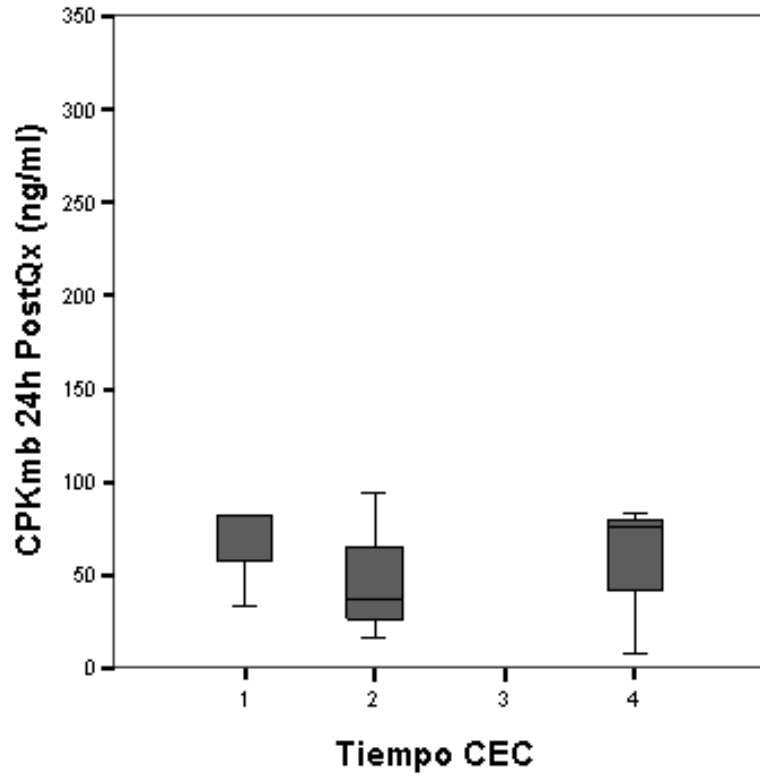


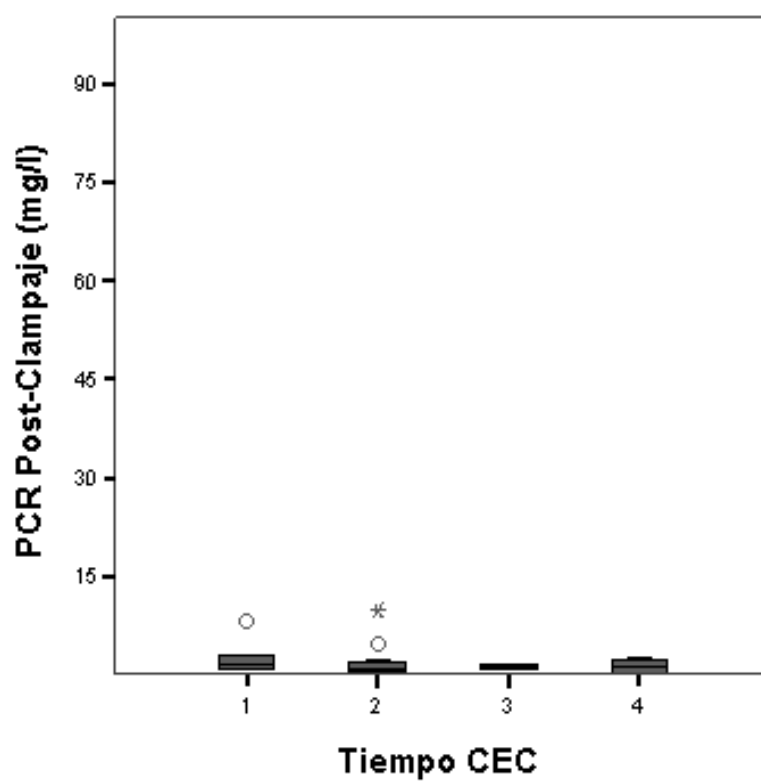
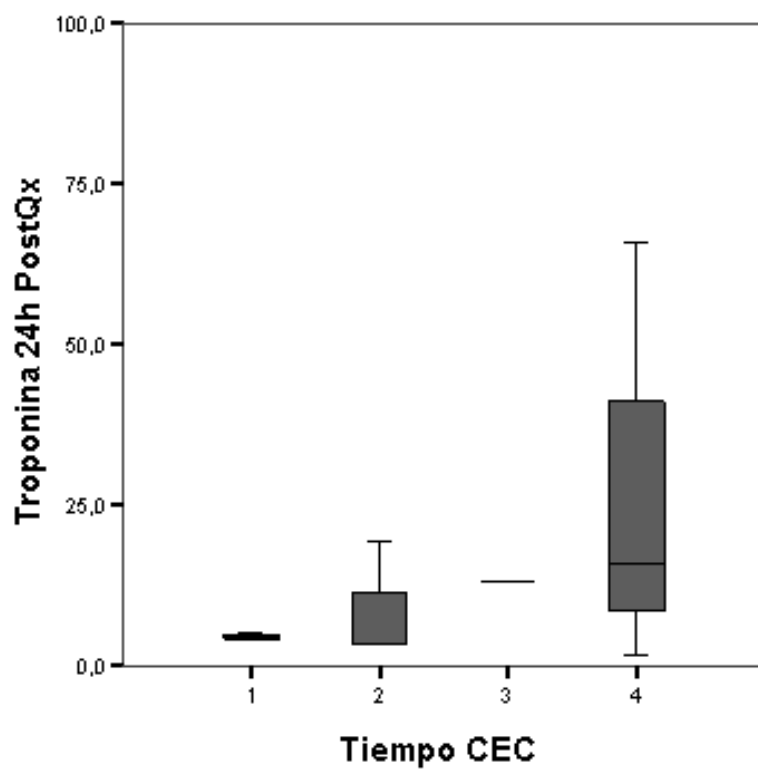
8. RESULTADOS DE CORRELACIONES ENTRE ANALITOS SEGÚN TIEMPOS DE CLAMPAJE Y CEC

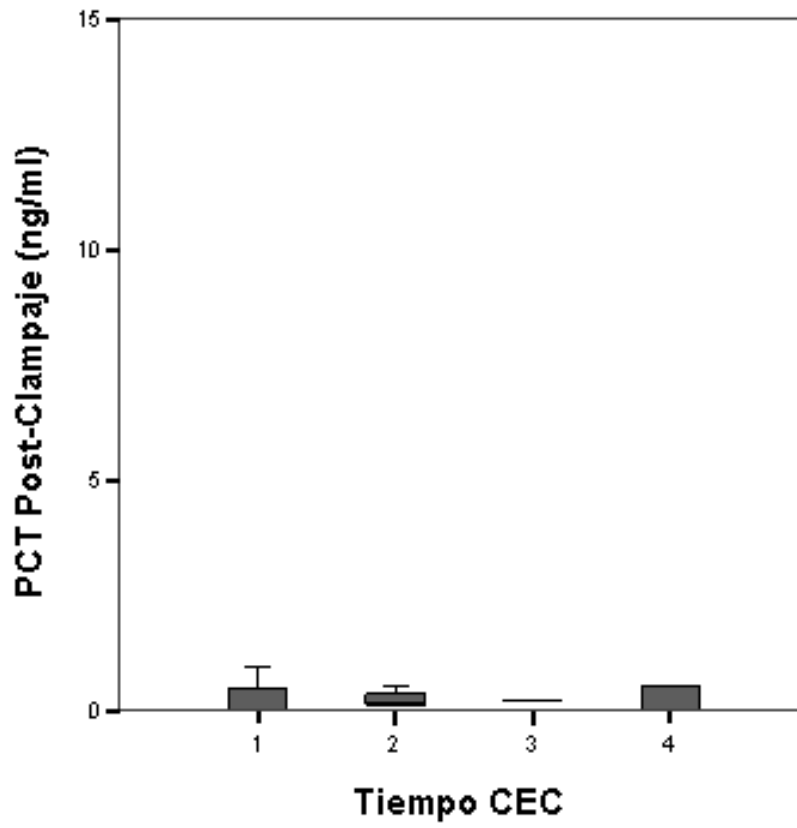
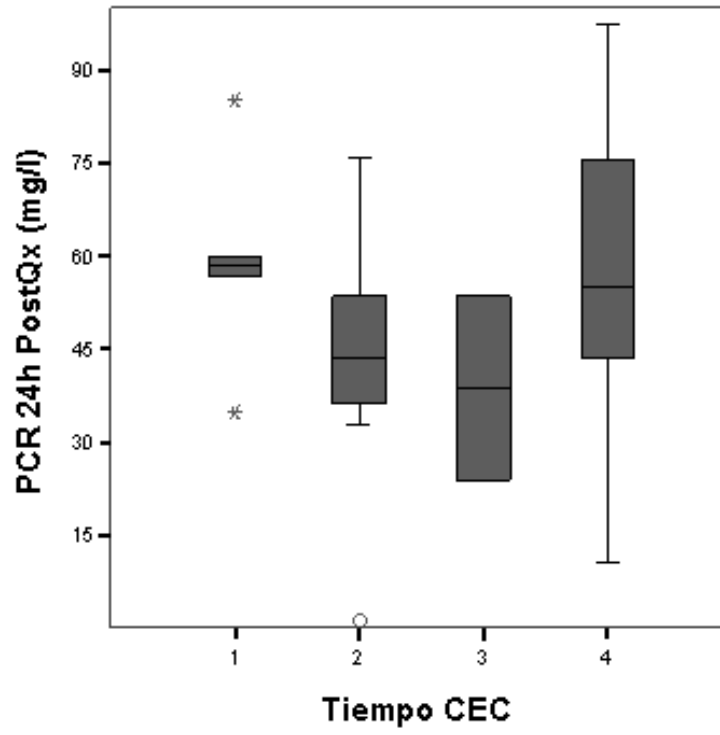
En la figura 32 se representan los diversos analitos según el tiempo de CEC, expresado de forma agrupada, para valorar visualmente el ascenso o descenso de los mismos. El grupo 1 es el de aquellos pacientes que tienen tiempo de CEC entre 30 y 60 minutos, el grupo 2 es el de 60 a 90 minutos, el grupo 3 es el de 90 a 120 minutos y el grupo 4 corresponde a aquellos con tiempos más largos de 120 minutos.

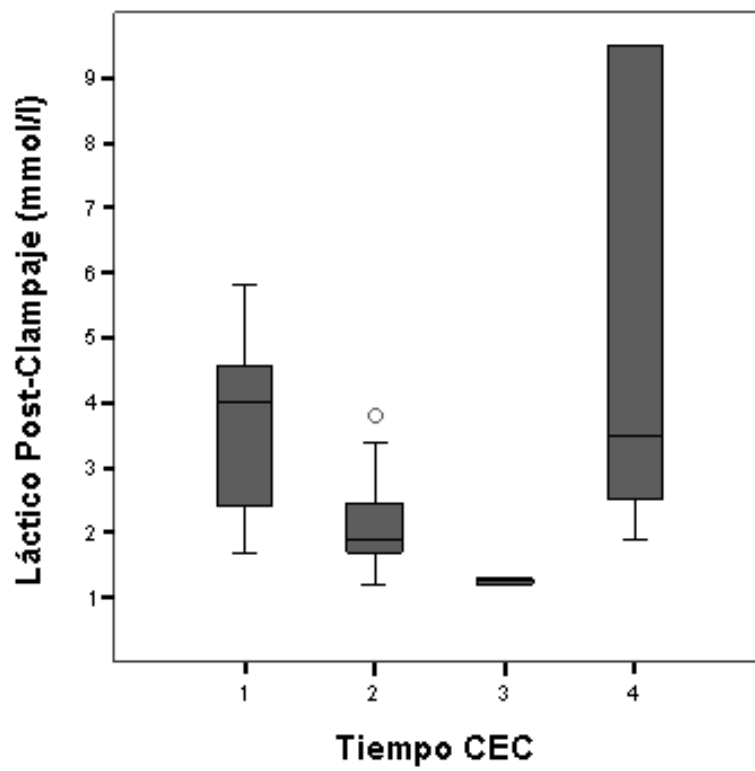
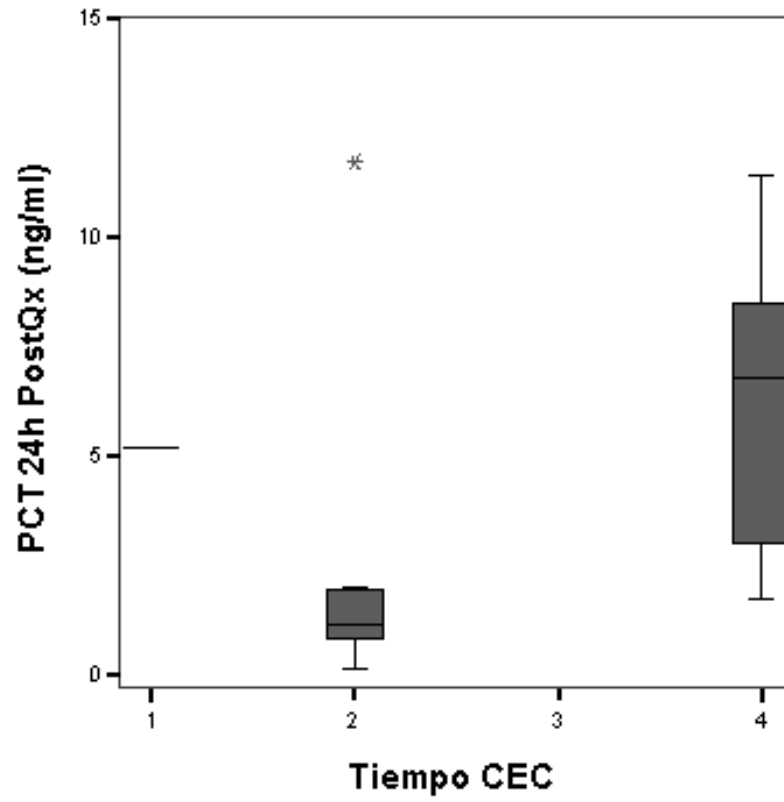
Figura 32. Resultados de diversos analitos según el tiempo de CEC (1: 30-60 min; 2: 60-90 min, 3: 90-120 min; 4: > 120 min) en cada uno de los dos momentos postoperatorios.

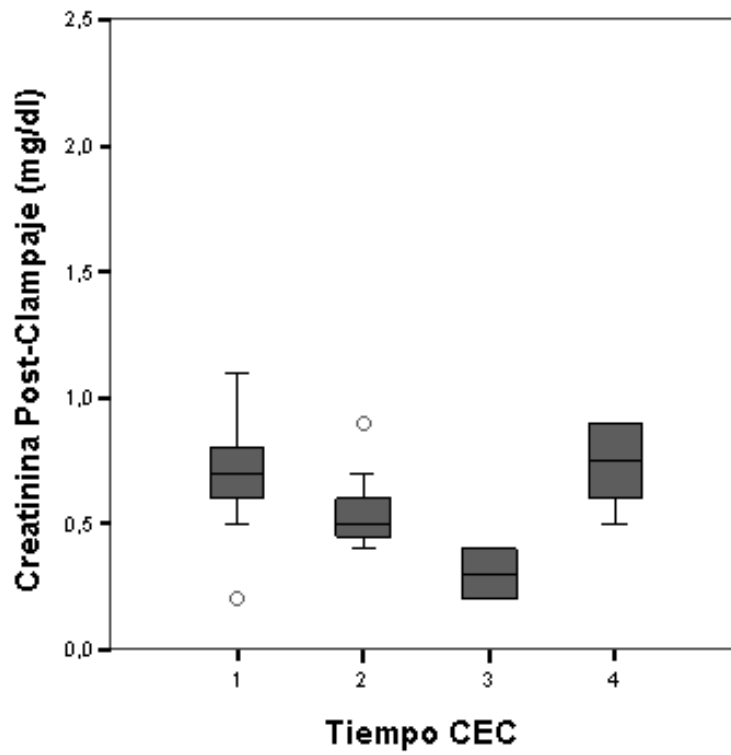
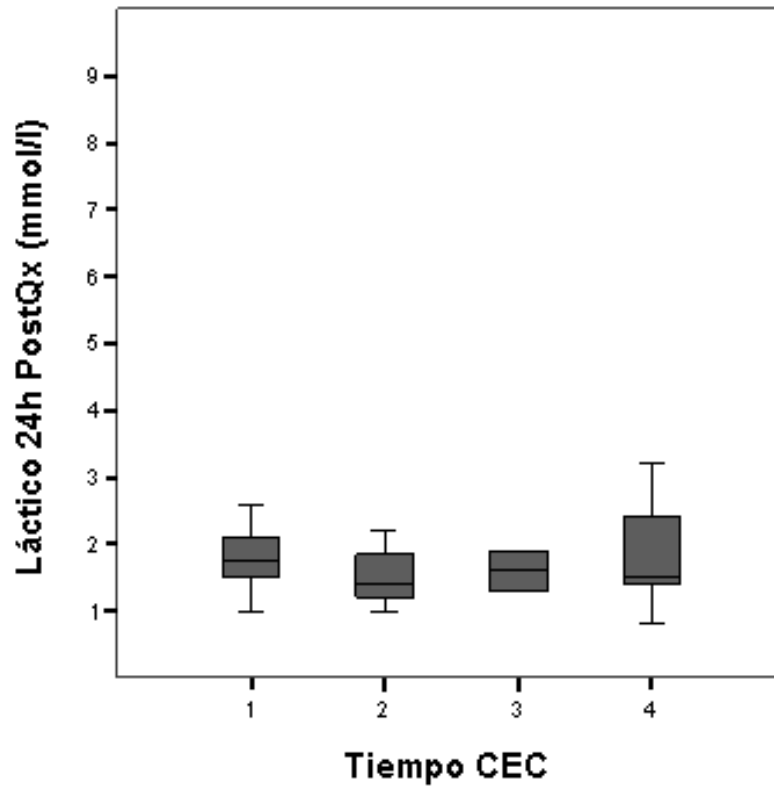


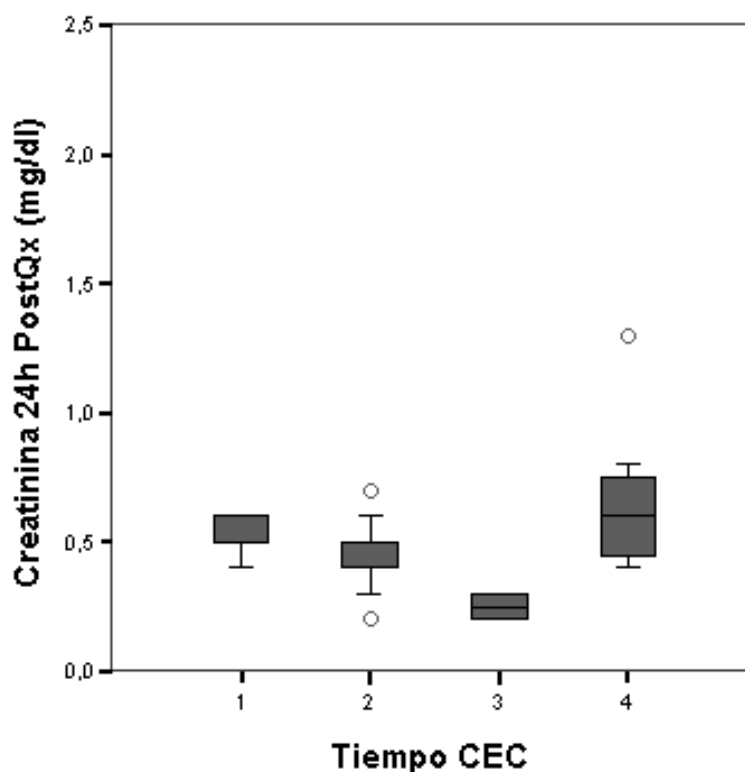












Existe una correlación directa y estadísticamente significativa entre el tiempo de CEC y el aumento en el postoperatorio inmediato (PO1) de CPKmb (r Pearson 0,702; p 0,002), troponina (r Pearson 0,590; p 0,016), lactato (r Pearson 0,580; p 0,002), GOT (r Pearson 0,829; p <0,0001), IL-6 (r Pearson 0,706; p 0,0001), IL-10 (r Pearson 0,433; p 0,024), así como a las 24 horas (PO2) con troponina (r Pearson 0,923; p <0,0001), GOT (r Pearson 0,967; p <0,0001), PCT (r Pearson 0,537; p 0,048), agregación inducida por colágeno (coeficiente gamma -0,48; p 0,034), IL1b (coeficiente gamma 0,285; p 0,034), IL-6 (r Pearson 0,422; p 0,028) e IL-10 (coeficiente gamma 0,293; p 0,027).

Valorando el tiempo de clampaje aórtico, en nuestra muestra se demuestra una correlación directa y estadísticamente significativa con el aumento en el postoperatorio inmediato (PO1) de CPKmb (r Pearson 0,831; p <0,0001), troponina (r Pearson 0,763; p 0,001), lactato (r Pearson 0,460; p 0,018), GOT (r Pearson 0,832; p <0,0001), IL-6 (r Pearson 0,762; p <0,0001), IL-10 (r Pearson 0,407; p 0,035), así como a las 24 horas (PO2) con troponina (r Pearson 0,954; p <0,0001), GOT (r Pearson 0,908; p 0,001), MDA (Rho de

Spearman 0,439; p 0,019), agregación inducida por colágeno (coeficiente gamma -0,538; p 0,035), IL-6 (Rho de Spearman 0,414; p 0,032). El TNF α no se correlaciona con los tiempos de CEC ni de clampaje en ningún caso en nuestro trabajo. El tiempo de CEC demuestra clara correlación significativa con variables de consumo de antioxidantes (tabla 12), en lo referente al no retorno de glutatión total tras 24 horas a su nivel basal, de forma que hay mayor consumo de antioxidantes a mayores tiempos de CEC y de clampaje aórtico.

Tras haberles aplicado tests estadísticos de correlación no paramétricos se puede apreciar que en cuanto a la agregación plaquetaria (en sus tres formas de medirse en nuestro trabajo) y los tiempos de CEC y clampaje aórtico sólo se demuestra dependencia al correlacionar el tiempo de CEC y el de clampaje aórtico con la agregación plaquetaria inducida por colágeno a las 24 horas lo cual se evidencia al aplicar el coeficiente de correlación gamma, que es de -0,48, siendo esa correlación estadísticamente significativa (p 0,034).

Sin embargo, las variables que evidencian una correlación directa y estadísticamente significativa con el ritmo de drenaje por los tubos torácicos en las primeras 8 horas son el tiempo de CEC (Rho Spearman 0,63, p <0,0001), el de clampaje aórtico (Rho Spearman 0,46, p 0,014), la agregación plaquetaria inducida por araquidónico (Rho Spearman -0,655, p 0,049) y por ADP (Rho Spearman -0,75, p 0,019); por otro lado, con el ritmo de drenaje en las segundas 10 horas sólo muestran dicha correlación los tiempos quirúrgicos, tanto de CEC (Rho Spearman 0,69, p <0,0001) como de clampaje aórtico (Rho 0,55, p 0,002).

En el PO1, el láctico (r 0,81, p 0,001) y la PCT (r 0,945, p <0,001) se correlacionan de forma estadísticamente significativa, a diferencia de la PCR, con la activación de IL6; lo mismo ocurre con la IL10 y el láctico (r 0,572, p 0,002) y la CPKmb (r 0,592, p 0,012).

El tiempo de CEC no tiene correlación significativa con variables de estrés oxidativo como se puede ver en la tabla 12.

Tabla 12. Estadísticos de correlación de tiempos de CEC y clampaje con variables de defensa antioxidante y peroxidación lipídica (R de Pearson y significación estadística).

		Tiempo CEC	Tiempo Clampaje
% aumento de GST1 a GST2	R	-0,398(*)	-0,389(*)
	p	0,036	0,041
% aumento de GST2 a GST3	R	0,048	0,011
	p	0,808	0,955
% aumento de GST1 a GST3	R	-0,464(*)	-0,427(*)
	p	0,013	0,023
% aumento de GSSG1 a GSSG2	R	0,287	0,130
	p	0,138	0,510
% aumento de GSSG2 a GSSG3	R	-0,079	0,001
	p	0,688	0,995
% aumento de GSSG1 a GSSG3	R	-0,071	-0,011
	p	0,720	0,955
% aumento de MDA1 a MDA2	R	-0,218	-0,114
	p	0,265	0,565
% aumento de MDA2 a MDA3	R	0,000	-0,037
	p	1,000	0,852
% aumento de MDA1 a MDA3	R	-0,159	-0,104
	p	0,418	0,599
MDA2	R	-0,017	-0,172
	p	0,932	0,383
MDA3	R	-0,008	-0,205
	p	0,968	0,294
Glutation total 2	R	-0,196	-0,088
	p	0,316	0,658
Glutation Oxidado 2	R	-0,147	0,045
	p	0,456	0,820
Glutation reducido 2	R	-0,156	-0,101
	p	0,427	0,609
Glutation total 3	R	-0,250	-0,125
	p	0,200	0,527
Glutation Oxidado 3	R	-0,107	0,205
	p	0,588	0,296
Glutation reducido 3	R	-0,205	-0,164
	p	0,295	0,404
Diferencia GST1 a GST2	R	0,353	0,364
	p	0,065	0,057
Diferencia GST2 a GST3	R	-0,070	-0,049
	p	0,724	0,804
Diferencia GST1 a GST3	R	0,519(**)	0,514(**)
	p	0,005	0,005
Diferencia MDA1 a MDA2	R	-0,072	0,011
	p	0,717	0,954
Diferencia MDA2 a MDA3	R	-0,093	-0,049
	p	0,639	0,803
Diferencia MDA1 a MDA3	R	0,069	-0,011
	p	0,728	0,956

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 13. Estadísticos de correlación entre glutaciones y tipo de cardiopatía

			GST2	GSSG2	GSH2
Grupo Cardiopatía	D-I	Media	2,71	0,25	2,46
		D. típica	0,71	0,21	0,69
		Mediana	2,66	0,23	2,35
		Percentil 25	2,16	0,06	2,03
		Percentil 75	3,21	0,33	2,97
	I-D	Media	2,25	0,37	1,89
		D. típica	0,35	0,08	0,43
		Mediana	2,18	0,35	1,83
		Percentil 25	1,95	0,29	1,49
		Percentil 75	2,63	0,46	2,34
	Obstrucción salida VD o VI	Media	2,34	0,16	2,18
		D. típica	0,80	0,07	0,76
		Mediana	2,00	0,20	1,76
		Percentil 25	1,84	0,09	1,75
		Percentil 75	3,05	0,20	2,85

	GST1	GSSG1	GSH1
Chi-cuadrado	2,459	0,537	1,088
gl	2	2	2
Sig. asintótica	0,292	0,765	0,580

Al analizar la relación entre estrés oxidativo y las demás variables analíticas en cada uno de los tiempos (tabla 14), mediante coeficiente de correlación de Spearman, a nivel *preoperatorio* sólo existe una buena correlación positiva y estadísticamente significativa

entre AA y GSSG; en el *postoperatorio inmediato* no hay diferencias estadísticamente significativas; en el PO2, *tras las 24 horas*, existe una correlación negativa y estadísticamente significativa entre AA y PCR con GSSG.

Tabla 14. Relación entre estrés oxidativo y las demás variables analíticas en cada uno de los tiempos (coeficiente de correlación de Spearman).

Correlaciones PRE						
Rho de Spearman						
	GST1		GSSG1		GSH1	
	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)
PCR1	-0,257	0,196	0,295	0,135	-0,317	0,107
PCT1	0,442	0,076	-0,289	0,261	0,477	0,053
Creatinina1	0,076	0,699	0,046	0,817	0,033	0,870
Láctico1	-0,800	0,200	-0,200	0,800	-0,800	0,200
MDA1	-0,091	0,634	-0,250	0,183	0,073	0,702
AgrCol1	0,134	0,713	0,541	0,106	0,043	0,907
AA1	0,336	0,342	0,777**	0,008	0,049	0,893
ADP1	0,018	0,960	0,387	0,270	-0,110	0,761
IL1B.1	0,188	0,338	-0,215	0,271	0,264	0,174
IL6.1	0,172	0,382	-0,220	0,262	0,219	0,263
IL10.1	0,067	0,736	-0,014	0,944	0,011	0,955
TNFa.1	0,228	0,243	-0,355	0,064	0,349	0,069

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones PO1

	Rho de Spearman					
	GST2		GSSG2		GSH2	
	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)
PCR2	-0,378	0,069	0,152	0,478	-0,390	0,060
PCT2	0,067	0,829	0,133	0,665	0,090	0,771
Creatinina2	-0,156	0,436	0,063	0,754	-0,159	0,429
Láctico2	-0,086	0,669	0,161	0,423	-0,116	0,563
MDA2	-0,271	0,148	-0,167	0,378	-0,201	0,286
AgrCol2	0,219	0,544	0,000	1,000	0,219	0,544
AA2	-0,168	0,643	0,304	0,392	-0,106	0,772
ADP2	0,093	0,799	0,279	0,436	0,068	0,852
IL1B.2	0,200	0,307	-0,136	0,490	0,230*	0,0240
IL6.2	-0,027	0,892	-0,143	0,468	-0,011	0,954
IL10.2	-0,041	0,836	-0,063	0,748	-0,036	0,855
TNFa.2	-0,208	0,288	0,221	0,259	-0,263	0,177

Correlaciones PO2

	Rho de Spearman					
	GST3		GSSG3		GSH3	
	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)	Rho	Sig. (bilateral)
PCR3	-0,229	0,281	-0,406*	0,049	-0,067	0,757
PCT3	-0,169	0,563	-0,275	0,342	-0,116	0,692
Creatinina3	-0,229	0,281	-0,199	0,352	-0,189	0,377
Láctico3	0,074	0,712	-0,084	0,677	0,090	0,656
MDA3	-0,270	0,149	-0,183	0,334	-0,161	0,395
AgrCol3	-0,036	0,920	-0,450	0,192	-0,134	0,713
AA3	-0,175	0,630	-0,654*	0,040	0,031	0,932
ADP3	0,030	0,933	-0,372	0,290	0,067	0,854
IL1B.3	-0,252	0,195	-0,352	0,066	-0,177	0,368
IL6.3	-0,069	0,727	-0,310	0,109	-0,007	0,974
IL10.3	-0,179	0,362	-0,198	0,312	-0,189	0,336
TNFa.3	-0,188	0,339	0,227	0,246	-0,283	0,145

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

	R de Pearson	IL1b-2	IL10-2	GSSG-3	IL1b-3	IL6-3	GST_%3	Diferencia GST.3
Col 2	R	-0,280	-0,514	-0,616	-0,073	-0,139	0,349	-0,528
	p	0,465	0,157	0,058	0,851	0,721	0,323	0,117
AA 2	R	0,268	-0,017	-0,392	-0,546	0,698(*)	0,558	-0,591
	p	0,486	0,966	0,262	0,128	0,037	0,094	0,072
ADP 2	R	-0,654	-0,859(**)	-0,059	-0,098	-0,678(*)	0,389	-0,436
	p	0,056	0,003	0,872	0,801	0,045	0,266	0,208
IL6-2	R	-0,015	0,673(**)	0,140	0,109	0,030	-0,548(**)	0,606(**)
	p	0,939	<0,001	0,476	0,580	0,880	0,003	0,001
IL10-2	R	-0,043		-0,014	0,343	0,061	-0,517(**)	0,570(**)
	p	0,827		0,943	0,074	0,759	0,005	0,002
AA 3	R	0,101	0,011	-0,664(*)	-0,262	0,515	0,304	-0,454
	p	0,796	0,978	0,036	0,495	0,156	0,394	0,187
GSSG 3	R	0,064	-0,014		-0,370	-0,388(*)	0,212	-0,190
	p	0,745	0,943		0,053	0,042	0,262	0,316

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

9. VARIABLES CLÍNICAS

En este apartado se van a describir las correlaciones existentes estadísticamente significativas entre las principales variables clínicas, sin incluir las analíticas: edad, sexo, síndrome de Down, tiempo de CEC, tiempo de clampaje, días de estancia, estancia prolongada (≥ 7 días), tiempo de VM (horas), índice IS, índice VIS (Gaies 2010), puntuación de Aristóteles Básico, puntuación de Aristóteles Ampliado, disfunción hemodinámica,

arritmia, necesidad de técnica de reemplazo renal, aparición de sepsis, disfunción neurológica, disfunción pulmonar, disfunción renal y mala evolución.

Tabla 15. Estadísticos de correlación entre variables clínicas

Variable 1	Variable 2	R Pearson	Significación estadística (p)
Edad (años)	Tiempo clampaje	-0,38	0,046
Tiempo estancia (días)	Tiempo CEC	<u>0,81</u>	<0,001
	Tiempo clampaje	<u>0,79</u>	<0,001
IS	Tiempo CEC	<u>0,70</u>	0,001
	Tiempo de estancia (días)	0,51	0,01
	Tiempo VM	<u>0,70</u>	<0,001
VIS	Tiempo CEC	<u>0,71</u>	<0,001
	Tiempo clampaje	0,45	0,015
	Tiempo de estancia (días)	0,54	0,002
	Tiempo VM	<u>0,71</u>	<0,001
Aristóteles Básico	Tiempo CEC	<u>0,74</u>	<0,001
	Tiempo clampaje	0,42	0,025
	Tiempo de estancia (días)	0,47	0,01
	Tiempo VM	<u>0,71</u>	<0,001
	IS	<u>0,71</u>	<0,001
	VIS	<u>0,79</u>	<0,001
Aristóteles Ampliado	Tiempo CEC	<u>0,82</u>	<0,001
	Tiempo clampaje	0,50	0,007
	Tiempo de estancia (días)	0,66	<0,001
	Tiempo VM	0,68	<0,001
	IS	<u>0,71</u>	<0,001
	VIS	<u>0,80</u>	<0,001

Variable 1	Variable 2	Tau-B de Kendall	Significación estadística (p)
Mala evolución HD	TCRR	0,54	0,003
	Sepsis	0,64	<0,001
Sepsis	TCRR	0,80	<0,001
Estancia agrupada	Arritmia	0,57	0,001
	TCRR	0,40	0,028
	Sepsis	0,50	0,006
Sdme. Down	Arritmia	0,35	0,048
Disfunción neurológica	Arritmia	0,38	0,033
	TCRR	<u>0,80</u>	<0,001
	Sepsis	0,65	0,001
	Estancia agrupada	0,50	0,006
Disfunción pulmonar	Sepsis	<u>0,80</u>	<0,001
Mala evolución	Arritmia	0,55	0,002
	TCRR	0,53	0,004
	Sepsis	0,66	<0,001
	Estancia agrupada	0,58	0,002
	Disfunción neurológica	0,66	<0,001
	Disfunción pulmonar	0,53	0,004

Variable 1	Variable 2	rho de Spearman	Significación estadística (p)
Mala evolución HD	Tiempo CEC	0,62	<0,001
	Días de estancia	0,57	0,001
	Tiempo VM	0,53	0,002
Arritmia	Tiempo CEC	0,40	0,034
	Días de estancia	0,55	0,001
TCRR	Tiempo CEC	0,44	0,017
	Días de estancia	0,45	0,012
	Tiempo VM	0,44	0,014
	IS	0,64	<0,001
Sepsis	Tiempo CEC	0,50	0,006
	Tiempo clampaje	0,44	0,018
	Días de estancia	0,54	0,002
	Tiempo VM	0,54	0,002
	IS	0,48	0,007
	VIS	0,48	0,007
	Aristóteles Básico	0,50	0,006
	Aristóteles Ampliado	0,50	0,006
Estancia agrupada	Tiempo CEC	0,53	0,003
Disfunción pulmonar	Tiempo CEC	0,44	0,017
	Tiempo VM	0,44	0,014
	IS	0,64	<0,001
	VIS	0,46	0,009
	Aristóteles Básico	0,40	0,032
	Aristóteles Ampliado	0,44	0,017
Disfunción neurológica	Tiempo VM	0,47	0,009
	IS	0,48	0,007
Mala evolución	Edad	0,40	0,028
	Tiempo CEC	0,41	0,03
	Días de estancia	0,44	0,013
	Tiempo VM	0,49	0,006
	Aristóteles Básico	0,41	0,029
	Aristóteles Ampliado	0,41	0,027

Para valorar la relación lineal entre cada dos variables (tabla 15) se han empleado los distintos coeficientes de correlación existentes según sean las características de las variables. Se ha utilizado la correlación de Pearson (R) si se trata de dos variables cuantitativas continuas, la rho de Spearman si alguna es cualitativa ordinal y la Tau-B de Kendall si son cualitativas dicotómicas.

Se considera la siguiente escala del rango de relación:

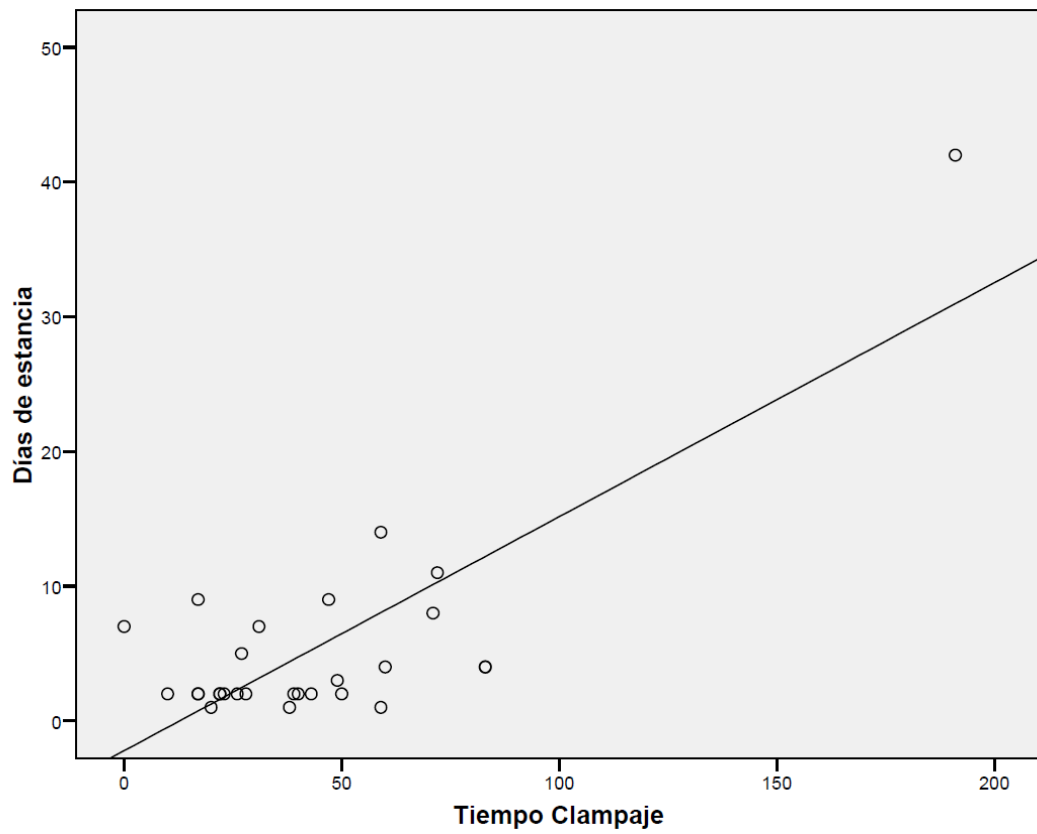
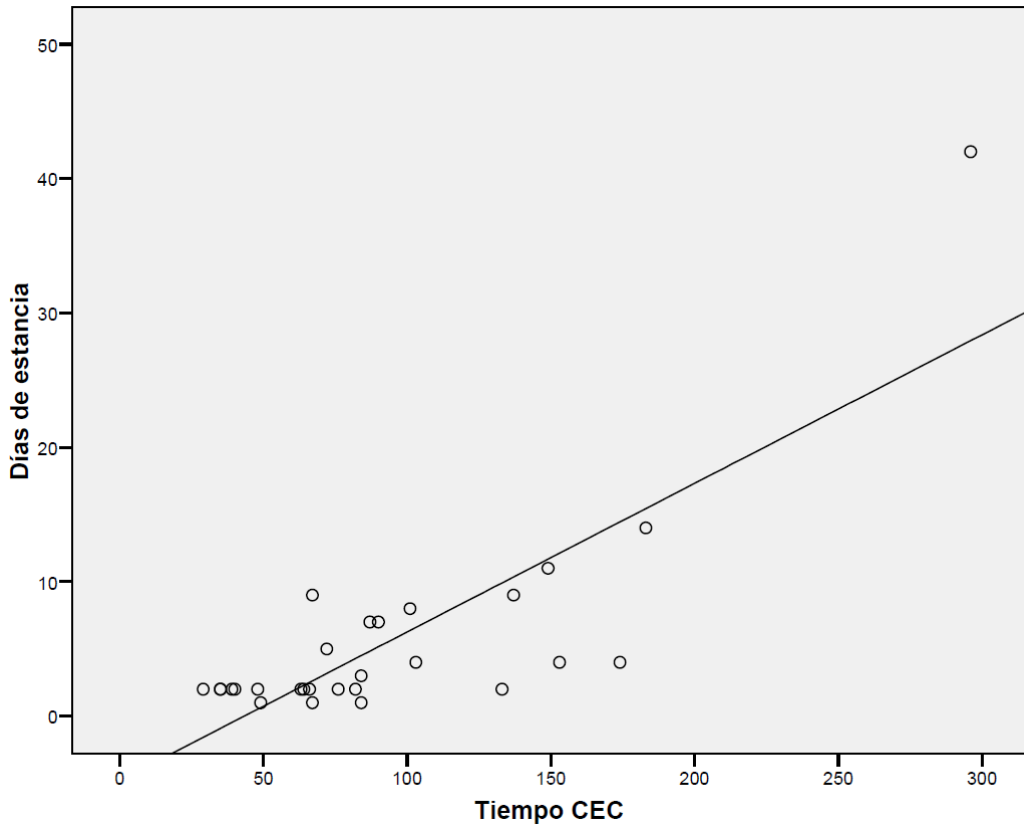
- 0-0,25: Escasa o nula.
- 0,26-0,50: Débil.
- 0,51- 0,690: Entre moderada y fuerte.
- 0,70- 1,00: Entre fuerte y perfecta.

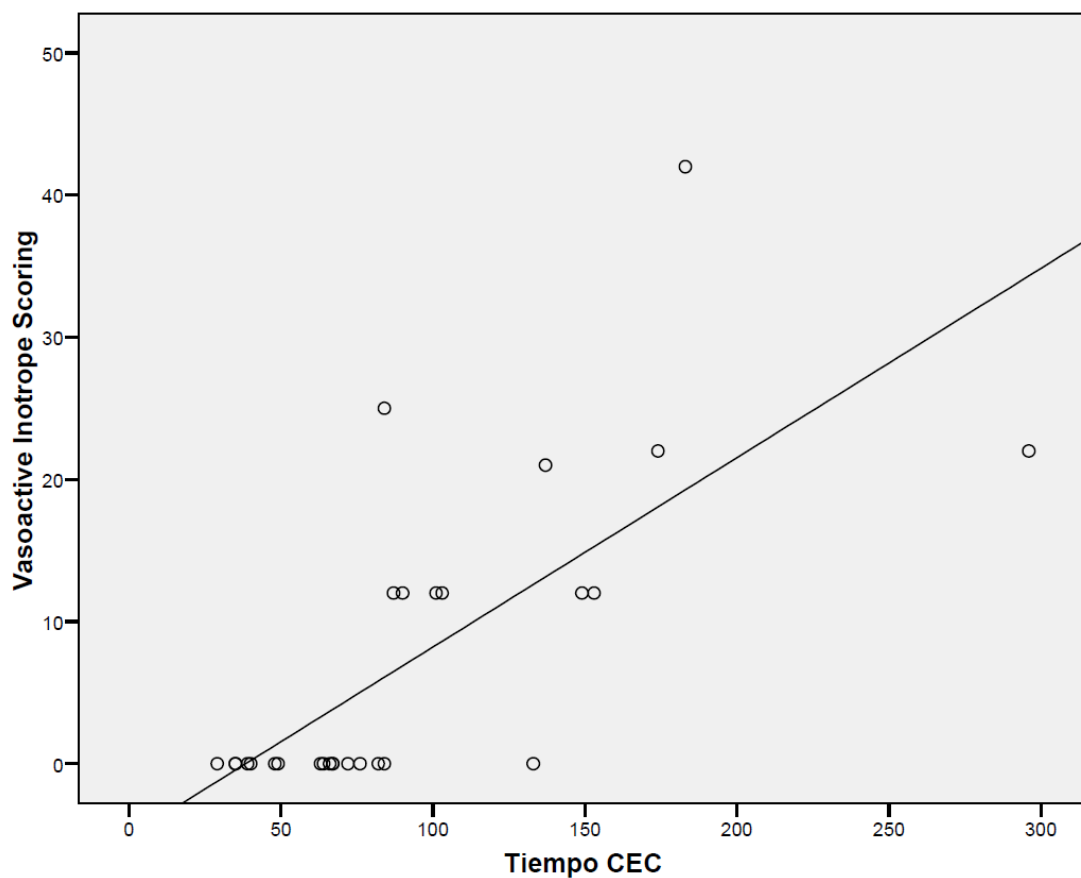
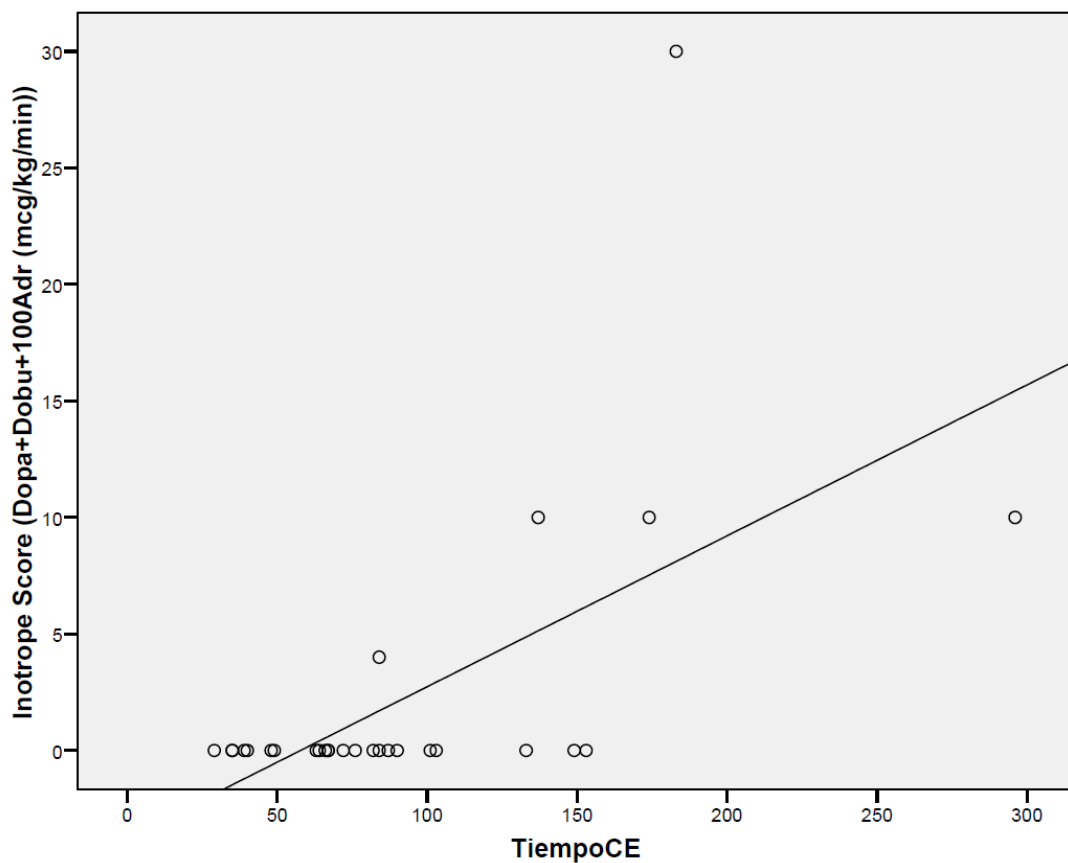
De estas correlaciones debemos destacar aquellas que se presentan con un índice estadístico mayor de 0,7:

- Tiempo de CEC: días de estancia, IS, VIS y Aristóteles básico y ampliado.
- Tiempo de clampaje: días de estancia.
- Tiempo de VM: IS, VIS y Aristóteles básico.
- IS con Aristóteles.
- VIS con Aristóteles.
- Disfunción neurológica con necesidad de TCRR.
- Disfunción pulmonar con presencia de sepsis en primeros 5 días postoperatorios.

La figura 33 muestra las gráficas de correlación entre tiempo de CEC y diversas variables clínicas con las cuales se aprecia un coeficiente que evidencia correlación mediana a fuerte. La figura 34 muestra las gráficas de correlación entre diversas variables clínicas.

Figura 33. Gráficas de correlaciones entre tiempo de CEC y otras variables clínicas





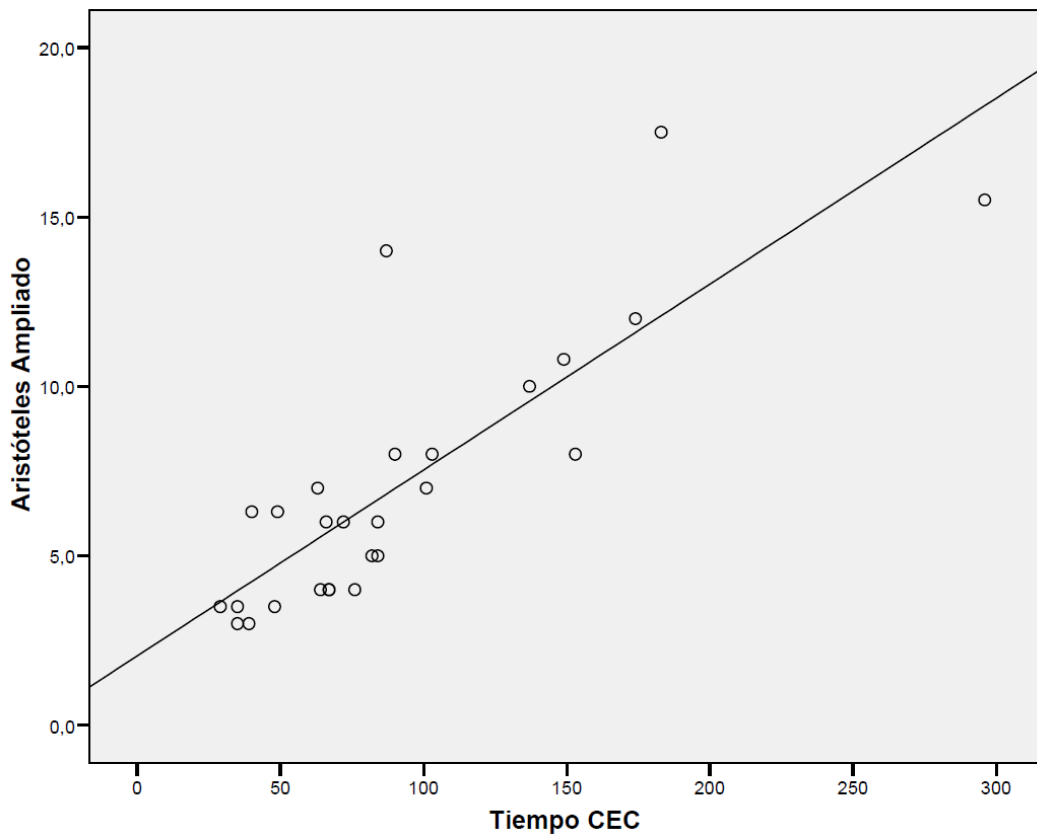
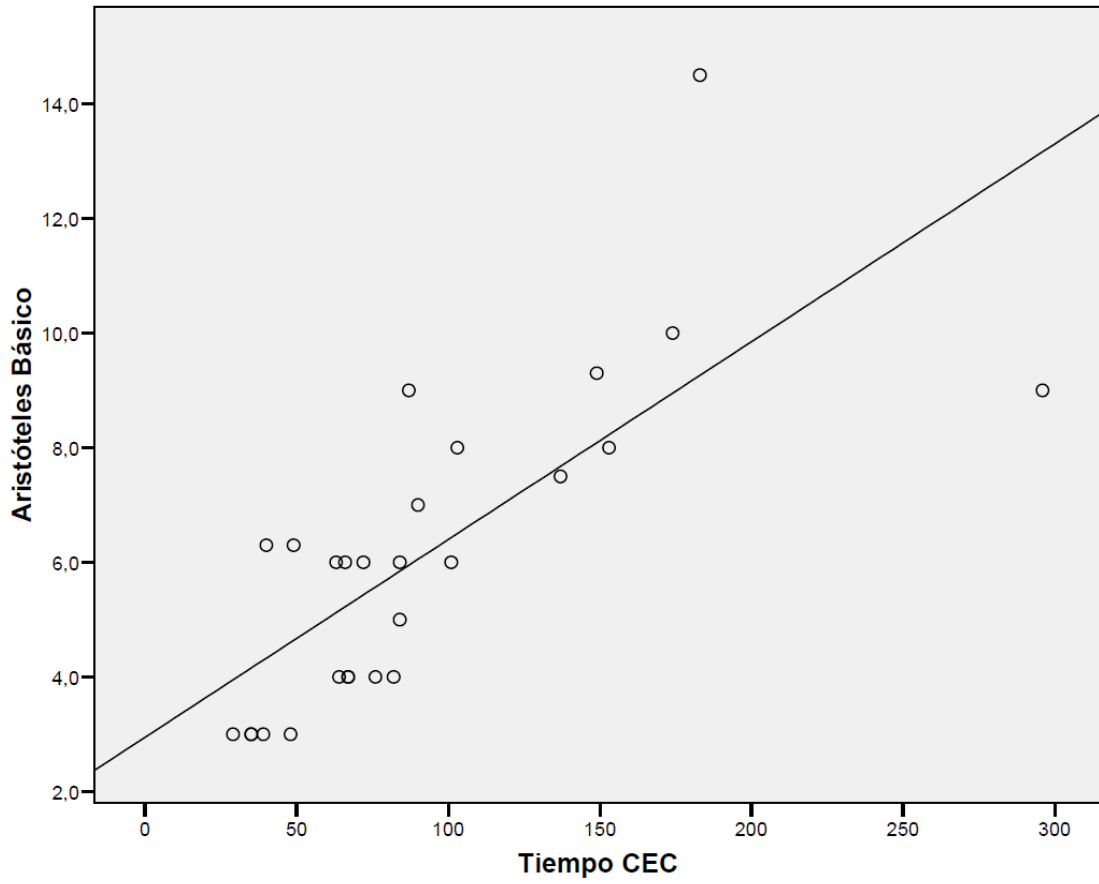
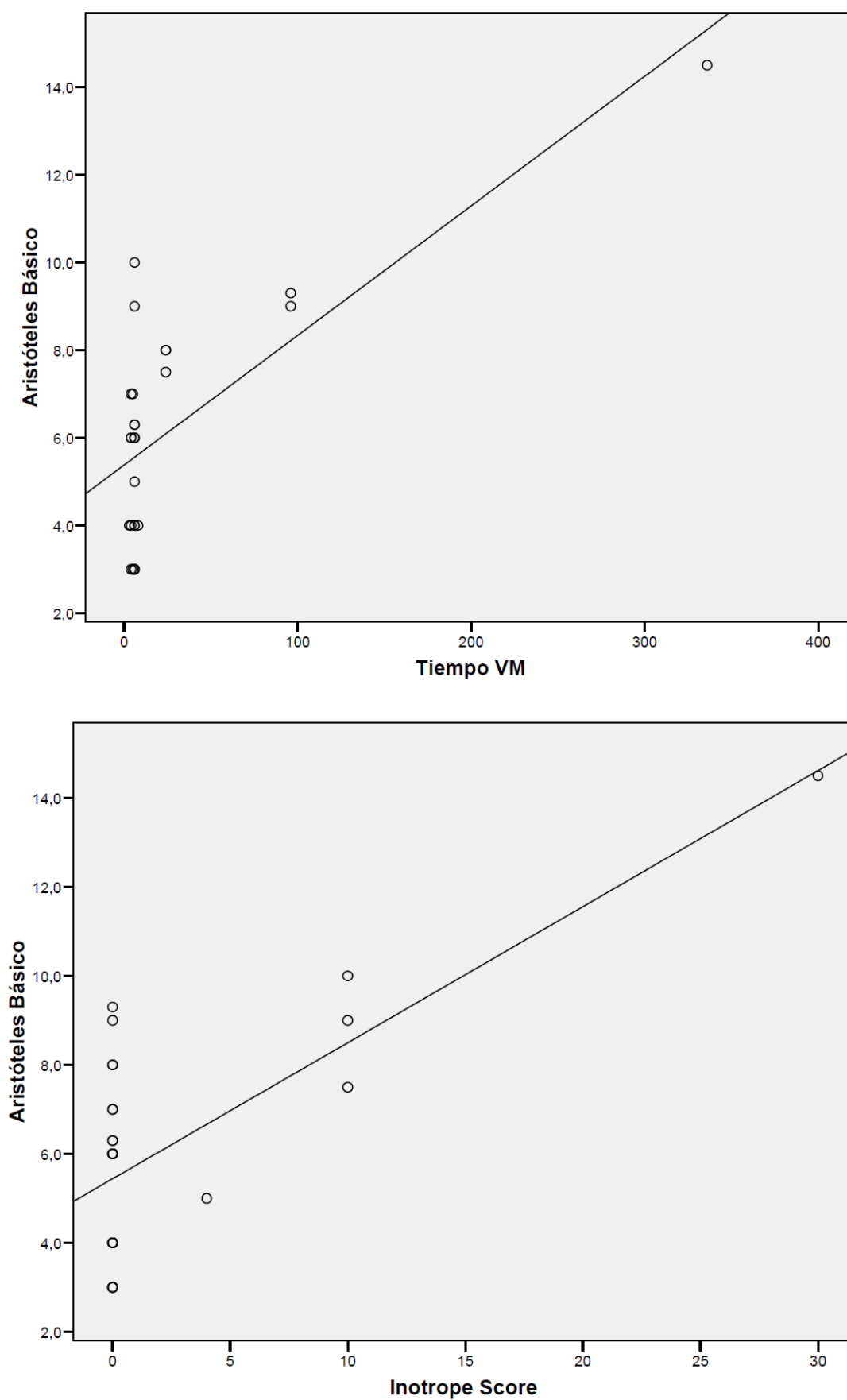
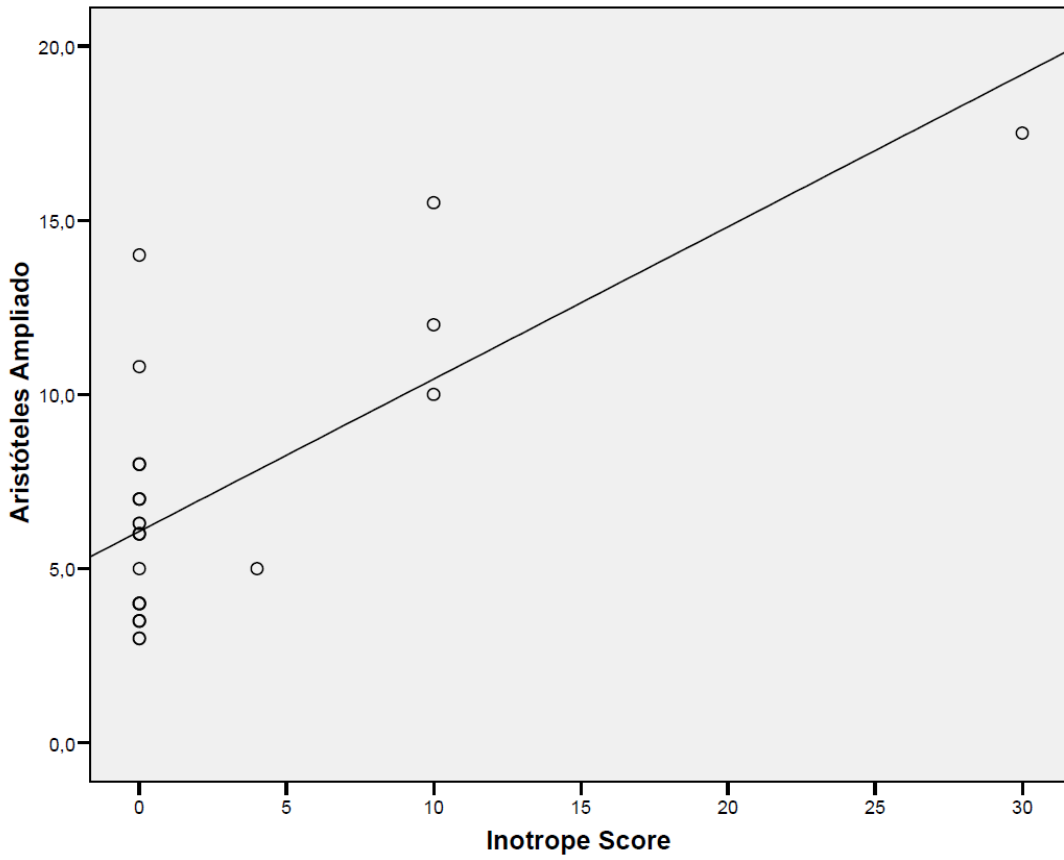
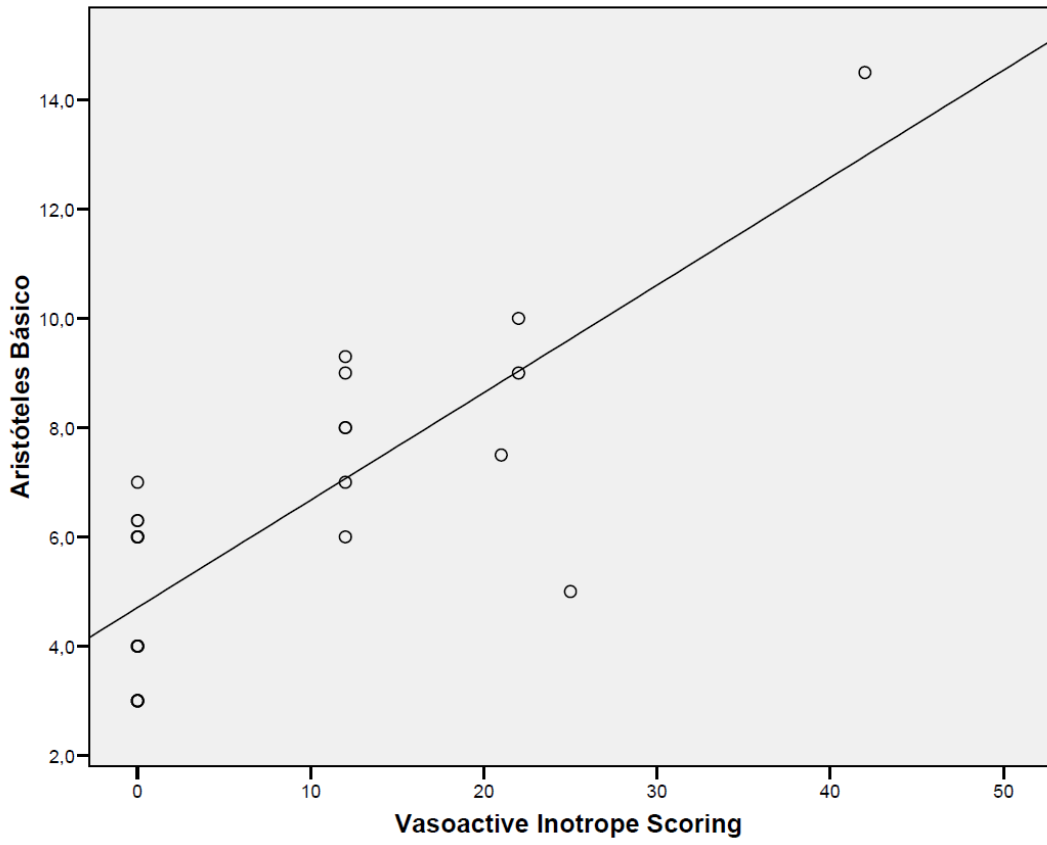
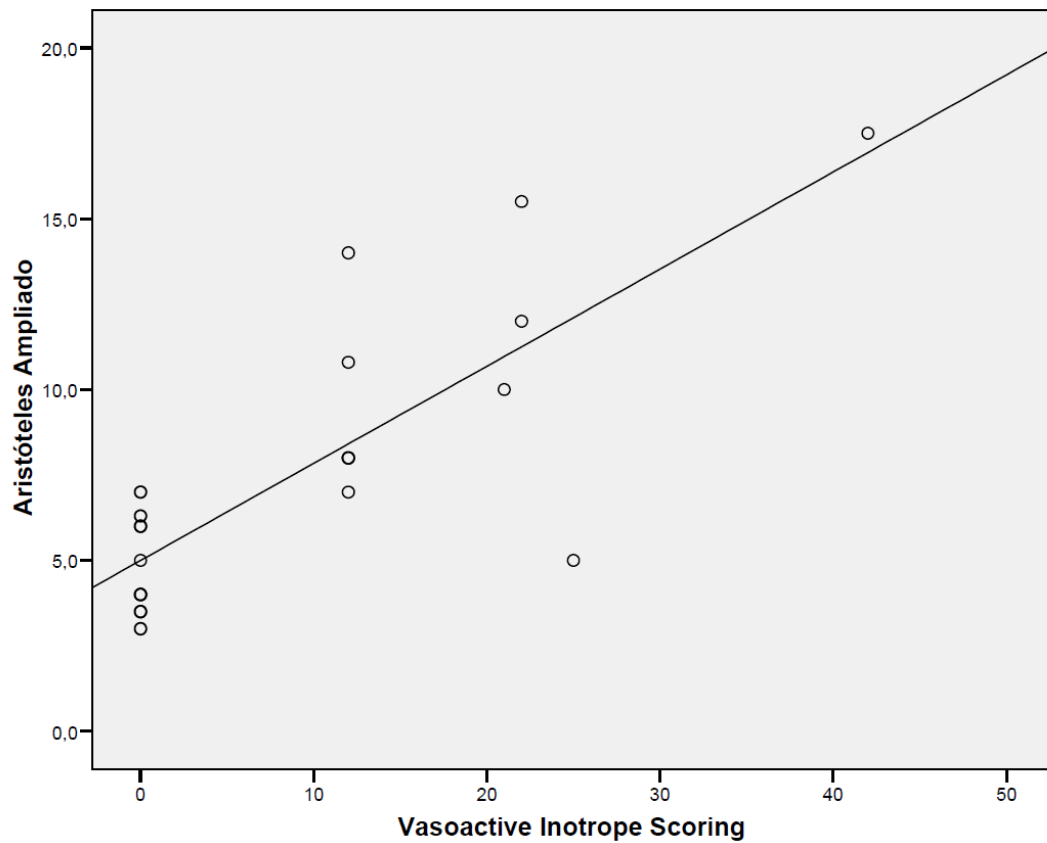


Figura 34. Gráficas de correlaciones entre diversas variables clínicas







Si se tienen en cuenta las variables analíticas especiales de interleuquinas y de estrés oxidativo se puede hacer estadística de correlaciones de diferente tipo, quedando en la tabla 16 reflejadas las correlaciones de Pearson que son estadísticamente significativas.

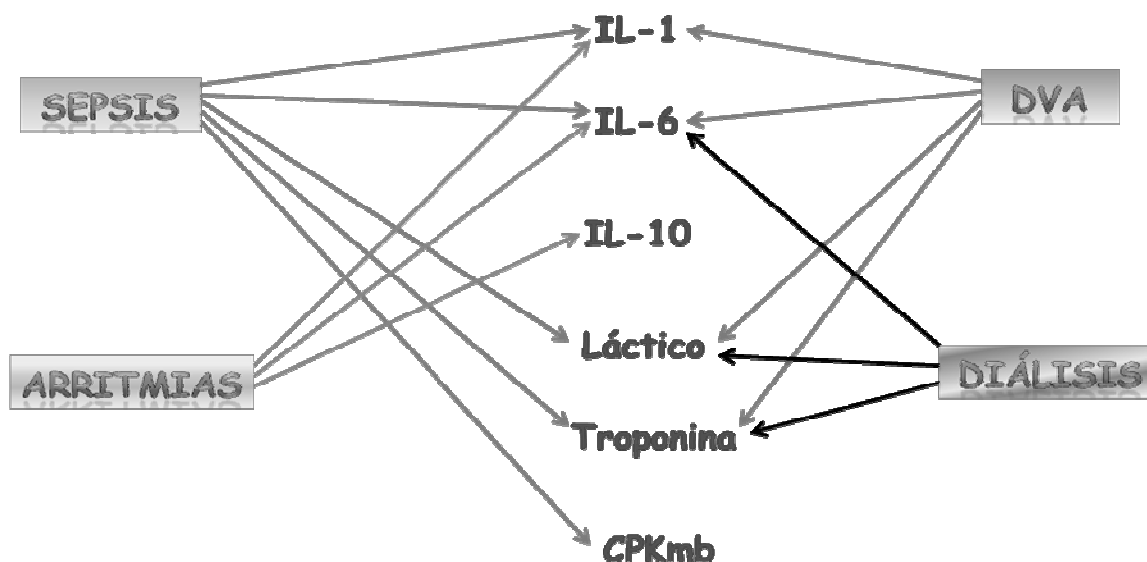
Tabla 16. Correlaciones entre variables clínicas y analíticas

Variable 1	Variable 2	R Pearson	Significación estadística (p)
IL1 – PO1	Tiempo VM	0,38	0,041
	VIS	0,43	0,022
	Aristóteles Básico	0,52	0,005
	Aristóteles ampliado	0,48	0,01
IL6 – PO1	IL10 – PO1	0,67	<0,001
	Días de estancia	0,86	<0,001
	Tiempo VM	0,58	0,001
	IS	0,59	0,001
	VIS	0,47	0,011
	Aristóteles ampliado	0,50	0,007
IL10 – PO1	Días de estancia	0,63	<0,001
	IS	0,43	0,021
	VIS	0,41	0,028
	Aristóteles ampliado	0,48	0,011
	Disfunción neurológica	0,42	0,023
IL1 – PO2	Días de estancia	0,38	0,043
	Aristóteles ampliado	0,45	0,018
IL6 – PO2	IS	0,49	0,021
	VIS	0,43	0,020
	Aristóteles básico	0,59	0,001
	Aristóteles ampliado	0,53	0,004
GSH	Disfunción pulmonar	-0,38	0,035

10. CORRELACIONES ENTRE VARIABLES CLÍNICAS Y ANALÍTICAS

Relacionando clínica y analítica (figura 35), se encuentran varias correlaciones significativas ($p < 0,05$): interleukinas (IL1, IL6, IL10) y arritmias malignas (bloqueo AV y ritmo nodal); IL6, láctico, troponina con mayor riesgo de desarrollar sepsis nosocomial, mayor necesidad de DVA y de diálisis; IL1 con sepsis y DVA; CPKmb con sepsis y diálisis.

Figura 35. Correlaciones clínico-analíticas con resultado significativo.



Para correlacionar el estrés oxidativo con las variables resultado clínico (fallo hemodinámico, desarrollo de insuficiencia renal con necesidad de técnica de depuración extrarrenal, aparición de sepsis en los primeros 4 días postoperatorios o desarrollo de arritmias tipo bloqueo AV o ritmo nodal), como se pueden ver descritas en la tabla 14, se ha empezado por calcular unas nuevas variables que representen los porcentajes de cambio de las variables de EO entre los tiempos PRE y PO1 y los PO1 y PO2 (tabla 18).

Tabla 17. Resumen descriptivo de variables clínicas.

		Recuento	%
HD	<2 drogas vasoactivas	24	80,0%
	>=2 drogas vasoactivas	6	20,0%
arritmia	no arritmia significativa	25	83,3%
	bloqueo av, ritmo nodal	5	16,7%
I. Renal	no IR	28	93,3%
	IR	2	6,7%
Sepsis	no sepsis	27	90,0%
	sí sepsis	3	10,0%

Tabla 18. Porcentaje de cambio de variables de estrés oxidativo en los tres tiempos.

	Media	D. típica	Máximo	Mínimo	Mediana	p25	p75
MDA_p1	51,04	69,00	297,08	-41,23	33,79	11,54	82,21
MDA_p2	-8,54	18,21	32,59	-51,79	-6,32	-19,06	-,93
GST_p1	-26,90	17,68	9,27	-55,99	-26,60	-37,84	-15,32
GST_p2	31,92	27,76	109,63	-25,49	27,39	12,54	50,92
GSSG_p1	-63,32	248,15	413,12	-1203,58	-34,97	-56,30	3,66
GSSG_p2	32,50	483,58	2205,96	-831,65	5,95	-61,01	57,69
GSH_p1	-25,79	21,35	17,92	-65,28	-25,25	-37,87	-12,35
GSH_p2	34,69	35,92	118,88	-36,58	30,60	13,16	44,86

p1: PRE vs PO1

p2: PO1 vs PO2

Realizamos análisis univariante (tabla 20) para averiguar qué variables están relacionadas con el evento, para ello se aplica la prueba de Mann-Whitney, tomando aquellas variables con $p < 0,2$ para incluirlas en el modelo multivariante. Para sepsis e Insuficiencia Renal se obtiene significación con las variables MDA_p1 y MDA_p2. Para arritmia con

MDA_p2, GST_p2 y GSH_p2. Para HD no hemos encontrado diferencias significativas con ninguna de las variables porcentaje de cambio en EO.

Tabla 19. Análisis univariante de variables de estrés oxidativo (MDA, GST, GSSG, GSH) respecto a las diferentes variables resultado (sepsis, insuficiencia renal, arritmia, deterioro hemodinámico), aplicando test de Mann-Whitney.

		sepsis		P
		no sepsis	sí sepsis	
MDA_p1	Mediana	<u>39,94</u>	<u>-10,22</u>	<u>0,008</u>
	p25	22,28	-41,23	
	p75	85,02	1,77	
MDA_p2	Mediana	<u>-6,51</u>	<u>8,83</u>	<u>0,041</u>
	p25	-20,09	-5,11	
	p75	-1,33	32,59	
GST_p1	Mediana	-24,88	-31,86	0,253
	p25	-37,84	-50,04	
	p75	-10,58	-30,97	
GST_p2	Mediana	26,45	40,42	0,695
	p25	9,46	17,88	
	p75	52,90	50,92	
GSSG_p1	Mediana	-36,30	3,66	0,51
	p25	-72,50	-48,92	
	p75	1,40	6,68	
GSSG_p2	Mediana	3,79	33,49	0,32
	p25	-69,73	16,80	
	p75	57,69	120,99	
GSH_p1	Mediana	-24,41	-34,72	0,28
	p25	-37,87	-54,14	
	p75	-9,36	-28,44	
GSH_p2	Mediana	29,27	41,12	0,74
	p25	12,15	18,07	
	p75	59,24	42,41	

p1: PRE vs PO1

p2: PO1 vs PO2

		IR		p
		no IR	IR	
MDA_p1	Mediana	38,25	-19,73	0,055
	p25	19,87	-41,23	
	p75	83,62	1,77	
MDA_p2	Mediana	-6,44	13,74	0,193
	p25	-19,58	-5,11	
	p75	-1,13	32,59	
GST_p1	Mediana	-25,03	-40,51	0,29
	p25	-37,82	-50,04	
	p75	-12,95	-30,97	
GST_p2	Mediana	27,39	29,15	0,96
	p25	11,00	17,88	
	p75	51,91	40,42	
GSSG_p1	Mediana	-34,97	-22,63	0,9
	p25	-64,40	-48,92	
	p75	4,04	3,66	
GSSG_p2	Mediana	4,53	25,14	0,66
	p25	-65,37	16,80	
	p75	69,26	33,49	
GSH_p1	Mediana	-24,58	-41,29	0,33
	p25	-37,68	-54,14	
	p75	-10,86	-28,44	
GSH_p2	Mediana	30,60	29,60	0,99
	p25	12,66	18,07	
	p75	52,05	41,12	

p1: PRE vs PO1

p2: PO1 vs PO2

		Arritmia		P
		no arritmia	bloqueo av, ritmo nodal	
MDA_p1	Mediana	36,57	28,77	0,98
	p25	11,54	17,46	
	p75	52,42	82,21	
MDA_p2	Mediana	-6,28	-6,71	0,17
	p25	-13,97	-28,13	
	p75	-0,53	-5,19	
GST_p1	Mediana	-28,02	-23,38	0,99
	p25	-37,80	-41,16	
	p75	-20,17	-15,32	
GST_p2	Mediana	28,41	9,46	0,11
	p25	21,34	8,33	
	p75	52,90	17,88	
GSSG_p1	Mediana	-33,64	-48,56	0,75
	p25	-52,13	-86,70	
	p75	1,40	3,66	
GSSG_p2	Mediana	5,28	16,80	0,96
	p25	-48,51	-69,73	
	p75	57,39	57,69	
GSH_p1	Mediana	-24,75	-25,75	0,91
	p25	-37,49	-40,25	
	p75	-12,64	-12,35	
GSH_p2	Mediana	34,84	14,44	0,14
	p25	13,43	0,87	
	p75	59,24	18,07	

p1: PRE vs PO1

p2: PO1 vs PO2

		Hemodinámico		p
		<2	>=2	
MDA_p1	Mediana	38,25	15,05	0,35
	p25	19,87	-10,22	
	p75	67,32	85,02	
MDA_p2	Mediana	-6,32	-9,54	0,94
	p25	-13,73	-28,13	
	p75	-1,13	8,83	
GST_p1	Mediana	-24,25	-34,25	0,25
	p25	-38,68	-37,84	
	p75	-9,67	-30,97	
GST_p2	Mediana	28,37	25,60	0,67
	p25	11,00	17,88	
	p75	53,46	40,42	
GSSG_p1	Mediana	-38,15	-12,00	0,56
	p25	-64,40	-48,92	
	p75	-,66	6,68	
GSSG_p2	Mediana	4,53	25,14	0,9
	p25	-54,76	-260,75	
	p75	57,54	120,99	
GSH_p1	Mediana	-23,60	-36,09	0,27
	p25	-37,85	-37,87	
	p75	-7,72	-28,44	
GSH_p2	Mediana	33,38	22,61	0,49
	p25	12,66	13,43	
	p75	60,54	41,12	

p1: PRE vs PO1

p2: PO1 vs PO2

A partir de estos resultados construimos el modelo de regresión logística múltiple, valorando la verdadera importancia que tenga cada variable resultado. Para la variable resultado Insuficiencia Renal, contando como variables independientes MDA_p1 y

MDA_p2, no se obtienen resultados estadísticamente significativos. Para la variable resultado Arritmia, con MDA_p2, GST_p2 y GSH_p2 como variables independientes, no se obtienen resultados estadísticamente significativos. Para la variable resultado sepsis, con variables independientes MDA_p1 y MDA_p2, el porcentaje de cambio de MDA PRE vs PO1 es un factor de protección en el desarrollo de sepsis (a mayor valor, menor riesgo de tener sepsis).

Tabla 20. Porcentaje de cambio de malondialdehído (MDA) en los tiempos PRE vs PO1 (MDA_p1) correlacionado con desarrollo de sepsis.

	Sig.	OR	I.C. 95% para OR	
			Inferior	Superior
MDA_p1	0,050	0,929	0,862	0,9999

En la tabla 22 se resume los datos estadísticos descriptivos de algunas de las variables clínicas que posteriormente se han intentado correlacionar con la presencia de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica asociado a circulación extracorpórea (SRIS-CEC), como se puede ver en tabla 23, y con las variables de defensa antioxidante, reflejado en la tabla 24.

Tabla 21. Valores de principales datos clínicos pronósticos considerados para correlacionarse con variables de evolución.

	Media	Mediana	Desv. típica	Percentiles	
				25	75
Estancia (días)	5,5	2	7,6	2	7,2
Tiempo VM (Horas)	24,6	6	63,1	4,7	10,5
Inotrope Score (IS)	2,13	0	6,1	0	0
Vasoactive Inotrope Scoring (VIS)	7,2	0	10,59	0	12
Aristóteles Básico	6,14	6	2,69	4	7,88
Aristóteles Ampliado	7,07	6,15	3,85	4	8

Tabla 22 – Factores correlacionados con el desarrollo de SRIS-CEC. Comparaciones entre los que cumplen criterios de SRIS y los que no los cumplen.

Variable	SRIS-CEC	NO SRIS-CEC	p	Correlación Spearman	
				Rho	p
Edad (meses)	4,1 ± 4,6	5,3 ± 3,4	ns	-	-
Tiempo CEC (min)	205,3 ± 81,8	79,6 ± 38,7	0,01	0,493	0,008
Tiempo clampaje (min)	89,0 ± 90,7	39,0 ± 22,5	ns	-	-
Tiempo de estancia (días)	21,6 ± 17,7	3,7 ± 2,8	0,005	0,516	0,003
Tiempo VM (horas)	152,0 ± 163,3	10,5 ± 17,9	0,006	0,511	0,004
Aristóteles Básico	10,3 ± 3,6	5,6 ± 1,2	0,025	0,433	0,021
Aristóteles Ampliado	14,3 ± 3,8	6,1 ± 2,8	0,01	0,495	0,007

Los marcadores de estrés oxidativo analizados se han estudiado en relación con las diferentes variables clínicas determinadas (tabla 24), habiendo correlación estadística entre niveles de glutatión total a las 18-20 horas postoperatorias y el tiempo de duración de la ventilación mecánica y la pertenencia al grupo de SRIS-CEC; igualmente, al hablar de las variables que catalogan el incremento diferencial entre los diversos momentos de análisis, hay correlación estadísticamente significativa con el porcentaje de descenso de glutatión total entre PRE y PO1 (tiempos quirúrgicos) y con el de descenso entre PRE y PO2 (SRIS-CEC, tiempos quirúrgicos y tiempo de estancia).

Tabla 23. Marcadores de estrés oxidativo relacionados con variables clínicas.

	Variables correlacionadas	R Pearson	p
GST3	SRIS-CEC	-0,40	0,027
	Tiempo VM	-0,35	0,05
GST-p1	Tiempo CEC	-0,39	0,036
	Tiempo Clampaje	-0,38	0,041
GST-p3	SRIS-CEC	-0,46	0,01
	Tiempo CEC	-0,46	0,013
	Clampaje	-0,42	0,023
	Tiempo de estancia	-0,44	0,013

La figura 36 representa mediante diagrama de cajas las comparativas de glutatión en el tiempo postoperatorio tardío (GST 3) y del porcentaje de cambio de glutatión entre el momento basal preoperatorio y el postoperatorio tardío (GST_p3) entre los que tienen SRIS-CEC y los que no. La tabla 25 representa los estadísticos analíticos.

Figura 36. Diagramas de cajas de las comparativas de la presencia de SRIS-CEC con tiempo de estancia, puntuación de Aristóteles ampliado, glutatión tras 24h, IL10 en postoperatorio inmediato, porcentaje de cambio de glutatión total entre tiempo 1 y 3, diferencia de glutatión total entre tiempo 1 y 3.

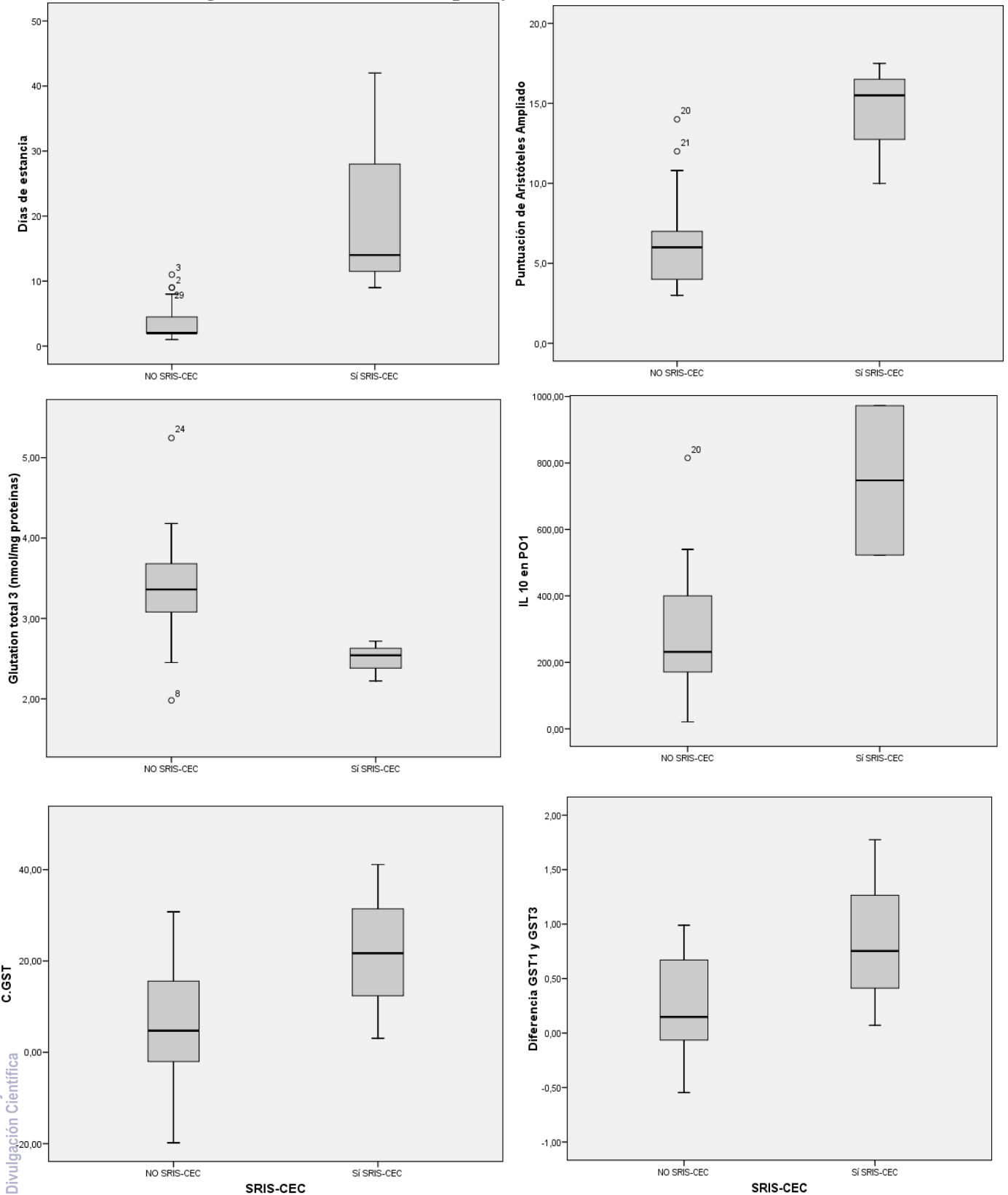


Tabla 24 – Factores correlacionados con el desarrollo de SRIS-CEC. Comparaciones de niveles de glutatión en tiempo postoperatorio tardío entre los que cumplen criterios de SRIS y los que no los cumplen.

Variable	NO SRIS-CEC	SRIS-CEC	t Student	
			t	p
GST 3	3,3 ± 0,6	2,4 ± 0,2	2,2	0,035
GST 1 – GST 3	0,24 ± 0,4	0,8 ± 0,8	-2,0	0,05

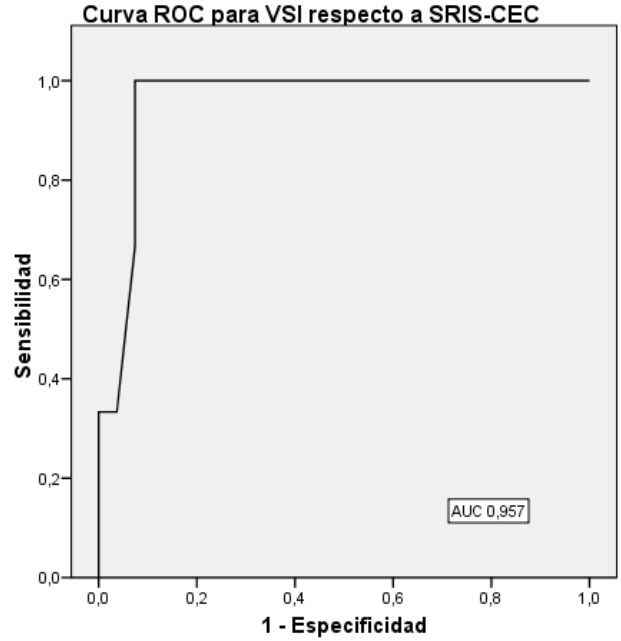
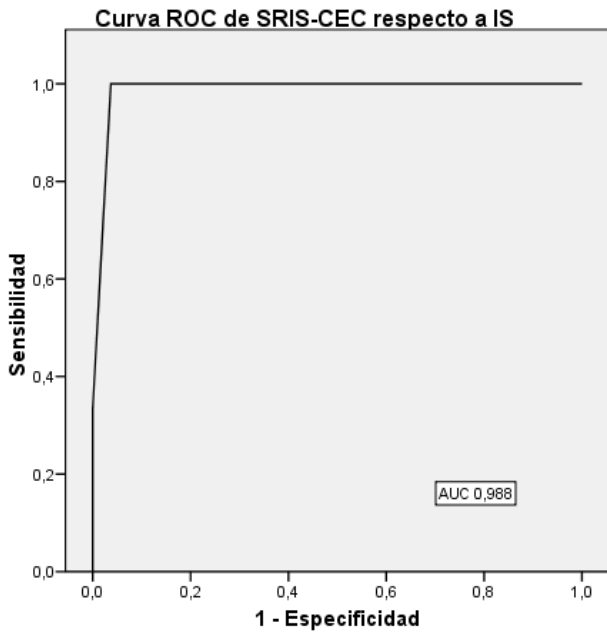
11. CURVAS ROC

Aplicando las curvas ROC para la elección de un indicador clínico pronóstico de presencia de SRIS-CEC, se ha obtenido datos favorables para IS, VIS, Aristóteles básico y Aristóteles ampliado (figura 36), todos con sensibilidad del 100% para los puntos de corte seleccionados.

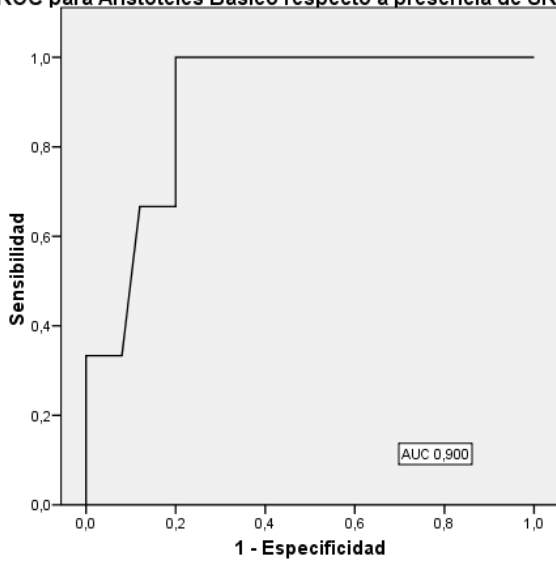
En cuanto al IS, presenta una especificidad del 96,3% con cifras por encima de 7; el VIS una especificidad del 92,6% con corte en 16,5 puntos; para el sistema de Aristóteles básico, un valor de 7,25 tiene una especificidad del 80%; un Aristóteles ampliado de 9 conlleva especificidad mejorada a 88%; el tiempo de CEC por encima de 135 minutos predice la presencia de SRIS-CEC con 88% de especificidad.

Las tablas 26 y 27 muestran la capacidad que tiene cada variable clínica y analítica de diferenciar entre los que tiene buena y mala evolución y los que tienen SRIS-CE y los que no, lo cual se denomina DISCRIMINACIÓN. Al disponer de varias pruebas para un mismo problema, también es interesante saber cual de ellas es mejor en esta capacidad, lo cual queda reflejado en aquellas con área bajo la curva mayor de 0,7.

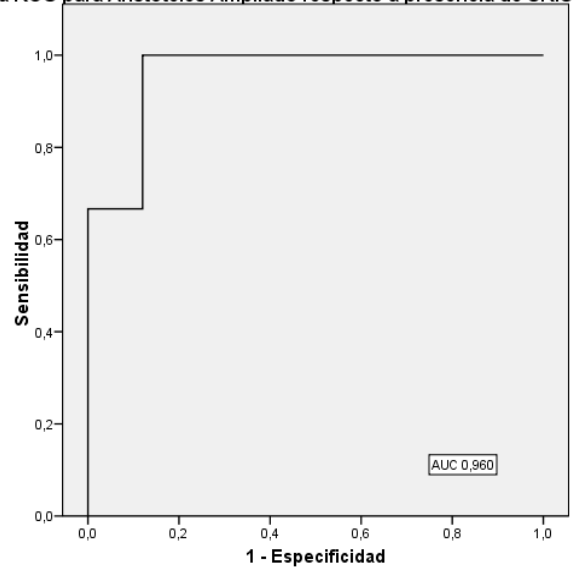
Figura 37. Curvas ROC para valoración de capacidad predictiva de SRIS-CEC.



Curva ROC para Aristóteles Básico respecto a presencia de SRIS-CEC



Curva ROC para Aristóteles Ampliado respecto a presencia de SRIS-CEC



Curva ROC de tiempo de CEC (minutos) respecto a presencia de SRIS-CEC

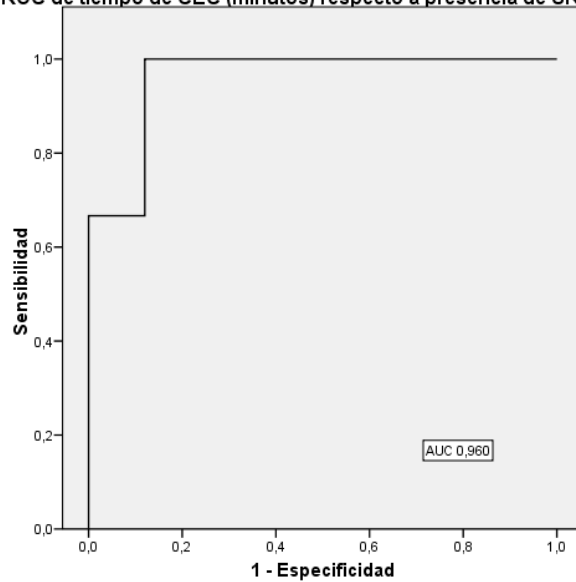


Tabla 25. Descripción de variables clínicas y analíticas en su capacidad de discriminación de mala evolución.

Variables resultado de contraste para MALA EVOLUCIÓN	Área bajo la curva
PCR2	<u>0,857</u>
PCT2	<u>0,786</u>
CPKmb2	0,286
Troponina2	0,286
MDA2	0,429
Glutación total 2	<u>0,857</u>
Glutación Oxidado 2	<u>0,714</u>
Glutación reducido 2	<u>0,857</u>
Interleukina 1b 2	<u>0,714</u>
Interleukina 6 2	0,429
Interleukina 10 2	<u>1,000</u>
TNFalfa 2	0,429
PCR3	0,333
PCT3	<u>1,000</u>
CPKmb3	0,167
Troponina3	0,500
Láctico3	0,333
MDA3	0,333
Glutation total 3	0,500
Glutation Oxidado 3	0,667
Glutation reducido 3	0,333
IL1b 3	<u>1,000</u>
IL6 3	0,500
IL10 3	<u>1,000</u>
TNFalfa 3	0,333
IS	0,614
VIS	0,693
Score Aristóteles Básico	<u>0,788</u>
Score Aristóteles Ampliado	<u>0,792</u>
MDA2-MDA1	0,121

Resultados

MDA3-MDA2	<u>0,742</u>
MDA3-MDA1	0,212
MDA_porcentaje1	0,129
MDA_porcentaje2	<u>0,742</u>
MDA_porcentaje2	0,220
GST_porcentaje1	0,409
GST_porcentaje2	0,455
GST_porcentaje3	0,417

Tabla 26. Descripción de variables clínicas y analíticas en su capacidad de discriminación de SRIS-CEC.

Variables resultado de contraste para SRIS-CEC	Área bajo la curva
IS	<u>0,987</u>
VIS	<u>0,953</u>
Score Aristóteles Básico	<u>0,900</u>
Score Aristóteles Ampliado	<u>0,960</u>
MDA2-MDA1	0,320
MDA3-MDA2	0,547
MDA3-MDA1	0,240
MDA_porcentaje1	0,200
MDA_porcentaje2	0,600
MDA_porcentaje2	0,187
GST_porcentaje1	0,213
GST_porcentaje2	0,493
GST_porcentaje3	0,213
TiempoCEC	<u>0,960</u>
TiempoClampaje	0,633
PCR2	<u>1,000</u>
PCT2	0,750
CPKmb2	0,667
Troponina2	0,500
Láctico2	0,333
MDA2	<u>1,000</u>
Glutation total 2	0,167
Glutation Oxidado 2	0,333
Glutation reducido 2	0,333
Interleukina 1b 2	0,500
Interleukina 6 2	0,500
Interleukina 10 2	0,833
TNF alfa 2	0,000

Mediante análisis por regresión lineal se ha valorado los predictores independientes de los diferentes indicadores clínicos analizados. Los que influyen verdaderamente como factores individuales son los que quedan reflejados en la tabla 28, siendo sobre todo los que tiene un coeficiente B mayor de “+2” o “-2”.

Tabla 27. Predictores independientes de los distintos parámetros clínicos. Regresión lineal múltiple. Datos expresado en coeficientes B (IC 95%) y grado de significación p. Se consideran significativas $p < 0.05$.

Parámetro	Variables predictoras	p	B	Intervalo confianza al 95%	
Tiempo	Días de estancia	0,038	4,957	0,324	9,590
CEC	Tiempo VM (Horas)	0,020	-0,633	-1,150	-0,116
	Aristóteles Básico	0,000	31,024	19,039	43,009
	Aristóteles Ampliado	0,002	-15,057	-23,763	-6,350
	GST_p3	0,002	-1,280	-1,995	-0,565
Tiempo	Días de estancia	< 0,0001	5,257	2,728	7,786
Clampaje	Aristóteles Básico	0,005	24,493	8,236	40,751
	Aristóteles Ampliado	0,006	-16,713	-27,967	-5,459
	GST_p3	0,068	-0,904	-1,883	0,075
Sepsis	Tiempo clampaje	0,046	0,004	0,000	0,008
	Tiempo VM (Horas)	< 0,0001	0,006	0,003	0,008
Tiempo de estancia	Tiempo VM (Horas)	0,014	-0,103	-0,182	-0,024
	Inotrope Score	0,036	-0,798	-1,535	-0,061
	SRIS-CEC	< 0,0001	40,281	23,213	57,350
	Inotrope Score	0,001	5,201	2,494	7,909
	Vasoactive Inotrope Scoring	< 0,0001	2,720	1,982	3,457
Disfunción neurológica	Sepsis postoperatoria	0,002	-2,753	-4,269	-1,238
	Días de estancia	0,007	0,074	0,024	0,123
	Tiempo VM (Horas)	0,002	0,014	0,006	0,022
	Vasoactive Inotrope Scoring	0,002	-0,041	-0,064	-0,019
	SRIS-CEC	0,009	-1,589	-2,684	-0,494

IS	Sepsis	0,001	0,245	-31,233	-11,002
	Tiempo VM	0,002	0,098	0,043	0,153
	Disfunción neurológica	0,041	-4,138	-8,068	-0,208
	Disfunción pulmonar	< 0,0001	17,547	11,461	23,633
	SRIS-CEC	0,008	-11,574	-19,593	-3,554
VIS	Sepsis	< 0,0001	-62,084	-75,744	-48,423
	Tiempo Estancia	0,001	1,535	0,766	2,305
	Tiempo VM	< 0,001	0,306	0,220	0,392
	Disfunción neurológica	0,001	-14,364	-21,696	-7,033
	SRIS-CEC	< 0,001	-38,958	-49,536	-28,380
SRIS-CEC	Sepsis	< 0,001	-1,455	-1,791	-1,120
	Tiempo Estancia	< 0,001	0,037	0,020	0,055
	Tiempo VM	< 0,001	0,007	0,005	0,009
	Disfunción neurológica	0,007	-0,297	-0,498	-0,097
	Inotrope Score	0,012	-0,038	-0,066	-0,010
	Vasoactive Inotrope Scoring	< 0,001	-0,022	-0,028	-0,016
Aristóteles	Tiempo clampaje	0,041	-0,034	-0,067	-0,002
Ampliado	Arritmia	0,04	0,822	0,332	1,311
	Porcentaje aumento MDA1-MDA2	0,019	-0,230	-0,419	-0,040

V. DISCUSIÓN

1. GENERALIDADES

El conocimiento sobre estrés oxidativo y cirugía cardíaca aún se encuentra en plena eclosión. La mayoría de los estudios hasta la fecha se han realizado en modelos animales. No conocemos las concentraciones fisiológicas en humanos de los productos de oxidación ni de los radicales libres. Así mismo desconocemos con exactitud cuáles son los sistemas enzimáticos redox que más influyen en la inflamación ni su funcionamiento fisiológico en los seres humanos. Desde un punto de vista traslacional, también son muchas las cuestiones por aclarar: ¿existe una relación entre el estrés oxidativo y el riesgo cardiovascular?, ¿conseguirían disminuir la incidencia de complicaciones postoperatorias cardiovasculares las terapias antioxidantes (aspirina, α -tocoferol...).

La cirugía cardíaca constituye un escenario ideal para el estudio del daño inducido por isquemia-reperfusión (DIR), al ser procesos reproducibles, con una isquemia larga y una perfusión controlada tras el clampaje aórtico. La CEC no es un modelo puro, pues está “maquillado” por los efectos de la anestesia, la hipotermia, la cardioplejia y la propia circulación extracorpórea, que pueden resultar factores de confusión.

La respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) es una entidad generalizada, no específica, dada por daño a los tejidos, de etiología indeterminada, rápida y altamente amplificada, y con un gran componente humoral y celular. La anestesia es un factor clave que puede ser de confusión, puesto que algunos gases anestésicos pueden afectar a la RIS (Kotzampassi et al 2009). En nuestro modelo, al realizar la primera determinación una vez realizada la inducción anestésica, ya habiendo empleado los medicamentos que se van a mantener en el resto de la CEC, creemos que ese factor queda solventado, al estar todas las muestras obtenidas tras haberse iniciado la anestesia.

Lo que diferencia a nuestro modelo clínico de cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (CEC) de las demás cirugías, es que durante la CEC se hace pasar a la sangre

por una máquina (“corazón-pulmón”) para asegurar la perfusión tisular permitir y el equilibrio entre el aporte y el consumo de oxígeno a los distintos órganos y tejidos. La máquina de corazón-pulmón está compuesta básicamente por un reservorio, al que llega la sangre desde unas cánulas colocadas en las venas cavas, el oxigenador, donde se produce el intercambio gaseoso y al que se añaden los gases anestésicos, un intercambiador de calor para enfriar o calentar la sangre, y los rodillos que impulsan la sangre por los circuitos hasta una cánula colocada en la aorta ascendente. Hay además otros componentes, como aspiradores o cánulas, para administrar la solución cardiopléjica que protege al corazón. Tanto los circuitos como el reservorio son purgados con líquidos para evitar la entrada de aire en el sistema. En nuestro centro se utiliza sólo hemoderivados para el purgado debido a que se han proscrito los coloides sintéticos como el hidroxietil almidón en pediatría. Este último, además de por su efecto diurético, por su efecto antirradicales libres de O₂, que disminuye los efectos de la activación de los neutrófilos.

A pesar de los avances tecnológicos ocurridos desde los inicios en la utilización de la CEC y la mejor comprensión de los distintos mecanismos implicados en la misma, ésta continúa siendo una causa importante de alteraciones relacionadas con la perfusión, el intercambio gaseoso, la hipotermia, las alteraciones metabólicas y la activación de los sistemas hemostáticos e inmunológicos. Estas reacciones pueden potenciarse por la agresión quirúrgica y un síndrome de reperfusión post-isquémico al finalizar la CEC. Inicialmente se identificaron como problemas pulmonares manifestados tras la CEC, pero pronto se hallaron en otros órganos como el riñón, intestino, sistema nervioso y en el sistema hematológico. Dependiendo de las condiciones del paciente o la duración del procedimiento, las alteraciones pueden ser subclínicas, como ocurre en la mayoría de pacientes, o evolucionar a un "síndrome post-perfusión", que puede manifestarse con signos clínicos de disfunción pulmonar, renal, diátesis hemorrágica, hemólisis con fracaso multiorgánico. Estos procesos

son provocados por una respuesta inflamatoria de los componentes sanguíneos, activados por el contacto de la sangre con las superficies no biológicas de los circuitos y membranas de la CEC, y acentuados tras situaciones de mala perfusión tisular. En muchos casos no se sabe bien los factores que llevan al síndrome postperfusión, por lo que el presente trabajo intenta establecer los patrones existentes de estrés oxidativo en la CEC infantil, indagar en las relaciones existentes entre aquel y los diversos factores que modulan la intervención (tiempos, tipo de cardiopatía, edad, raza...) y valorar la correlación que pudiera haber con las analíticas que habitualmente solicitamos en el postoperatorio para así tener más fácil detectar en qué casos se está produciendo aquel síndrome.

La CEC permite sustituir la función de bombeo del corazón y el intercambio gaseoso de los pulmones. Su eficacia se traduce en una buena homeostasia tisular, con los menores efectos secundarios posibles. Como la sangre está en contacto con superficies no biológicas se induce una respuesta inflamatoria sistémica, por lo que es necesario utilizar heparina, hemodilución, un cierto grado de hipotermia y una bomba externa para impulsar el flujo sanguíneo que a su vez la somete a diferentes tensiones físicas y deformaciones. El equipo quirúrgico-anestésico a cargo de la cirugía cardíaca pediátrica trata siempre de contribuir al manejo de los pacientes cuando existe la amenaza de secuelas adversas después de la CEC. Hay varios componentes de la RIS en cirugía cardíaca en los que intervienen los sistemas del complemento, inmunológico y endotelial. Pensamos que las citocinas pueden ejercer efectos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios en respuesta a una gran cantidad de estímulos fisiopatológicos; la tarea que deben realizar entre los dos tipos de éstas es ejercer una homeostasia o equilibrio inmunológico y fisiológico y por ello se plantea en el trabajo la determinación de citocinas de ambos tipos.

En la CEC infantil, que activa mediadores inflamatorios y parámetros de EO y genera peroxidación lipídica, que es máxima tras el clampaje aórtico y mejora tras las primeras 24h, hay un grado de disfunción plaquetaria grave, que se presupone puede ser dependiente de los

tiempos de CEC o clampaje, y se presenta en todos los pacientes, sin saberse bien los mecanismos; esto puede facilitar el sangrado en el PO, que es algo que complica en gran medida el manejo clínico en la unidad de cuidados intensivos pediátricos, así como algo que genera un gasto económico importante (consumo de recursos sanguíneos, como plasma o plaquetas, y de fármacos, como rTPA, fibrinógeno, factor VII..., de alto impacto económico).

Dado que el aumento agudo de los productos de oxidación se produce de manera fisiológica en los seres humanos como respuesta a un estímulo inflamatorio (infeccioso o de otra causa), su finalidad última es la de promover la aparición de radicales libres que estimulan la respuesta inflamatoria celular, la activación del complemento, la quimiotaxis leucocitaria, etc, para responder a dicho estímulo. Además, se ha comprobado como la propia reperfusión de los tejidos isquémicos también conduce a un estrés oxidativo.

Una cirugía cardiaca mediante CEC supone un estímulo inflamatorio importante para el organismo y conlleva la reperfusión del miocardio tras la fase de clampaje. Cualquier cirugía cardiaca mayor, independientemente del uso de circuitos de circulación extracorpórea, produce una activación plaquetaria, leucocitaria, del sistema de la bradiquinina-caliceína, del complemento, etc, que en algunos casos puede llegar a desencadenar el denominado síndrome de respuesta inflamatoria severa (SIRS) (caracterizado por una pérdida masiva de la permeabilidad capilar por una respuesta inflamatoria exacerbada) (*Kubicki et al 2013, Tassani et al 2007*). Sin embargo, hasta ahora no se ha investigado si esta respuesta inflamatoria a la cirugía se acompaña, como es previsible, de un incremento del estrés oxidativo.

Para que los resultados de nuestra actuación en la cirugía cardíaca con CEC sean acordes a la evolución de los conocimientos fisiopatológicos y al desarrollo farmacológico y tecnológico actuales, el anestesiólogo debe estar al tanto de la técnica y coordinar sus

actuaciones con las del perfusionista, para evitar que por una mala comunicación se realicen acciones que obliguen a medidas inútiles o perjudiciales. En nuestro centro el equipo de anestesistas y perfusionistas que ha participado en los pacientes incluidos es siempre el mismo, haciendo que se minimicen los problemas de escaso conocimiento o entendimiento entre los miembros del equipo.

La vasoplejia puede vincularse a la inducción anestésica, especialmente con las drogas utilizadas en los protocolos más modernos con altas dosis de opioides (fentanilo y sufentanilo) y la administración conjunta de altas dosis de midazolam (0,1 mg/kg), cuyo efecto persiste en el período posquirúrgico y se atribuye a la atenuación de mecanismos barorreflejos arteriales y a una vasodilatación dependiente del endotelio.

Como el NO tiene una vida media ultracorta, no hay evidencias directas de que la CEC active su producción. Sin embargo, Ruvolo y colaboradores (*Ruvolo et al 1994*) demostraron que tras 30 minutos de bypass cardiopulmonar, especialmente en los operados con normotermia, hay niveles plasmáticos de nitritos significativamente mayores, que junto con los nitratos son los productos de la rápida degradación del NO. Edmunds, en el año 2000, critica este trabajo, diciendo que los nitritos no son un marcador preciso de la producción de NO, ya que rápidamente se convierten en nitratos, pero no descarta que la CEC estimule la producción de esta molécula. Por ello nosotros hemos escogido el modelo de medición de estrés oxidativo de forma indirecta a través de la capacidad antioxidante (sistema del glutatión) y de los datos de peroxidación lipídica (malondialdehído). En nuestros pacientes intervenidos de cirugía cardíaca, la reperfusión tras la cardioplejia se acompaña de formación de ERO, y se demostraría a través de la medición directa de radicales del oxígeno o la liberación de glutatión cardíaco. Sin embargo, la exposición a agentes oxidantes no equivale a daño. De hecho, la vía del glutatión es uno de los principales mecanismos de defensa endógenos antioxidantes. Las ERO, al oxidar al glutatión (que es liberado activamente en forma extracelular), son inactivadas. Por otro lado, cuando el ataque

oxidativo continúa o se intensifica, se produce peroxidación de los lípidos de membrana que induce disfunción de las organelas, la cual puede culminar en daño ultraestructural, según se documentó experimentalmente. La peroxidación de lípidos insaturados de membrana es una de las principales consecuencias del ataque por ERO, ya que siempre tiene consecuencias deletéreas porque afecta la estructura y la función de las membranas celulares.

2. EDAD INFANTIL

Nuestro trabajo está realizado en la edad pediátrica, que tiene siempre el serio problema de la amplia variabilidad en cuanto a diferentes grados de maduración de los sistemas enzimáticos corporales, lo cual puede hacer en diferentes trabajos que no haya posibilidades de comparar grupos etarios diferentes. Además, algunos de nuestros niños son lactantes y el empleo de lactancia materna puede generar cambios en el estrés oxidativo generado según bibliografía revisada (*Friel et al 2011*). Es poco lo que se conoce actualmente sobre el papel del estrés oxidativo en los niños sin patologías. Los lactantes alimentados solamente con leche materna y aquellos que reciben sólo fórmulas modificadas de leche de vaca, difieren considerablemente en la cantidad y en la composición de los ácidos grasos consumidos, una de las mayores diferencias es el contenido de los AGPI de cadena larga. Entre estos AGPI con 20 a 22 átomos de carbono, los AGPI-3 y los AGPI-6 constituyen el 2% de los ácidos grasos totales en la leche humana, pero no son detectables en las fórmulas comerciales más comúnmente usadas. Si bien varios estudios han indicado el papel protector de estos ácidos grasos en la prevención de los efectos citotóxicos causados por la formación potenciada de ERO, otros ensayos han tenido resultados contradictorios, viendo que los valores de MDA eran dos veces más altos en el plasma de lactantes alimentados con leche materna en comparación con los que recibían fórmulas lácteas

modificadas de leche de vaca, no difiriendo la capacidad antioxidante entre los dos grupos de niños estudiados (*Michalski et al 2008*). El hallazgo de que la prueba del ácido tiobarbitúrico en niños sanos alimentados a pecho tiene valores más elevados que en el plasma de los alimentados con fórmulas, se estudió por medio de determinaciones adicionales de peroxidación lipídica. Estas observaciones son de especial relevancia ya que las fórmulas infantiles comerciales son actualmente suplementadas con AGPI de cadena larga, tales como el ácido araquidónico y el docosahexaenoico, lo que proporciona un nuevo abordaje con implicaciones aún parcialmente definidas. Por ello hemos de aclarar que nuestros pacientes lactantes incluidos en el estudio no tenían lactancia materna como alimentación principal, siendo en todos ellos lactancia artificial o mixta con predominio de artificial.

En nuestra serie, como posteriormente discutiremos, se observa una tendencia clara hacia un aumento de la actividad oxidativa y una disminución de la antioxidante de forma secundaria a la cirugía extracorpórea. Las especies reactivas del oxígeno son generadas rápidamente en el miocardio posisquémico. Diversos tipos celulares y enzimas contribuyen al incremento de su producción y al estrés oxidativo asociado con isquemia y reperfusión.

3. EPIDEMIOLOGÍA DE NUESTRA SERIE

Las respuestas anómalas en EO o agregación plaquetaria no se justifican por malnutrición en esta serie, dado que los pacientes se encuentran en sus variables antropométricas dentro de valores normales, llevados al terreno de desviaciones estándar, para poder ser comparados con otras poblaciones similares, siempre con alusión a unas tablas de referencia, en este caso las de los estudios longitudinales del crecimiento españoles de Carrascosa et al de 2010. En nuestro país, las curvas y tablas de crecimiento de Hernández et al, publicadas en los años 80, cuyos datos antropométricos fueron recogidos entre 1977 y 1984 en el área de Bilbao, sustituyeron a las procedentes de otros países,

gozando de una amplia difusión y contrastada utilidad clínica. Sin embargo, existía la necesidad de actualizar los patrones de referencia antropométricos para su adaptación a la presumible aceleración secular del crecimiento. En el año 2003 se publicaba el estudio transversal enKid de Serra-Majem et al, cuyas valoraciones antropométricas fueron registradas entre los años 1988 y 2000 entre las diferentes comunidades autónomas, y que permitieron configurar unas curvas y valores de referencia para la tipificación ponderal de la población infantil y juvenil españolas. En el año 2008, posteriormente matizado en ampliación del año 2010, se publicaba el estudio transversal español de crecimiento de Carrascosa et al, cuyas valoraciones antropométricas fueron registradas entre los años 2000 y 2004, y que aglutinaba datos de estudios procedentes de poblaciones de Andalucía, Barcelona, Bilbao y Zaragoza, ampliándose con Madrid en 2010, con objeto de obtener valores de talla, peso e índice de masa corporal que pudieran servir como estándares de referencia del crecimiento infantil. Este es el trabajo elegido dado que se asume que los estudios poblacionales (regionales y/o nacionales) actualizados son los más adecuados para valorar el crecimiento y desarrollo infantil, desde un punto de vista clínico y también como indicadores socioeconómicos; además ha permitido elaborar gráficas diferenciadas según el patrón de maduración (precoz, intermedio y tardío), para varones y mujeres.

Nuestra serie tiene una predominancia del sexo femenino en los pacientes, pero no creemos que eso sea ninguna clase de sesgo ya que no se ha descrito diferencias en el estrés oxidativo entre diferentes sexos en la infancia. Sí es verdad que se ha descrito que el patrón de envejecimiento asociado a producción de especies reactivas de oxígeno es diferente entre hombres y mujeres a edades avanzadas. Las mitocondrias son la fuente principal generadora de radicales libres en las células; diferentes trabajos experimentales han demostrado que las mitocondrias aisladas de ratas hembra producen aproximadamente la mitad de peróxidos en comparación con las mitocondrias aisladas de sus congéneres machos; además, los valores

de glutatión son mayores en mitocondrias aisladas de ratas hembra en comparación con los valores obtenidos en los machos; todas estas diferencias se deben a una mayor expresión de las enzimas antioxidantes glutatión peroxidasa y Mn-superóxido dismutasa en las ratas hembra respecto a los machos. Las mujeres se comportan como dobles transgénicos y sobreexpresan estas 2 enzimas antioxidantes, lo que les confiere una protección extra frente al estrés oxidativo asociado al envejecimiento (*Viña et al 2004*).

Las cirugías realizadas representan a todas las opciones quirúrgicas posibles que impliquen clampaje aórtico en pediatría. Es raro tener que realizar cirugía extracorpórea en adultos por malformaciones congénitas, pero, si ocurre, hay multitud de factores que afectan a los resultados quirúrgicos (pluripatología, medicamentos previos por otras enfermedades, cirugía previa, variantes menos agresivas de patología cardíaca...); por ello nuestro modelo infantil es tan necesario, siendo la edad pediátrica el momento donde más patología cardíaca congénita se corrige y donde menos interferencias habrá en la cirugía por parte de patologías asociadas o ingesta de medicamentos previa. Todos nuestros casos se incluyen en su primera cirugía cardíaca, excepto el caso de corrección de Fontan (tenía dos cirugías previas) y el Glenn (una previa).

Es lógico pensar que el abordaje que implique sección de bandas musculares de miocardio o sutura sobre las mismas, con su consiguiente daño al miocardio, pueda originar peor situación postoperatoria, no habiéndose realizado estudios comparativos en niños con malformación cardíaca congénita. Ninguno de nuestros pacientes se ha intervenido mediante apertura directa ventricular, aunque sí tenemos varias cirugías que han implicado actuación directa en musculatura ventricular (derecha o izquierda), como son la corrección de la tetralogía de Fallot, la ampliación de una estenosis aórtica y de una estenosis pulmonar, siendo éstas formas subvalvulares que requieren de sección de trabéculas musculares para ampliar el tracto de salida del ventrículo correspondiente. El manejo quirúrgico del Fallot incluye la resección del músculo infundibular que obstruye el tracto de salida, el cierre de la

C.I.V. y algunas veces agrandamiento con parches del tronco, la válvula pulmonar y el infundíbulo del ventrículo derecho. En nuestra serie se ha realizado abordaje quirúrgico extracardiaco en 7 casos, lo cual podría implicar diferentes resultados en el postoperatorio a nivel de enzimas cardíacas, láctico o de estrés oxidativo en base al no estímulo quirúrgico de la musculatura cardíaca.

En lo referente al tiempo total de circulación extracorpórea, el p50 corresponde a 79 minutos, es un tiempo no demasiado alto, esto se explica por el grado de complejidad de las cirugías incluidas durante ese período. Sólo 9 pacientes tuvieron tiempos de circulación extracorpórea mayores de 90 minutos y sólo 5 de ellos un clampaje aórtico mayor de 60 minutos. Ello genera una ventilación mecánica muy acotada en el tiempo (casi todos menor de 24 horas) y una estancia media corta (2 días de mediana), con algunos casos claramente por encima (un 25% estuvieron más de 7 días), lo cual genera un dato que deberá ser comprobado en sus relaciones con otras variables que pudieran ser predictores de días de estancia.

En la serie se presentan 6 casos de arritmia, siendo uno de ellos taquicardia ventricular no sostenida, sin repercusión. Las taquicardias ventriculares sostenidas (TVS) son monomorfas en el 53% de los casos, relacionándose con escaras o zonas cicatriciales (isquémicas o por suturas incisiones). Por suerte, la incidencia de estas arritmias graves es pequeña, del 0,4-1,98%, en alguna serie se habla del 3,1% o hasta el 8,5% (*Steinberg 1999*). El pico de incidencia de la TVS se sitúa en las 48 horas del postoperatorio (media 3,9 días), como ha ocurrido en nuestro paciente (*Yeung-Lai-Wah et al 2004*). Su aparición tardía a partir de las 48-72 horas de la intervención se asocia a un peor pronóstico, con mortalidad hospitalaria del 16,7-44,4%, una recurrencia del 40% y un riesgo de muerte súbita a los 24 meses del 20%. En 2 pacientes apareció bloqueo AV completo, precisando marcapasos externo, aunque de forma transitoria, y esteroides. El bloqueo auriculoventricular es una

arritmia cardiaca frecuente después del cierre de defectos septales, como ha sido el caso de nuestra serie (una CIV y un postoperatorio de Glenn) y se debe fundamentalmente al trauma quirúrgico que produce edema o lesión del sistema de conducción. Finalmente, se aprecia sólo tres casos que tuvieron ritmos nodales.

4. PARÁMETROS ANALÍTICOS GENERALES

Se han estudiado diversos marcadores analíticos que puedan servir para diferenciar la respuesta inflamatoria sistémica de origen infeccioso del resto de las causas en la infancia, siendo, en la práctica clínica, los más utilizados son el recuento leucocitario y la proteína C reactiva (PCR). No obstante, es muy frecuente observar aumentos significativos de ambos marcadores, tanto en el SRIS de origen infeccioso como no infeccioso. Además, la PCR se empieza a elevar a las 4–6 horas tras el estímulo y alcanza valores máximos tras las 36–50 horas, lo que en ocasiones retrasa el inicio del tratamiento antimicrobiano. Eso se puede apreciar en nuestro trabajo en cuanto a no subida aún en primera determinación postoperatoria y sí tras 18-20 horas de la cirugía (media de 50 mg/L), con subida aún persistente en las 48 horas postoperatorias (47 mg/L).

La procalcitonina (PCT) es la prohormona de la calcitonina. Numerosos estudios han demostrado la utilidad de la PCT para el diagnóstico, el pronóstico y la monitorización terapéutica en la sepsis en niños, y se considera que la PCT es un parámetro analítico más útil que la PCR para detectar de forma precoz infecciones bacterianas. En nuestro trabajo es importante detectar la cinética de ascenso de la PCR y de la PCT, como se pueden apreciar en la figura 5, para así poder determinar sus nuevos ascensos en días posteriores y anticiparnos a la aparición de una posible infección bacteriana en el postoperatorio inmediato.

En otras publicaciones se pueden observar cifras de PCT de hasta 1 ng/ml en la cirugía menor y la neurocirugía, 2ng/ml en la cirugía torácica e, incluso, 10ng/ml en la cirugía mayor abdominal. Varios trabajos han estudiado la cinética de la PCT en el postoperatorio de la cirugía cardíaca en adultos y niños (*Crespo Marcos et al 2010*), aunque los resultados de estos estudios no han sido concordantes. Algunos no han encontrado cambios en la PCT; otros, ligeros aumentos menores de 2ng/ml, mientras que otros describen valores de 3,5–5ng/ml, más similar a nuestros resultados. En nuestra serie, el valor máximo se alcanza a las 24 horas, permaneciendo estable unas 24–48 horas y disminuyendo después de forma progresiva, con cifras medias de 4 ng/mL entre las 24 y 48 horas, llegando en algunos casos a 10 ng/mL. Hiperprocalcitonemias por encima de lo mencionado o persistentes deberían, por ello, hacernos pensar firmemente la presencia de complicaciones infecciosas.

Uno de los principales determinantes de la morbilidad y mortalidad posoperatoria en la cirugía cardíaca es el infarto de miocardio agudo perioperatorio. Su prevalencia es de cerca del 9,4% en la cirugía cardiovascular en general y del 16,9% en la revascularización miocárdica con clampaje aórtico (*Locker et al 2003*). En circunstancias normales, los marcadores enzimáticos para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio (IMA) no constituyen un gran problema. En el contexto de la cirugía cardíaca y especialmente en la de revascularización miocárdica, su interpretación es mucho más difícil, pues además del daño miocárdico que puede ser producido por un proceso isquémico per se, existe daño miocárdico y no miocárdico secundarios a la manipulación quirúrgica. El mero hecho de ser sometido a una circulación extracorpórea produce un aumento de los marcadores bioquímicos cardíacos a la media hora de la reperfusión. Durante la cirugía de revascularización miocárdica hay liberación de marcadores miocárdicos. Esta liberación tiene un significado funcional, estrechamente relacionado con el tiempo de isquemia y

refleja la demora en la recuperación de la función ventricular izquierda y del metabolismo oxidativo, o sea, demuestran daño miocárdico que puede ser reversible. Muchos de los marcadores bioquímicos propuestos para detectar el daño miocárdico también son liberados por otras estructuras, como el músculo esquelético.

El complejo troponina está compuesto por tres subunidades proteicas, unidas laxamente, que desempeñan cada una de ellas un papel específico en el control de la contracción muscular. La troponina T presenta gran afinidad por la tropomiosina, la troponina C por los iones de calcio y la troponina I es el componente inhibitorio del complejo troponina. Esta última es la que nosotros medimos en nuestro laboratorio, dado que en el miocardio humano existe una sola forma isoforma de troponina I que contiene una secuencia de aminoácidos específica en el extremo N terminal que está ausente en la isoforma de la troponina I del músculo esquelético. Esta secuencia de aminoácidos no se ha encontrado en otros tejidos. La troponina I se distribuye uniformemente en aurícula y ventrículo. Se ha evidenciado que la presencia de troponina I en la circulación periférica es altamente específica de lesión miocárdica. Varios autores han estudiado los cambios de la troponina T en el postoperatorio de la cirugía con circulación extracorpórea.

El presente trabajo pretende conocer la utilidad de las determinaciones de CPK-MB y de Troponina I para detectar posibles procesos de isquemia miocárdica después de la cirugía cardiaca. Podemos apreciar claramente cómo, en los pacientes sin infarto agudo de miocardio perioperatorio, los valores de CPK-MB y Troponina I en el postoperatorio de Cirugía Cardiaca son crecientes en primeras 24 horas, quedando en siguientes 24 horas estables y comenzando a decrecer desde la segunda determinación. Con esa cinética estudiada, las determinaciones de CPK-MB y troponina en el postoperatorio de Cirugía Cardiovascular nos permiten detectar procesos de isquemia transitoria o permanente con ausencia o no de necrosis siempre que se aprecie ascenso demasiado elevado o no descenso

en el momento correcto. Creemos que se debe realizar determinación de CPK-MB y troponina el postoperatorio de cirugía cardiaca a todos los pacientes pediátricos.

En nuestra serie, al identificar de forma distinta a los pacientes según el abordaje quirúrgico, queda claro que la troponina y la CPK-MB suben de forma más marcada en los pacientes que han necesitado ventriculotomía que en los que no (figura 6), de forma estadísticamente significativa.

Las concentraciones de lactato en sangre arterial constituyen un parámetro certero para evaluar el estado hemodinámico en pacientes intervenidos quirúrgicamente por cirugía cardiaca. En general, el llamado Síndrome de bajo gasto cardíaco conduce a un deterioro importante de la circulación periférica y a altas concentraciones de lactato. Después de una cirugía cardiaca, para corregir cardiopatías congénitas, estas elevadas concentraciones de lactato se asocian con morbilidad elevadas (*Shine 2001*). Los cambios metabólicos que ocurren en el perioperatorio de la cirugía cardiaca resultan de una compleja interacción, debido a respuestas inflamatorias al trauma quirúrgico, uso de hipotermia, respuestas neuroendocrinas, uso de vasopresores y productos sanguíneos; por lo que un mejor control de los desequilibrios metabólicos mejoraría el resultado de los pacientes, de tal manera, las cuantificaciones de lactato sérico son ampliamente usados para enjuiciar si la perfusión hística es adecuada. Aun así, las concentraciones sanguíneas de lactato y su relación con el pronóstico de los pacientes pediátricos que necesitan circulación extracorpórea (CEC), no se han estudiado ampliamente en población pediátrica. En nuestra serie, los niveles de lactato se incrementaron en el postoperatorio inmediato de forma estadísticamente significativa, incluso superando los 4,0 mmol/L en un 25% de casos, con posterior mejoría precoz en la mayoría de los pacientes (vuelta a normalidad en postoperatorio tardío).

En lo referente a la creatinina, se aprecia igualmente un ascenso en sus cifras medias en las primeras horas postoperatorias, pero sin llegar a ser mayor del 25%, quedando, sin

embargo, 14 de ellos catalogados como disfunción renal (aplicando el criterio de aumento de creatinina mayor de un 20%), de los cuales sólo dos pacientes necesitaron técnica de reemplazo renal.

5. EXTRA E INTRACARDIACA

Si se analiza la diferencia de medias entre las diferentes variables descriptivas según hay habido ventriculotomía o no en el acto quirúrgico, se aprecia que las variables entre las que se encuentra diferencias estadísticamente significativas son: glutatión total y reducido en PO1 (descenso que implica un consumo de agentes antioxidantes), agregación inducida por ADP en PO2, IL6 en PO2 y TNFalfa en PO2.

La figura 8 refleja las comparativas de los parámetros de estrés oxidativo e interleuquinas en los tiempos postoperatorio inmediato (PO1) y tardío (PO2), para que se pueda apreciar visualmente la cinética de esas variables y su diferencia según tipo de cirugía tras haberlas agrupado en aquellas con abordaje intracardiaco (auriculotomía y ventriculotomía) y aquellas extracardiacas.

6. AGREGACIÓN PLAQUETARIA Y TIEMPOS DE SANGRADO

La mayoría de los estudios de agregación plaquetaria en humanos se han realizado en adultos, siendo aislados los encontrados en niños (*Yip et al 2013*). Nuestro trabajo está realizado en la edad pediátrica, que siempre tiene el serio problema de la amplia variabilidad en cuanto a diferentes grados de maduración de los sistemas enzimáticos corporales, lo cual puede hacer en diferentes trabajos que no haya posibilidades de comparar grupos etarios diferentes, para lo cual es una ventaja que nuestro grupo sea bastante homogéneo en términos de edad.

Las plaquetas descienden en números absolutos, consecuencia, por una parte, de la adhesión a las superficies del circuito y filtros, y por otra, por efecto de la hemodilución (*Mejak et al 2013*). Se ha publicado que estos descensos alcanzan como término medio un 45% de los valores iniciales. La hipotermia que se aplica en algunos casos puede colaborar a la trombocitopenia por un efecto de secuestro transitorio en el organismo. Cuando se utilizan oxigenadores de burbuja, la interfase sangre-aire da lugar a la destrucción de un buen número de plaquetas. Las plaquetas que persisten presentan un cierto grado de trastorno funcional, denominado trombocitopatía adquirida (*Martin et al 1996*) consecuencia de la degranulación, de la hipotermia, por pérdida de los receptores de membrana, situaciones que hacen que las plaquetas respondan con una menor sensibilidad a los agentes inductores de la adhesión y agregación plaquetaria, en nuestro trabajo empleados Col, ARA, ADP (*Lancé et al 2013*). Por ello suele ser normal ver niveles no muy bajos de plaquetas en el postoperatorio de CEC pero con mala función de las mismas. Como agonistas plaquetarios, en nuestro trabajo, se ha empleado el ADP al ser una sustancia liberada por los gránulos densos, araquidónico por ser liberado por la propia plaqueta para convertirse en tromboxano A2 y colágeno por ser un componente endotelial, y así haber podido explorar las diferentes formas de agregación (*Paniccia et al 2009*).

En 1980, Cardinal y Flower desarrollaron un método por el que la agregación plaquetaria se puede medir en sangre completa mediante impedancia eléctrica, en donde se coloca una muestra de sangre en una cubeta o recipiente a 37°C, se colocan dos electrodos de platino a distancia fija y entre los electrodos se aplica una corriente eléctrica.

La adición de un agonista (ADP, colágeno o araquidónico en nuestro trabajo) estimula la agregación de las plaquetas en la superficie de los electrodos, lo que impide el flujo de la corriente eléctrica. El aumento en la resistencia al flujo de electricidad es proporcional a la agregación de las plaquetas en torno a los electrodos y se genera una curva

de agregación. En estudios comparativos se reporta que esta técnica proporciona resultados similares a los que se obtienen con el método clásico (turbidimétrico) y que es superior para vigilar tratamientos antiplaquetarios y en el diagnóstico y seguimiento de estados de hiperactividad plaquetaria. Al igual que la agregometría convencional, la agregación por impedancia en sangre completa es relativamente insensible a la presencia de agregados de plaquetas. Este examen también requiere de técnicos expertos y es significativamente más costoso. La agregometría plaquetaria no se debe utilizar como estudio general sin una indicación o sospecha específica. Ante una trombocitopenia menor a $100 \times 10^9/L$, la agregometría plaquetaria no dará resultados válidos o confiables y se deberá esperar hasta tener una cifra de plaquetas mayor para realizar la prueba.

Se justifica el descenso de actividad plaquetaria por una posible preactivación in vivo. Se demuestra en nuestro estudio que la alteración de la agregabilidad plaquetaria persiste durante las primeras 24 horas pero no se correlaciona de forma importante con el ritmo de sangrado, dado que esos pacientes reciben frecuentemente fármacos (como protamina como inhibidor de la heparina empleada en la CEC) y transfusiones de plasma y plaquetas en quirófano, así como, en otras ocasiones, ya en la unidad de intensivos. En nuestra serie, todos los pacientes han recibido transfusión de concentrado de plaquetas en quirófano, siendo en la mayoría de casos acabada dicha transfusión a la llegada a la UCIP, estando la muestra segunda (PO1) extraída de forma paralela sin haberse recibido esa transfusión y, por ello, sin que esas plaquetas sean valoradas en el test de agregación realizado en ese momento. Sin embargo, al haber recibido transfusión de ese hemoderivado todos los niños en quirófano en cantidades similares (no diferencias estadísticamente significativas entre unos grupos de pacientes y otros), la variable de agregación en el postoperatorio tardío no se ve influida en sus diferencias por las plaquetas recibidas en quirófano, debiendo ser valorada la correlación que pudiera existir con las recibidas ya en la unidad de cuidados intensivos en esas primeras 12-18 horas.

Como es lógico, en nuestro trabajo se comprueba que los pacientes con mayor drenaje en las primeras 24 horas del postoperatorio son los que mayor necesidad de hemoderivados tienen. Además se demuestra que la alteración en la agregación no es dependiente de los tiempos de circulación extracorpórea ni de clampaje aórtico, pero sin embargo que la hipoagregación plaquetaria sí contribuye al mayor ritmo de sangrado en primeras 8 horas. El drenaje en las primeras 24 horas de estancia en cuidados intensivos sí es claramente dependiente del tiempo de circulación extracorpórea y en menor grado del tiempo de clampaje (*Wallen et al 2004*), lo cual nos debe hacer concluir que el sangrado postquirúrgico depende en menor grado de la alteración de la agregabilidad plaquetaria que de los otros factores implicados en la hemostasia.

Existen estudios en adultos (*Whaba et al 2001*) en los que, sometidos éstos también a cirugía extracorpórea, las plaquetas se comportan de forma similar, justificándose el descenso de actividad de esta misma por una posible preactivación in vivo.

7. ESTRÉS OXIDATIVO

Para combatir el estrés oxidativo, existen distintos mecanismos enzimáticos y no enzimáticos que protegen frente al efecto tóxico de los oxidantes (*Ruel et al 2005*). Los mecanismos enzimáticos incluyen a la SOD, a la catalasa y a la glutatión peroxidasa (GPx); y los no enzimáticos al glutatión (GSH), la ubiquinona, los flavonoides, el alfa-tocoferol, el retinol y otros carotenos (*Urso 2003*).

El glutatión constituye un elemento central en la defensa antioxidante. Es un pequeño tripéptido constituido por ácido glutámico, cisteína y glicina. Es el grupo sulfhidrilo de la cisteína, el responsable de la capacidad neutralizadora de los radicales libres. Se encuentra prácticamente en todas las células pero la mayor parte es sintetizada en el hígado. Es posible

que el glutatión inhiba enzimáticamente la peroxidación, actuando a nivel de la glutatión peroxidasa unida a la membrana, que reduce los hidroperóxidos fosfolipídicos. Son varios los sistemas enzimáticos que han aprovechado el enorme potencial reductor de este péptido: glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y glutatión transferasa.

Estos sistemas antioxidantes son insuficientes en condiciones que dan lugar a la producción de radicales libres en gran cantidad como la exposición ionizante, infecciones, determinadas toxinas y en la isquemia, sobre todo si ésta se sigue de reperfusión. En estos casos, los radicales libres son un importante mecanismo productor de daño tisular, siendo uno de los principales órganos diana la fracción lipídica de la membrana.

En nuestros pacientes intervenidos de cirugía cardíaca, la reperfusión tras la cardioplejia se acompaña de formación de ERO, y se demostraría a través de la medición directa de radicales del oxígeno o la liberación de glutatión cardíaco. Sin embargo, la exposición a agentes oxidantes no equivale a daño. De hecho, la vía del glutatión es uno de los principales mecanismos de defensa endógenos antioxidantes. Las ERO, al oxidar al glutatión (que es liberado activamente en forma extracelular), son inactivadas. Por otro lado, cuando el ataque oxidativo continúa o se intensifica, se produce peroxidación de los lípidos de membrana que induce disfunción de las organelas, la cual puede culminar en daño ultraestructural. En el modelo de CEC infantil de nuestro trabajo, se aprecia que se favorece la génesis de estrés oxidativo y se genera peroxidación lipídica, siendo todo ello máximo en la reperfusión inmediata y mejorando tras las primeras 24 horas (tendencia clara hacia un aumento de la actividad oxidativa y una disminución de la antioxidante), pero se puede apreciar que no llega a valores normales en el tiempo 3 tras 18-20 horas en ningún caso, habiendo diferencias significativas entre valores PRE y PO₂, incluso conllevando correlaciones significativas con indicadores pronósticos como la presencia de SRIS-CEC. Los radicales de oxígeno son metabolitos altamente tóxicos que causan la peroxidación lipídica y el daño de las membranas celulares, que a su vez, conducen a la fuga capilar y la

inducción de moléculas de adhesión en shock. Este proceso puede activar los macrófagos en el hígado, causando la síntesis de mediadores proinflamatorios tales como TNF- α y la IL en estado de shock (*Tsai et al 2007*). La peroxidación lipídica se cree que es una causa importante de daño oxidativo a las membranas celulares, y eventualmente, de muerte celular. El MDA es un buen indicador de la lesión oxidativa y un producto final de la peroxidación lipídica. El glutatión es crucial en la defensa celular contra el daño oxidativo.

Además de sus actividades antioxidantes, GST tiene un número de funciones importantes en el transporte de aminoácidos a través de membranas, en la síntesis y degradación de proteínas, en la regulación génica, y en la regulación redox celular. La movilización de GST se ha demostrado estar aumentada en los animales sépticos, con un aumento de su utilización (*Berger 2007*), de forma análoga a lo que se puede ver en nuestro modelo de CEC. Por lo tanto, la posibilidad de alterar su disponibilidad es algo muy atractivo, pero aún se carece de ensayos con criterios de valoración clínicamente relevantes.

8. INTERLEUQUINAS

La CEC es una modalidad de circulación controlada, fundamental para corregir o paliar la mayoría de las cardiopatías congénitas. Junto con la injuria tisular provocada por la incisión quirúrgica, la CEC es capaz de provocar una onda de activación inflamatoria por medio de activación celular y liberación de mediadores inflamatorios (*Seghaye 2003*) que puede asociarse a manifestaciones clínicas con la aparición de fiebre, disfunción miocárdica (por injuria mecánica, isquémica e inmunológica) y/o vasoplejía, observándose hipotensión; signos de bajo gasto con hipoperfusión e hipoxia tisular; insuficiencia renal aguda; lesión pulmonar aguda, síndrome de distrés respiratorio agudo; discrasias sanguíneas, síntomas

neurológicos y fuga capilar. Esto aumenta la morbimortalidad y hace que el tiempo de estancia en la UCIP se prolongue (*Soares et al 2010*).

El aumento de la inestabilidad hemodinámica en cirugía cardíaca, puede resultar del importante aumento de citoquinas proinflamatorias, como la IL-6. Parece haber una clara unión entre los mediadores inflamatorios inducidos por la bomba y el miocardio aturdido posterior a CEC, isquemia, disfunción y desensibilización β -adrenérgica. Anormalidades en el movimiento de la pared ventricular izquierda y episodios de isquemia miocárdica después de la CEC se correlaciona con un aumento en las concentraciones de IL-6 y de IL-8.

Hövels-Günch en 2002 ha documentado la asociación entre la producción de citocinas proinflamatorias y el desarrollo de daño celular miocárdico en neonatos. La correlación entre los niveles postoperatorios de citocinas y troponina-T sugiere una relación de causa entre inflamación y daño celular miocárdico, demostrado esto en modelos animales (*Vázquez-Jiménez et al 2001*).

Usualmente la respuesta inmune es autolimitada y tiende a normalizarse en las primeras horas del postoperatorio, dependiendo del tiempo de isquemia, bomba y cirugía. Se pueden evidenciar dos fases, una inicial proinflamatoria con incremento en la actividad celular (leucocitosis de todas las líneas – polimorfonucleares y linfocitos) con la consecuente degranulación y posterior disminución en la actividad de estas células (*Martín et al 1996*); se mantiene durante las primeras 12 a 24 horas de iniciada la circulación extracorpórea. La segunda es la fase anérgica, fase antiinflamatoria, dada por receptores de citocinas solubles, antagonistas de receptores a las citocinas y por citocinas proinflamatorias también producidas en grandes cantidades. Entre las citocinas antiinflamatorias está la interleucina-10 (IL-10). De un adecuado balance entre estas dos fases dependerá la recuperación o el daño de órganos.

Pocos son los trabajos que estudian este aspecto en edad pediátrica (*Tárnok 2001*, *Erden-Inal 2002*), siendo sobre todo en adultos donde se resalta que los niveles pico de IL 6

se correlacionan con el grado de disfunción miocárdica y con el tiempo de clampaje. De hecho, en los últimos años se ha estandarizado el empleo de dosis de esteroides de forma intraoperatoria para modular esa respuesta inflamatoria (*Nebelsiek et al 2012*), lo cual es lo mismo que se aplicó en nuestro protocolo quirúrgico y que todos nuestros pacientes cumplieron.

El contacto de la sangre con el circuito de circulación extracorpórea da lugar a la producción de multitud de mediadores que pueden activar el endotelio vascular y promover la generación de EO y PL. Como podemos demostrar en nuestro estudio, se activan tanto citoquinas proinflamatoria (sobre todo la IL-6) como antiinflamatorias (sobre todo la IL-10), siendo máximo en la reperusión inmediata y mejorando tras las primeras 24 horas, aunque sin volver aún al nivel normal basal. Hay trabajos que afirman que la máxima elevación de IL-6 se produce tras 2 horas de la incisión quirúrgica, lo cual coincide con lo encontrado en nuestro trabajo, dado que la mediana de tiempo de CEC es de 79 minutos y la muestra PO1 se extrae tras ese momento.

La activación de TNF α no parece una ruta empleada por el organismo en este tipo de cirugía, dada la nula modificación de sus cifras en los diferentes momentos de extracción, sin significación estadística en sus cambios. La IL-1 no se eleva, a diferencia de la IL-6, pese a ser proinflamatoria, estando de hecho algo disminuída, en el postoperatorio inmediato y se mantiene levemente descendida en las primeras 24 horas respecto a su nivel basal. La IL-1 suele ser liberada por los macrófagos, monocitos y células dendríticas en respuesta al TNF α , por lo que es entendible que si no se aprecia elevación de éste, la IL-1 quede sin apenas cambio. Hay trabajos publicados en los que, tras cirugía mayor, no pudo determinarse el TNF α , quizás debido a su cinética, con un rápido incremento y una vida media corta, aunque hay otros trabajos que describen un pico temprano a las 2-3 horas del final del tratamiento de patología de aorta y otro más tardío alrededor del tercer día. De hecho hay trabajos que

afirman que el $\text{TNF}\alpha$ ya está elevado tras la anestesia y justo antes del despertar, lo cual en nuestro estudio quedaría descartado dado que la primera muestra se obtiene tras la inducción anestésica, previo a incisión quirúrgica.

La IL-1 activa el eje hipotálamo-hipofisario causando la liberación de glucocorticoides. Los macrófagos responden a la IL-1 liberando prostaglandinas E_2 (PGE_2) en las células endoteliales y las células del músculo liso y produciendo $\text{TNF}\alpha$. La PGE_2 puede inhibir la producción de IL-1 por parte del macrófago, generando un proceso autolimitante. Además, la IL-1 induce su propia síntesis y la producción de $\text{TNF}\alpha$ e IL-6. La precoz y breve respuesta de la IL-1 β a la cirugía siempre precede a la respuesta de la IL-6, lo que reafirma el concepto de que la IL-1 β induce la síntesis de IL-6. Sin embargo, los valores de IL-1 son tan bajos que no son detectados en una única muestra de sangre y sólo pueden obtenerse resultados positivos por muestreos frecuentes.

A pesar de estas observaciones, no es posible aún determinar el valor pronóstico de los niveles de IL-6 o los beneficios del uso de anticuerpos contra la IL-6, que modularían la actividad de la interleuquina libre. No deja de ser interesante preguntarse si los niveles de IL-6 que se producen durante el estrés quirúrgico de pacientes quirúrgicos cardiovasculares pediátricos estarían involucrados en los efectos inotrópicos negativos que tan frecuentemente se observan durante estas intervenciones mediante la interacción con las drogas anestésicas.

Láctico, troponina y CPKmb se correlacionan de forma estadísticamente significativa con la activación de IL6 e IL10, sobre todo demostrado en los primeros momentos postquirúrgicos. La PCT se correlaciona claramente con activación de IL-6 y no con la antiinflamatoria IL-10, lo cual confirma la PCT como un marcador de SRIS válido en el postoperatorio de cirugía cardiovascular. No ocurre igual con la PCR, que no sufre subida en primeras horas con un inicio de ascenso a las 18-20h, por lo que no es válido como marcador predictor de SRIS en condiciones de ausencia de infección bacteriana en el postoperatorio.

9. CORRELACIONES ENTRE ANALITOS SEGÚN TIEMPOS DE CLAMPAJE Y CEC

Existe una correlación directa y estadísticamente significativa entre el tiempo de CEC y el aumento en el postoperatorio inmediato (PO1) de CPKmb, troponina, lactato, GOT, IL-6, IL-10, así como a las 24 horas (PO2) con troponina, GOT, PCT, agregación inducida por colágeno, IL1b, IL-6 e IL-10.

Valorando el tiempo de clampaje aórtico, en nuestra muestra se demuestra una correlación directa y estadísticamente significativa con el aumento en el postoperatorio inmediato (PO1) de CPKmb, troponina, lactato, GOT, IL-6, IL-10, así como a las 24 horas (PO2) con troponina, GOT, MDA, agregación inducida por colágeno, IL-6.

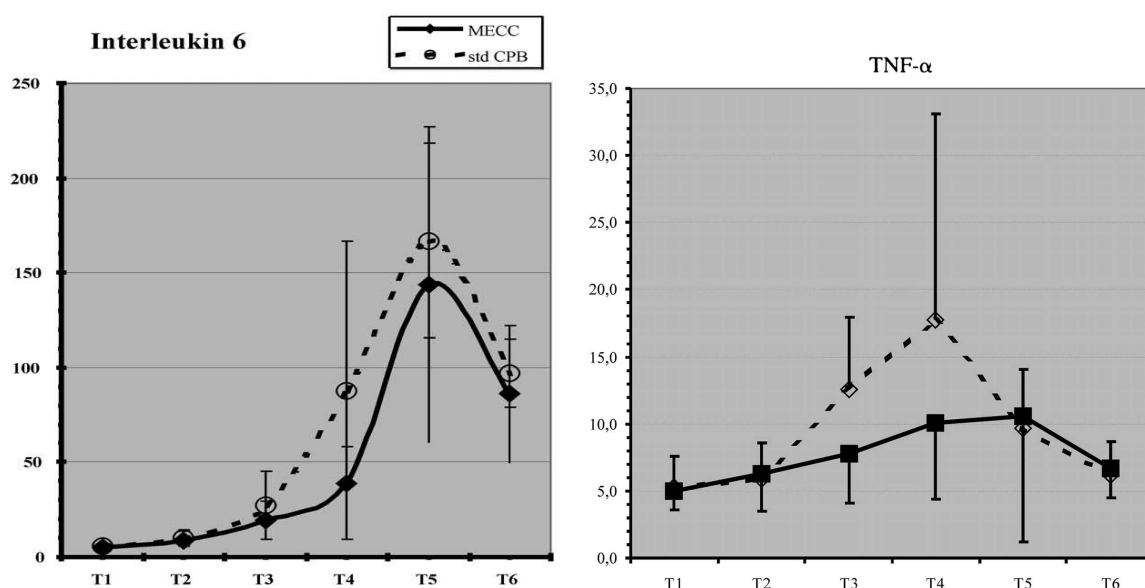
El TNF α no se correlaciona con los tiempos de CEC ni de clampaje en ningún caso en nuestro trabajo, a diferencia de lo publicado por otros autores (*Fromes Y et al 2002*), lo cual tiene bastante importancia pues se postula al TNF α como causante de efectos inotrópicos negativos directos, lo cual sería muy importante en pacientes que tengan mala función cardíaca preoperatoria o en aquellos en los que se salga de bomba ya en disfunción miocárdica. Tenemos que tener en cuenta que prácticamente todos nuestros pacientes ya salen con milrinona en el postoperatorio como protector miocárdico en el protocolo quirúrgico cardiovascular de nuestro centro.

Como se puede apreciar la elevación del MDA (identificando daño por peroxidación lipídica, lo cual traduce un mayor estrés oxidativo) es dependiente de los tiempos de clampaje aórtico pero no en cambio de los de circulación extracorpórea total. Esto se puede comparar con lo encontrado en trabajos publicados por otros grupos como el de *García de la Asunción et al 2013*.

El tiempo de CEC, en nuestro trabajo, sí tiene correlación significativa con variables de consumo de antioxidantes (tabla 12). Esto va muy en contra de lo encontrado por otros autores, como Zweier JL et al que apuntan que la respuesta inflamatoria tiene bastante más relación con la duración de la bomba y del bypass pero que el estrés oxidativo y su daño producido por peroxidación lipídica tiene más que ver con cómo sea de adecuada o no la reperfusión tras el clampaje (Zweier 2006). Esto abre las puertas a diferentes aproximaciones terapéuticas mediante terapias antioxidantes en la circulación extracorpórea como la N-acetilcisteína o la vitamina E como apunta Chambers en 2007.

Hay trabajos (Fromes et al 2002, Harling et al 2010) que utilizan protocolos de cirugía cardíaca con tiempos de circulación extracorpórea muy reducidos y demuestran mejoría en variables de respuesta inflamatoria sistémica, como la IL-6 en su curva cinética de ascenso en las primeras 24 horas, lo cual se puede apreciar en la figura 38, como ocurre en nuestro trabajo, pero escasa dependencia de la elevación de troponina I cardio-específica en esas 24 horas, lo cual sí se encuentra en nuestro caso.

Figura 38. Gráfica de cinética de IL-6 y TNF α en primeras 24h postoperatorias comparando cirugía con bypass cardiopulmonar clásico y mínima CEC, según lo descrito en el trabajo de Fromes Y et al 2002.



Tras haberles aplicado tests estadísticos se puede apreciar que en cuanto a la agregación plaquetaria (en sus tres formas de medirse en nuestro trabajo) y los tiempos de CEC y clampaje aórtico sólo se demuestra dependencia al correlacionar el tiempo de CEC y el de clampaje aórtico con la agregación plaquetaria inducida por colágeno a las 24 horas, sin otras diferencias en los otros momentos ni en las otras formas de estimulación de la agregación. Algo similar a esto puede ser lo que encuentra el trabajo de *Fromes Y et al 2002*, en el que, tanto en la CEC normal como en la que usa tiempos mínimos, se aprecia una disminución total del número de plaquetas con ambas técnicas pero una menor liberación de β -tromboglobulina, lo cual refleja menor activación de la agregación plaquetaria.

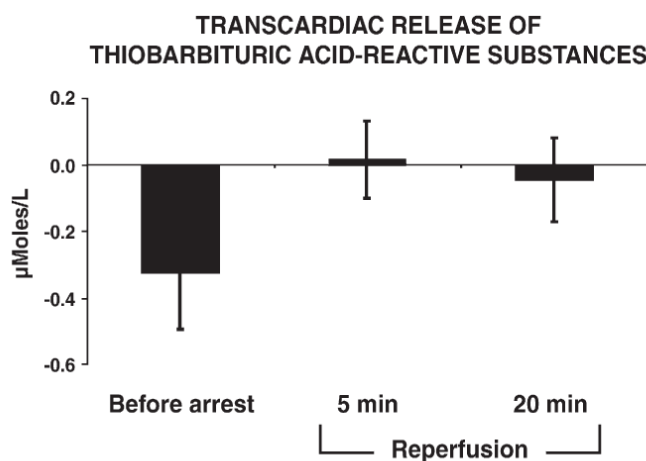
Sin embargo, las variables que evidencian una correlación directa y estadísticamente significativa con el ritmo de drenaje por los tubos torácicos en las primeras 8 horas son el tiempo de CEC, el de clampaje aórtico, la agregación plaquetaria inducida por araquidónico y por ADP; por otro lado, con el ritmo de drenaje en las segundas 10 horas sólo muestran dicha correlación los tiempos quirúrgicos, tanto de CEC como de clampaje aórtico. El ritmo de drenaje es uno de los datos clínicos tomados en consideración para poder definir la presencia de disfunción endotelial clínica como se definió en la introducción y en nuestros métodos, siguiendo la referencia de Soares et al. Como hemos demostrado, ese componente de drenaje por tubos es dependiente del tiempo de CEC, ya habiendo apuntado en esa dirección otros trabajos como el de *Balčiūnas M et al en 2009* y *Yuruk K et al 2012*. Se sabe que la disfunción endotelial es un factor de riesgo de eventos isquémicos, como accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, angina de pecho inestable, fibrilación ventricular, la necesidad de procedimientos de revascularización y muerte por causas cardiovasculares. Los estudios clínicos muestran que la cirugía cardíaca tiene un impacto sobre la función endotelial vascular también. La cirugía cardíaca utilizando sistemas de circulación extracorpórea convencional se ha asociado con una reducción significativa de la perfusión de

la microcirculación, pero se desconoce si esto podría prevenirse con un sistema de cirugía con mínima CEC. Hay trabajos, como el de Yuruk que intentan demostrarlo con técnicas que reducen los tiempos quirúrgicos de bypass mucho.

En el PO1, el láctico y la PCT se correlacionan de forma estadísticamente significativa, a diferencia de la PCR, con la activación de IL6; lo mismo ocurre con la IL10 y el láctico y la CPKmb.

El tiempo de CEC no tiene correlación significativa con variables de estrés oxidativo como se puede ver en la tabla 12. Ya hay varios trabajos en este sentido, como el de Milei J et al de 2007, sobre todo destacando la importancia de la producción de mayores cantidades de radicales libres y el mayor consumo de defensa antioxidante en las muestras tomadas de seno coronario durante el bypass pero no así en la sangre que vuelve de la bomba de circulación extracorpórea, reflejando la producción de estrés oxidativo por la cirugía en sí misma y no tanto por el circuito de extracorpórea. Igualmente demuestran que la peroxidación lipídica no deriva tanto de la fase de reperfusión como durante la cirugía anteriormente al paro cardiaco (figura 39).

Figura 39. Liberación transcárdica de peróxidos de lípidos antes del paro cardiaco y a los 5 y 20 minutos de la reperfusión. Datos expresados como diferencia entre concentraciones en seno venoso coronario menos concentraciones aórticas, tomado de Milei J et al 2007.



Al analizar la relación entre estrés oxidativo y las demás variables analíticas en cada uno de los tiempos (tabla 14), a nivel preoperatorio sólo existe una buena correlación positiva y estadísticamente significativa entre AA y GSSG; en el postoperatorio inmediato no hay diferencias estadísticamente significativas; en el PO2, tras las 24h, existe una correlación negativa y estadísticamente significativa entre AA y PCR con GSSG.

10. VARIABLES CLÍNICAS Y COMPARACIÓN CON OTROS ANALITOS

Nuestra serie tiene una estancia mediana corta (<7 días), acompañándose ese dato de extubaciones precoces. La estancia media más larga se ha correlacionado muy bien con el tiempo de CEC y con la puntuación del Aristóteles ampliado, pero sobre todo con la presencia de SRIS-CEC.

La medicina moderna y sus avances técnicos han hecho cada vez más complejos y costosos los procesos asistenciales, tales como la CEC. Hasta hace pocos años, sorprendería que frente al volumen de recursos implicados, la información fuera muy deficiente para estimar objetivamente la calidad de los servicios prestados. Los datos disponibles no permitían comparar la eficacia, eficiencia o calidad de los servicios médicos y hospitales de una manera objetiva. De ahí que en las últimas décadas se han desarrollado los sistemas de estratificación de pacientes orientados a explicar y comprender los resultados de la asistencia sanitaria, como es el caso del sistema de puntuación de Aristóteles.

El SRIS-CEC se puede definir como un especial fenómeno de sepsis de origen no bacteriano, que tiene por objeto el ayudar a eliminar sustancias nocivas del organismo cuando se produce de forma normal; sin embargo, cuando se activa incontroladamente y sin

proporción adecuada entre mediadores pro y antiinflamatorios, se llega a un desbalance y se produce una fragilidad endotelial capilar (por problemas con la permeabilidad endotelial), deteriorando la microcirculación, generando edema y fracaso tisular, con la posibilidad de generar fallo multiorgánico. Por todo ello el SRIS-CEC tiene que ver con la presencia de disfunción renal, disfunción pulmonar, disfunción inotrópica, disfunción hemodinámica y fiebre. Los criterios diagnósticos de la SRIS-CEC carecen aún de consenso y los estudios se basan en variables aisladas o criterios clínicos no uniformes. De acuerdo al número de variables alteradas (atribuyendo un punto a cada una), fue posible dividir la muestra en dos grupos. En el grupo I, se agrupó a los pacientes que presentaban tres o más puntos, considerándose la presencia de SRIS-CEC. El grupo II estaba formado por pacientes que no presentaron SRIS-CEC, y poseían hasta dos puntos. La utilización de criterios de SRIS en estos casos presenta una buena sensibilidad, aunque aún carece de especificidad, ya que los signos vitales, datos neurológicos y de laboratorio que fueron utilizados, son profundamente influenciados en ese período de postoperatorio por factores intrínsecos al procedimiento o a los cuidados específicos en UCI.

El análisis de la función renal tras el procedimiento quirúrgico ha sido difícil en términos de determinación de frecuencia, ya que los diferentes grupos tienen diferentes criterios diagnósticos. En adultos, Tuttle et al (*Tuttle et al 2003*), evaluaron una población sometida a la CEC con criterio de fallo renal semejante al nuestro (aumento de creatinina en un 25%) y observaron una incidencia del 42%. En nuestro estudio, se registró una frecuencia del 46,6%, siendo un criterio importante en la puntuación de SRIS-CEC, ya que el 21,4% de los pacientes en fallo renal presentaban SRIS-CEC y ninguno de los pacientes con función normal tuvieron diagnóstico de SRIS-CEC.

Encontramos una frecuencia de SRIS-CEC en el 10% de los pacientes, en una población pediátrica en que la cirugía cardíaca fue realizada de forma electiva y en la que se excluyó la gran mayoría de otras causas preoperatorias predisponentes. Ha habido trabajos

pediátricos, como el de *Soares et al de 2010*, que valoran el SRIS y en los cuales el criterio diagnóstico utilizado fue adaptado de la definición en pacientes clínicos y obtienen una buena sensibilidad, aunque aún carecen de adecuada especificidad (influencia de factores quirúrgicos y de cuidados de UCI). El grupo con SRIS-CEC definió un peor desenlace con relación al tiempo de ingreso en cuidados intensivos. El paciente que presenta SRIS-CEC permanece más tiempo en ventilación mecánica, con puntuaciones mayores en el Modelo de Aristóteles, con tiempos más largos de CEC. Por otro lado, la presencia de SRIS-CEC viene predicha por la presencia de tiempos CEC más largos, mayor duración de estancia en cuidados intensivos (*Williams et al 2010*), más horas de ventilación mecánica y un Aristóteles ampliado mayor. El hecho de que la presencia de SRIS-CEC haga permanecer más tiempo en ventilación mecánica podría ser explicado por dos motivos. El primero sería el hecho de que la CEC puede desencadenar una injuria pulmonar comprendida en el contexto de la cascada inflamatoria, en que hay secuestro pulmonar de leucocitos e injuria endotelial. El segundo motivo estaría directamente ligado al primero, dado que pacientes que permanecen por mayor tiempo en ventilación mecánica están expuestos a mayor riesgo de neumonía relacionada a la ventilación mecánica e injuria pulmonar directa (barotrauma, volutrauma e injuria por O₂).

Un sesgo de nuestro estudio tiene que ver con la valoración incompleta de la disfunción endotelial al no valorar para su definición el índice radiológico que utilizan trabajos como el de Soares LC et al.

La alta prevalencia de utilización de milrinona hace que en nuestra serie sea el VIS el sistema de puntuación que más correlaciones demuestra con otras variables clínicas y predictoras. Se ha considerado arritmia relevante a aquellas subsidiarias de ser causadas por complicaciones quirúrgicas o por bajo gasto cardíaco, siendo pocos los casos que las presentaron. El ritmo de drenaje está bastante controlado en las primeras 24 horas, pero con

los datos de mediana y cuartiles podemos establecer cuál es el cuartil superior y en él se localizarían los niños con disfunción endotelial clínica.

Con todo esto, en nuestro trabajo podemos apuntar que no es la propia CEC la que representa el principal desencadenante del SRIS-CEC, sino más bien una activación pre-existente del endotelio, leucocitos y linfocitos. Tras el comienzo de la CEC, esa activación conduce a la alteración de la perfusión en la microcirculación y finalmente causa una disfunción multiorgánica. El resultado final es similar a la SRIS de otras génesis, tales como las bacterianas, que no guardan relación con las superficies artificiales. Debido a los complejos procesos subyacentes de SRIS-CEC, sigue faltando una causa justificadora. Por lo tanto, la prevención y el reconocimiento de la paciente en riesgo pasan a primer plano y al buscar índices como el que nosotros empleamos, podemos predecir y medir el grado de SRIS-CEC producido.

La duración más larga de la CEC se correlaciona con mayor deficiencia de glutatión a las 18-20h, lo cual se aprecia también en cuanto se valora la variable de porcentaje de incremento de glutatión entre PRE y PO2. Por otro lado, se ha apreciado como los que no cumplen criterios de SRIS-CEC tienen más niveles de glutatión en el tiempo 3. El nivel de glutatión representa el nivel de una defensa antioxidante y si los niveles bajan implica una activación de la cascada de SRIS dado que generan radicales libres y se necesita consumir los glutationes como mecanismo de contraprestación. Hemos empleado en este trabajo en varias ocasiones una variable que representa el porcentaje de aumento o disminución de glutatión entre dos tiempos operatorios y otra que representa la diferencia entre un tiempo y el anterior. Con ellas ampliamos el espectro de tests estadísticos a realizar y así buscamos poder sacar el máximo rendimiento a las variables clínicas analizadas. Es lógico pensar que si hay menos criterios de disfunción orgánica y, por ello, menos índice de SRIS-CEC, el consumo de las defensas antioxidantes es menor, pero es algo que debía ser demostrado

como hemos hecho en nuestro trabajo, por lo que seguimos afirmando que no es la CEC en sí misma la causante principal de radicales libres sino el acto quirúrgico y otros detalles.

El modelo de regresión lineal múltiple ha servido para valorar los verdaderos factores que influyen en los indicadores clínicos, así siendo determinada la estancia principalmente por el padecer SRIS-CEC, la disfunción neurológica por la presencia de sepsis y de SRIS-CEC y la puntuación en el VIS por la presencia de sepsis o disfunciones neurológica o pulmonar.

El análisis de la función renal tras el procedimiento quirúrgico ha sido difícil en términos de determinación de frecuencia, ya que los diferentes grupos tienen diferentes criterios diagnósticos. En adultos, *Tuttle et al en 2003* evaluaron una población sometida a la CEC con criterio de fallo renal semejante al nuestro (aumento de creatinina en un 25%) y observaron una incidencia del 42%. En nuestro estudio, se registró una frecuencia del 46,6%, siendo un criterio importante en la puntuación de SRIS-CEC, ya que el 21,4% de los pacientes en fallo renal presentaban SRIS-CEC y ninguno de los pacientes con función normal tuvieron diagnóstico de SRIS-CEC.

De estas correlaciones debemos destacar aquellas que se presentan con un índice estadístico mayor de 0,7:

- Tiempo de CEC: días de estancia, IS, VIS y Aristóteles básico y ampliado.
- Tiempo de clampaje: días de estancia.
- Tiempo de VM: IS, VIS y Aristóteles básico.
- IS con Aristóteles.
- VIS con Aristóteles.
- Disfunción neurológica con necesidad de TCRR.
- Disfunción pulmonar con presencia de sepsis en primeros 5 días postoperatorios

En particular nos parece de importancia la relación que existe entre el sistema de puntuación de Aristóteles y el tiempo de CEC y clampaje aórtico necesitado, la mayor necesidad de ventilación mecánica y los índices de disfunción hemodinámica IS y VIS.

Parece ser que el sistema Aristóteles es una adecuada herramienta para analizar y comparar resultados de cirugía cardiovascular pediátrica, y por lo tanto para controlar una atención de calidad en dicha cirugía (*Heinrichs et al 2010*).

La utilización de curvas ROC sirve para establecer puntos de corte de las variables independientes que sirvan de predicción de aparición de SRIS-CEC, con sensibilidades y especificidades que sean ajustadas al modelo.

Para la elección entre dos pruebas diagnósticas distintas, se recurre a las curvas ROC, ya que es una medida global e independiente del punto de corte. Por esto, en el ámbito sanitario, las curvas ROC también se denominan curvas de rendimiento diagnóstico. La elección se realiza mediante la comparación del área bajo la curva (AUC) de ambas pruebas. Esta área posee un valor comprendido entre 0,5 y 1, donde 1 representa un valor diagnóstico perfecto y 0,5 es una prueba sin capacidad discriminatoria diagnóstica. A modo de guía para interpretar las curvas ROC se han establecido los siguientes intervalos para los valores de AUC:

- [0.5, 0.6): Test malo.
- [0.6, 0.75): Test regular.
- [0.75, 0.9): Test bueno.
- [0.9, 0.97): Test muy bueno.
- [0.97, 1): Test excelente.

Los marcadores de estrés oxidativo analizados en nuestro trabajo se han estudiado en relación con las diferentes variables clínicas determinadas (tabla 24), habiendo correlación

estadística entre niveles de glutatión total a las 18-20 horas postoperatorias y el tiempo de duración de la ventilación mecánica y la pertenencia al grupo de SRIS-CEC.

Igualmente, al hablar de las variables que catalogan el incremento diferencial entre los diversos momentos de análisis, hay correlación estadísticamente significativa con el porcentaje de descenso de glutatión total entre PRE y PO1 (tiempos quirúrgicos) y con el de descenso entre PRE y PO2 (SRIS-CEC, tiempos quirúrgicos y tiempo de estancia). Esto explica que el tardar más tiempo en volver a niveles de glutatión total normales a las 24 horas postoperatorias ocurre en aquellos pacientes con presencia de SRIS-CEC y además nos ayuda a predecir mayor estancia en cuidados intensivos.

Si se tienen en cuenta las variables analíticas especiales de interleuquinas y de estrés oxidativo se puede hacer estadística de correlaciones de diferente tipo, quedando en la tabla 16 reflejadas las correlaciones de Pearson que son estadísticamente significativas.

Relacionando clínica y analítica (figura 19), se encuentran varias correlaciones significativas ($p < 0,05$): interleukinas (IL1, IL6, IL10) y arritmias malignas (bloqueo AV y ritmo nodal); IL6, láctico, troponina con mayor riesgo de desarrollar sepsis nosocomial, mayor necesidad de DVA y de diálisis; IL1 con sepsis y DVA; CPKmb con sepsis y diálisis. Esto nos hace volver a incidir en lo ya explicado de que la mayor liberación de citoquinas proinflamatorias (representado principalmente por la ruta de la IL-6) se acompaña de mayor riesgo de sepsis nosocomial, de necesidad de diálisis y de mayor número de drogas vasoactivas. Hay trabajos en esta misma línea, como los de Lesprón Robles, que avalan que después de la cirugía en niños con hipoxia preoperatoria las concentraciones de IL-6 permanecen altas, por lo que observan una respuesta inflamatoria mayor (*Lespron Robles 2006*).

En la tabla 22 se resume los datos estadísticos descriptivos de algunas de las variables clínicas que posteriormente se han intentado correlacionar con la presencia de

síndrome de respuesta inflamatoria sistémica asociado a circulación extracorpórea (SRIS-CEC), como se puede ver en tabla 23, y con las variables de defensa antioxidante, reflejado en la tabla 24.

11. COMENTARIOS FINALES

A juzgar por el incremento en la actividad plasmática de la CPKmb, la troponina y el lactato, durante la CEC y en sus primeras horas postoperatorias se produjo una progresiva pérdida de la integridad de la membrana citoplasmática y la viabilidad celular, que alcanzó su máximo en la reperfusión. La isquemia-reperfusión se acompaña de formación de “especies reactivas del oxígeno” que pueden inducir “estrés oxidativo”, el cual provocaría daño cardíaco mediado por reperfusión, que se sumaría al daño causado por la isquemia.

La peroxidación lipídica, resultado de la acción citotóxica de los ROS sobre los lípidos de las membranas celulares y reflejo de la mayor presencia de éstos, aumentó también de forma progresiva durante la CEC. Así se deduce del significativo incremento que se produjo en ambos grupos en las concentraciones de MDA entre la situación basal y la reperfusión.

El contacto de la sangre con el circuito de circulación extracorpórea da lugar a la producción de multitud de mediadores que pueden activar el endotelio vascular y promover la generación de EO y PL. Se activan tanto citokinas proinflamatorias como antiinflamatorias. El aumento de CPKmb, troponina, y lactato se correlaciona directa y significativamente con tiempo de CEC y acompañan al EO y PL sin significación con éstas, alcanzando su máximo tras la reperfusión inmediata (PO1). El tiempo de CEC no tiene correlación significativa con variables de EO y PL, a excepción de con el consumo de antioxidantes (glutación total) a las 24 horas. Láctico y PCT se correlacionan de forma estadísticamente significativa, a diferencia de la PCR, con la activación de IL6 e IL10.

Relacionando clínica y analítica, se encuentran varias correlaciones significativas: interleuquinas (IL1, IL6, IL10) y arritmias; IL6, láctico, troponina con sepsis y necesidad de DVA y diálisis; IL1 con sepsis y DVA; CPKmb con sepsis y diálisis.

El descubrimiento del SRIS hace ya varias décadas contribuyó a mejorar el diseño de los circuitos de circulación extracorpórea para atenuar la intensidad y la incidencia de aquél. Dado que también existen alteraciones del estrés oxidativo en la cirugía cardíaca, sería interesante conocer cuáles son sus repercusiones clínicas, e investigar, si las hubiere, posibles medidas tecnológicas, farmacológicas o quirúrgicas para minimizarlas. Investigar el estrés oxidativo en cirugía cardíaca ofrece una oportunidad única de lograr observaciones en condiciones clínicas relevantes, hasta ahora derivadas de modelos experimentales y tendría implicaciones terapéuticas importantes, porque prevenir este fenómeno podría mejorar la protección miocárdica y el posoperatorio.

Dado que también existen alteraciones del estrés oxidativo en la cirugía cardíaca, sería interesante conocer cuáles son sus repercusiones clínicas, e investigar, si las hubiere, posibles medidas tecnológicas, farmacológicas o quirúrgicas para minimizarlas. Investigar el estrés oxidativo en cirugía cardíaca ofrece una oportunidad única de lograr observaciones en condiciones clínicas relevantes, hasta ahora derivadas de modelos experimentales y tendría implicaciones terapéuticas importantes, porque prevenir este fenómeno podría mejorar la protección miocárdica y el postoperatorio.

La isquemia y la reperfusión participan en el estrés oxidativo y el SRIS que surgen durante la CEC. Las citoquinas proinflamatorias (TNF-alfa e IL6) pueden explicar muchos de los signos de presentación de shock, como la insuficiencia respiratoria, la fuga capilar, la función miocárdica deprimida, la disfunción renal y la isquemia celular. Se sugiere que mediadores antiinflamatorios tales como IL10 pueden desempeñar un papel importante en la contrarregulación de la respuesta inflamatoria temprana. Algunos estudios indican efectos

beneficiosos de la liberación precoz sistémica de IL10 sistémica tras la lesión y el shock (*Kobbe et al 2009*).

VI. CONCLUSIONES

1. En la CEC infantil se observa un **considerable incremento en el proceso de peroxidación lipídica con alteración de parámetros de EO** (tendencia clara hacia un aumento de la actividad oxidativa y una disminución de la antioxidante), siendo todo ello máximo tras el clampaje aórtico y mejorando tras las primeras 24 horas. La edad, el sexo y el estado nutricional no han tenido influencia en los parámetros estudiados de EO.
2. **Un tiempo de CEC más prolongado se correlaciona con mayor deficiencia de glutatión a las 18-20 horas de la cirugía**, y, por tanto, con un peor perfil antioxidante. Esto también se aprecia en el porcentaje de incremento de glutatión entre PRE y PO2.
3. **La CEC infantil desencadena una cascada de mediadores inflamatorios que alcanza la máxima activación en la reperfusión inmediata y disminuye tras las primeras 24 horas**. Ese grado de activación de citoquinas es dependiente de los tiempos de CEC y clampaje, sobre todo en lo referente a la activación de IL-6 e IL-10, y se presenta en todos los pacientes, sin saberse bien los mecanismos exactos.
4. **En la CEC infantil se aprecia un grado de disfunción plaquetaria grave, que es máximo al iniciar la reperfusión y mejora ligeramente a las 24 horas**. Esta disfunción puede complicar en gran medida el manejo de estos pacientes en la unidad de cuidados intensivos pediátricos, ya que facilita el sangrado en el postoperatorio inmediato. Se debe administrar concentrado de plaquetas ante los

indicios de hemorragia tras CEC, puesto que todos los pacientes tienen alterada la función plaquetaria y esto puede llevar a acrecentar el sangrado por alguna otra causa, y la prevención es la estrategia más importante para evitarlo.

5. **Los pacientes con tiempos más largos de CEC y mayor puntuación en el método de estratificación Aristóteles** son una población de riesgo para el desarrollo de SRIS-CEC. Estos pacientes precisaron **más horas de ventilación mecánica y su tiempo de estancia en la UCIP fue mayor.**
6. Un **mejor perfil de respuesta antioxidante a las 24 horas postoperatorias** (a través de niveles de glutatión total) predicen un **menor desarrollo de SRIS-CEC** y un **menor tiempo de ventilación mecánica.**
7. El **incremento de los productos de peroxidación lipídica** en la fase de reperfusión inmediata es un **factor de protección en el desarrollo de sepsis.**
8. **El desarrollo de disfunción orgánica tras la CEC es aún un indicador de pobres resultados en la evolución** de estos pacientes a pesar de los avances en resucitación, en fármacos y terapias adyuvantes. Por lo tanto un mejor entendimiento de lo que es la RIS en cirugía cardíaca puede ser la clave del desarrollo de estrategias exitosas que disminuyan la morbi-mortalidad en estos pacientes.

A pesar de las **limitaciones** derivadas de la pequeña cantidad de pacientes seleccionados, los resultados obtenidos en este estudio son significativos y los datos

aportados constituyen un argumento convincente para un protocolo de intervención de amplio alcance y tal vez por las medidas preventivas y terapéuticas, tales como la posibilidad de aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes por medios farmacológicos, tanto antes de que se estableciera la CEC como después de que se retire durante las primeras 12-18 horas.

Es importante hacer notar que la biología molecular está revolucionando la medicina y la capacidad de valorar el impacto de la variabilidad en la caracterización de enfermedades y resultados perioperatorios.

APLICABILIDAD PRÁCTICA

El encontrar valores de estrés oxidativo y peroxidación lipídica en estos pacientes pediátricos operados de cirugía cardiovascular aporta más luz al tratamiento postoperatorio y al manejo de la isquemia reperusión en futuras cirugías. Igualmente el tratamiento con tetrahidrobiopterina pudiera estabilizar y equilibrar de algún modo el estrés oxidativo generado por la isquemia reperusión, podría ser de gran ayuda su empleo de forma preventiva en este tipo de intervenciones.

Independientemente del beneficio particular que pueda suponer este estudio para cada paciente, existe un beneficio general para la población estudiada de niños intervenidos de cirugía cardiovascular, ya que nos permite conocer más esta situación y los posibles factores relacionados con la homeostasis, que, con la ayuda de estudios posteriores, podrían ser considerados como etiopatogénicos, lo que abriría un camino terapéutico inquietante.

Este estudio abre un campo de investigación novedoso y esperanzador en términos de posibilidad de tratamiento con tetrahidrobiopterina prequirúrgica.

Es factible conseguir la colaboración de entidades públicas o privadas para la determinación de biopetras y tetrahidrobiopterina para continuar un estudio que es caro de realizar por el elevado coste de la técnica pero que en caso de obtener resultados, tendría un papel importante la intervención del uso de tetrahidrobiopterina en la etapa inicial de la cirugía cardiovascular infantil.

VII. BIBLIOGRAFÍA

A

- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:7915-22.
- Andelová E, Barteková M, Pancza D, Styk J, Ravingerová T. The Role of NO in Ischemia/Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart. *Gen Physiol Biophys* 2005; 24:411-426.
- Aruoma OI, Halliwell B, Laughton MJ, Quinlan GJ, Gutteridge JM. The mechanism of initiation of lipid peroxidation. Evidence against a requirement for an iron(II)-iron(III) complex. *Biochem J* 1989; 258 (2):617-20.

B

- Balčiūnas M¹, Bagdonaite L, Samalavicius R, Baublys A. Markers of endothelial dysfunction after cardiac surgery: soluble forms of vascular-1 and intercellular-1 adhesion molecules. *Medicina (Kaunas)* 2009; 45 (6):434-9.
- Barreiro O, Sánchez-Madrid F. Bases moleculares de las interacciones leucocito-endotelio durante la respuesta inflamatoria. *Rev Esp Cardiol* 2009; 62:552-6.
- Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78 (2):547-81.
- Berger MM, Chiolero RL. Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2007; 35 [Suppl.]:S584–S590.

- Blalock A, Taussig HB. The surgical treatment of malformations of the heart in which there is pulmonary stenosis or pulmonary atresia. JAMA 1945; 128:189-92.
- Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. Chest 1992; 101:1481-1483.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest 1992; 101(6):1644–55.
- Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. Biochem J 1973;134(3):707-16.
- Buonocore G, Perrone S et al. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. Semin Fetal Neonatal Med 2010; 15(4):186-90.

C

- Calderón-Colmenero J, Ramírez Marroquín S, Cervantes Salazar J. Métodos de estratificación de riesgo en la cirugía de cardiopatías congénitas. Arch Cardiol Mex 2008; 78(1):60-67.
- Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. J Pharmacol Methods 1980;3(2):135-58.
- Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, Marklund SL. Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 Jul 3;92(14):6264-8.

-
- Carrascosa Lezcano A, Fernández García JM, Fernández Ramos C, Ferrández Longás A, López-Siguero JP, Sánchez González E, *et al* y Grupo Colaborador Español. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte II: valores de talla, peso e índice de masa corporal desde el nacimiento a la talla adulta. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68(6):552-69.
 - Chambers DJ. *Cardiovasc Res* 2007; 73(4):626-628.
 - Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59(3):527-605.
 - Chirino YI *et al*. Participación del peroxinitrito en diferentes enfermedades. *Rev Invest Clin* 2006;58(4): 350-358.
 - Clemont G, Vergely C, Jazayeri S, Lahet JJ, Goudeu JJ, Lecour S, *et al*. Systemic free radical activation is a major event involved in myocardial oxidative stress related to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2002; 96:80-87.
 - Crafoord C, Nylin G. Congenital coarctation of the aorta and its surgical treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1945; 14:347-61.
 - Crespo Marcos D, Rey Galán C, López-Herce Cid J, Crespo Hernández M, Concha Torre A, Pérez Solís D. Cinética de la proteína C reactiva y la procalcitonina en el postoperatorio de cirugía cardíaca en niños. *An Pediatr (Barc)* 2010; 73(4):162–168.

D

- Dalton TP, Chen Y, Schneider SN, Nebert DW, Shertzer HG. Genetically altered mice to evaluate glutathione homeostasis in health and disease. *Free Radic Biol Med* 2004;37(10):1511-26.

- Dennis C, Spreng DS, Nelson GE. Development of a pump oxygenator to replace the heart and lungs: An apparatus applicable to human patients, and application to one case. *Ann Surg* 1951; 134:709.
- Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47:446–456.
- Didion SP, Faraci FM. Effects of NADH and NADPH on superoxide levels and cerebral vascular tone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:688-695.
- Diegeler A, Doll N, Rauch T, et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: A comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2000; **102**(19 Suppl 3):III95-100.
- Dusting GJ, Selemidis S, Jiang F. Mechanisms for suppressing NADPH oxidase in the vascular wall. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 100 (Suppl.I):97-103.

E

- Edmunds LH Jr, Stenach N: The blood-surface interface, in Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, Utley JR (eds): *Cardiopulmonary Bypass: Principles and Practice*, 2d ed. Media, PA, Williams & Wilkins, 2000; p 149.
- Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Med* 2011; 17:1391-1401.
- Erden-Inal M, Sunal E, Kanbak G. Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem Funct* 2002;20(1):61-6.

F

- Férez Santander SM, et al. Daño miocárdico por reperfusión. Rev Esp Cardiol 2004; 57(Supl 1):9-21.
- Friel JK, Diehl-Jones B, Cockell KA, Chiu A, Rabanni R, Davies SS, Roberts LJ 2nd. Evidence of oxidative stress in relation to feeding type during early life in premature infants. *Pediatr Res*. 2011 Feb;69(2):160-4
- Fromes Y, Gaillard D, Ponzio O, Chauffert M, Gerhardt MF, Deleuze P, Bical OM. Reduction of the inflammatory response following coronary bypass grafting with total minimal extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; 22(4):527-33.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288(5789):373-6.

G

- Gaies MG, Gurney JG, Yen AH, Napoli ML, Gajarski RJ, Ohye RG, Charpie JR, Hirsch JC. Vasoactive-inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in infants after cardiopulmonary bypass. *Pediatr Crit Care Med* 2010; 11(2):234-8.
- Gao YJ, Lee RM. Hydrogen peroxide induces a greater contraction in mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats through thromboxane A₂ production. *Br J Pharmacol* 2001; 134:1639-1646.
- García-de-la-Asunción J, Pastor E, Perez-Griera J, Belda FJ, Moreno T, García-del-Olmo E, Martí F. Oxidative stress injury after on-pump cardiac surgery: effects of aortic cross clamp time and type of surgery. *Redox Rep* 2013; 18(5):193-9.

- Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954;37:171.
- Gil-Longo J, Gonzalez-Vazquez C. Characterization of four different effects elicited by H₂O₂ in rat aorta. *Vasc Pharmacol* 2005; 43:128-138.
- Gorren AC, Mayer B. Tetrahydrobiopterin in nitric oxide synthesis: a novel biological role for pteridines. *Curr Drug Metab* 2002; 3:133–157.
- Gourdin M and Dubois P (2013). Inflammation and Vasomotricity During Reperfusion, Artery Bypass, Dr Wilbert S. Aronow (Ed.), ISBN: 978-953-51-1025-5, InTech, DOI: 10.5772/54508. Available from: <http://www.intechopen.com/books/artery-bypass/inflammation-and-vasomotricity-during-reperfusion>.
- Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. “Superoxide radicals in feline intestinal ischemia” *Gastroenterology* 1981; 81:22-29.
- Granot E, Kohen R. Oxidative stress in childhood--in health and disease states. *Clin Nutr* 2004;23(1):3-11.
- Gross RE, Hubbard JH. Surgical ligation of a patent ductus arteriosus: Report of first successful case. *JAMA* 1939; 112:729-31.
- Guarnieri C, Flamigni F, Caldarera CM. Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart. *J Mol Cell Cardiol* 1980; 12:797–808.

H

-
- Hall RI, Smith MS, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997; 85:766–782.
 - Harling L, Warren OJ, Rogers PL, Watret AL, Choong AM, Darzi A, Angelini GD, Athanasiou T. How minimized extracorporeal circulation compares with the off-pump technique in coronary artery bypass grafting. *ASAIO J* 2010; 56(5):446-56.
 - Hayabuchi Y, Nakaya Y, Matsuoka S, Kuroda Y. Hydrogen peroxide-induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Heart Vessels* 1998; 13:9-17.
 - Heinrichs J, Sinzobahamvya N, Arenz C et al. Surgical management of congenital heart disease: evaluation according to the Aristotle score. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37:210-217.
 - Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, *et al.* Curvas y tablas de crecimiento. Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo, Fundación Faustino Orbegozo. Madrid: Editorial Garsi; 1988.
 - Hill JH, Ward PA. C3 leukotactic factors produced by a tissue protease. *J Exp Med* 1969; 130(3):505-18).
 - Holmberg SR, Cumming DV, Kusama Y, Hearse DJ, Poole-Wilson PA, Shattock MJ, Williams AJ. Reactive oxygen species modify the structure and function of the cardiac sarcoplasmic reticulum calcium-release channel. *Cardioscience* 1991; 2(1):19-25.
 - Hövels-Gürich HH, Vázquez-Jiménez JF, Silvestri A, et al. Production of proinflammatory cytokines and myocardial dysfunction after arterial switch operation in neonates with transposition of great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124:811–820.

- Hughes BG, Fan X, Cho WJ, Schulz R. (2014) MMP-2 is localized to the mitochondria-associated membrane of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 306(5):H764-70.

I

- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(24):9265-9.
- Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 1987; 61:866-879.
- Ilizarov AM, Koo HC, Kazzaz JA, Mantell LL, Li Y, Bhapat R, Pollack S, Horowitz S, Davis JM. Overexpression of manganese superoxide dismutase protects lung epithelial cells against oxidant injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24(4):436-41.
- Inafuku H, Kuniyoshi Y, Yamashiro S, Arakaki K, Nagano T, Morishima Y, Kise Y. Determination of Oxidative Stress and Cardiac Dysfunction after Ischemia/Reperfusion Injury in Isolated Rat Hearts. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2013; 19(3):186-94.

J

- Jenkins KJ, Gauvreau K, Newburger JW, Spray TL, Moller JH, Iezzoni LI. Consensus-based method for risk adjustment for surgery for congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123(1):110-8.

-
- Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42:225-46.

K

- Kang N, Cole T, Tsang V, Elliott M, De Leval M, Cole TJ: Does the Aristotle score predict outcome in congenital heart surgery? *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29:986-88.
- Kaplowitz N, Aw TY, Ookhtens M. The regulation of hepatic glutathione. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25:715-44.
- Kawahito K, Kobayashi E, Ohmori M et al. Enhanced responsiveness of circulatory neutrophils after cardiopulmonary bypass: increased aggregability and superoxide producing capacity. *Artif Organs* 2000; 24:37-42.
- Kelly FJ. Glutathione: in defence of the lung. *Food Chem Toxicol* 1999 Sep-Oct; 37(9-10):963-6.
- Ketterer B. Detoxication reactions of glutathione and glutathione transferases. *Xenobiotica* 1986; 16(10-11):957-73.
- King AJ, Brenner BM. Endothelium-derived vasoactive factors and the renal vasculature. *Am J Physiol* 1991; 260:653-662.
- Kobbe P, Stoffels B, Schmidt J, Tsukamoto T, Gutkin DW, Bauer AJ, et al. IL-10 deficiency augments acute lung but not liver injury in hemorrhagic shock. *Cytokine* 2009; 45:26-31.
- Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30(6):620-50.

- Kogon B, Oster M. Assessing surgical risk for adults with congenital heart disease: are pediatric scoring systems appropriate? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014 Feb; 147(2):666-71.
- Kollef MH, Wragge T, Pasque C. Determinants of mortality and multiorgan dysfunction in cardiac surgery patients requiring prolonged mechanical ventilation. *Chest* 1995; 107:1395-1401.
- Kotzampassi K, Kolios G, Manousou P et al. Oxidative stress due to anesthesia and surgical trauma: importance of early enteral nutrition. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(6):770-9.
- Kubicki R, Grohmann J, Siepe M, Benk C, Humburger F, Rensing-Ehl A, Stiller B. Early prediction of capillary leak syndrome in infants after cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013; 44(2):275-81.

L

- Lacour-Gayet F, Clarke D, Jacobs J, Comas J, Daebritz S, Daenen W, et al: The Aristotle score: a complexity-adjusted method to evaluate surgical result. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25: 911-24.
- Lancé MD, Henskens YM, Nelemans P, Theunissen MH, Oerle RV, Spronk HM, Marcus MA. Do blood collection methods influence whole-blood platelet function analysis? *Platelets* 2013; 24(4):275-81.
- LeGallois JJC. *Experiences sur le principe de la vie.* Paris: D'Hautel. Filadelfia: M Thomas; 1812.

-
- Lespron Robles MC. [Respuesta inflamatoria sistémica en cirugía cardíaca pediátrica]. Arch Cardiol Méx 2006; 76 Suppl 2:S92-9.
 - Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit. Care Med 2003; 31(4):1250–6.
 - Lillehei CW, Cohen M, Warden HE. The direct vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation: results in 32 patients with ventricular septal defect, tetralogy of Fallot and atrioventricularis communis defects. Surgery 1955; 38:11-21.
 - Liochev SI, Fridovich I. The role of O_2^- in the production of HO: in vitro and in vivo. Free Radic Biol Med 1994; 16(1):29-33.
 - Locker C, Mohr R, Paz J, et al: Myocardial revascularization for acute myocardial infarction: benefits and drawbacks of avoiding cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 2003; 76: 771–7.
 - Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. Mol Aspects Med 2009; 30(1-2):42-59.

M

- Marín J, Rodríguez-Martínez MA. Nitric oxide, oxygen-derived free radicals and vascular endothelium. J Auton Pharmacol 1995; 15:279-307.
- Marklund SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. Clin Chim Acta 1982; 126(1):41-51.
- Martín JA, Pereda J, Martínez-López I, Escrig R, Miralles V, Pallardó FV, Viña JR, Vento M, Viña J, Sastre J. Oxidative stress as a signal to up-regulate gamma-cystathionase in the fetal-to-neonatal transition in rats. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2007; 53 Suppl: OL1010-7.

- Martin W, McQuiston AM, Tweddel AC, Wheatley DJ. Quantification of extracorporeal white cell and platelet deposition in cardiopulmonary bypass: comparison of membrane and bubble oxygenators. *Nucl Med Commun* 1996; 17(5):378-84.
- Makazan Z, Saini HK, Dhalla NS. Role of oxidative stress in alterations of mitochondrial function in ischemic-reperfused hearts. *AJP-Heart Circ Physiol* 2007; 292:1986-1994.
- Martin W, McQuiston AM, Tweddel AC, Wheatley DJ. Quantification of extracorporeal white cell and platelet deposition in cardiopulmonary bypass: comparison of membrane and bubble oxygenators. *Nucl Med Commun* 1996; 17(5):378-84.
- Mavroudis C, Jacobs JP. Congenital heart surgery nomenclature and database project: overview and minimum dataset. *Ann Thorac surg* 2000; 69: S2-17
- McBride WT, Armstrong MA, Gilliland H, et al. The balance of pro and anti-inflammatory cytokines in plasma and bronchoalveolar lavage (BAL) at paediatric cardiac surgery. *Cytokine* 1996; 8:724-729.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244(22):6049-55.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutases: you've come a long way, baby. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20(10):1548-9.
- Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983; 52:711-60.
- Mejak BL, Ing RJ, McRobb C, Ellis WC, Lawson DS, Twite MD, Jagers J. Cryoprecipitate and platelet administration during modified ultrafiltration in children less than 10 kg undergoing cardiac surgery. *J Extra Corpor Technol.* 2013; 45(2):107-11.
- Mejía-Toiber J, Montiel T, Massieu L. D-beta-hydroxybutyrate prevents glutamate-mediated lipoperoxidation and neuronal damage elicited during glycolysis inhibition in vivo. *Neurochem Res.* 2006; 31(12):1399-408.

-
- Mela L. Mitochondrial function in shock, ischemia and hypoxia. In: Couley RA TB ed. Pathophysiology of shock, anoxia and ischemia. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1982:84-94.
 - Michalski MC, Calzada C, Makino A, Michaud S, Guichardant M. Oxidation products of polyunsaturated fatty acids in infant formulas compared to human milk--a preliminary study. *Mol Nutr Food Res* 2008;52(12):1478-85.
 - Milei J, Forcada P, Fraga CG, Grana DR, Iannelli G, Chiariello M, Tritto I, Ambrosio G. Relationship between oxidative stress, lipid peroxidation, and ultrastructural damage in patients with coronary artery disease undergoing cardioplegic arrest/reperfusion. *Cardiovasc Res* 2007; 73(4):710-9.
 - Moreu-Burgosa J, Macaya-Miguel C. Fisiopatología del miocardio isquémico. Importancia de la frecuencia cardiaca. *Rev Esp Cardiol Supl* 2007; 7:19D-25D.
 - Moreno Granado F. Epidemiología de las cardiopatías Congénitas. En Moreno Granado F, editor. *Protocolos Diagnósticos y Terapéuticos en Cardiología Pediátrica*. 2da ed. Madrid: Cuadecon; 2003. p. 2.
 - Mosharov E, Cranford MR, Banerjee R. The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. *Biochemistry* 2000; 39(42):13005-11.
 - Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY. Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception* 2002; 65(4):305-11.

N

- Nauta R, Tsimoyiannis E, Uribe M, et col. “The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion induced liver injury”. *Ann Surg* 1991; 213:137-142.
- Nebelsiek T, Beiras-Fernandez A, Kilger E, Möhnle P, Weis F. Routine use of corticosteroids to prevent inflammation response in cardiac surgery. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2012; 7(3):170-4.
- Niccoli G, Celestini A, Calvieri C et al. Patients with microvascular obstruction after primary percutaneous coronary intervention show a gp91phox (NOX2) mediated persistent oxidative stress after reperfusion. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2013 Dec; 2(4):379-88.

P

- Paniccia R, Antonucci E, Maggini N, Romano E, Gori AM, Marcucci R, Prisco D, Abbate R. Assessment of platelet function on whole blood by multiple electrode aggregometry in high-risk patients with coronary artery disease receiving antiplatelet therapy. *Am J Clin Pathol* 2009; 131(6):834-42.
- Parums D. The pathology of ischemic-reperfusion injury. In: Grace P, Mathie R, eds. *Ischemia-reperfusion injury*. Oxford: Oxford Blackwell Science Ltd, 1999:3-19
- Pavione MA, Carmona F, De Castro M, Carlotti A. Late remote ischemic preconditioning in children undergoing cardiopulmonary bypass: A randomized controlled trial. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2012; 144(1):178–183.

-
- Peng C, Wang X, Chen J, Jiao R, Wang L, Li YM, Zuo Y, Liu Y, Lei L, Ma KY, Huang Y, Chen ZY. Biology of Ageing and Role of Dietary Antioxidants. *Biomed Res Int* 2014; 2014:831-41.
 - Pollack MM et al. Pediatric Risk of Mortality score. *Crit Care Med* 1988;16:1110-6
 - Pooja S, Sandeep C, Gaurav J, Sachin T, Neeti M, Usha K. Comparison of Cardioprotective Effects of Volatile Anesthetics in Children Undergoing Ventricular Septal Defect Closure. *World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery* 2013; 4(1):24-29

R

- Rosenkranz ER, Buckberg GD. Myocardial protection during surgical coronary reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1:1235-46.
- Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lamarche B, Couillard C. Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short term cranberry juice consumption. *Metabolism* 2005; 54:856-61.
- Ruiz-Meana M et al. Necrosis por reperfusión y protección miocárdica. *Rev Esp Cardiol* 2009;62(2):199-209
- Ruvolo G, Greco E, Speziale G, Tritapepe L, Marino B, Mollace V, Nisticò G. *Nitric oxide formation during cardiopulmonary bypass*. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:1055-1056.

S

- Sablotzki A, Mann V, Simm A et al. Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery. *Anesthesiol Intensiv Med Notfallmed Schmerzther* 2001; 36:552-559.
- Sánchez González E, Carrascosa Lezcano A, Fernández García J.M., Ferrández Longás A., López de Lara D., López-Siguero J.P. Estudios españoles de crecimiento: situación actual, utilidad y recomendaciones de uso. *An Pediatr (Barc)* 2011; 74(3):193.e1-16.
- Scott K. Silverman and Christopher S. Foote. Singlet Oxygen and Electron -Transfer Mechanisms in the Dicyanoanthracene-Sensitized Photooxidation of 2, 3-Diphenyl-1,4-Dioxene". *JACS* 1991; 113:7672-7675.
- Seghaye MC. The clinical implications of the systemic inflammatory reaction related to cardiac operations in children. *Cardiol Young* 2003; 13(3):228-39.
- Serra Majem L, Aranceta Bartrina J, Ribas Barba L, Sangil Monroy M, Pérez Rodrigo C. Crecimiento y desarrollo: dimensión alimentaria y nutricional. En: Serra Majem L, Aranceta J, editores. Crecimiento y desarrollo. Estudio enKid, Krece Plus. Vol.4, Barcelona: Masson; 2003. p. 45-54.
- Shine N, Kageyama K, Ashida H. Perioperative assessment of blood lactate levels in pediatric heart surgery. *Masui* 2001; 50(7):752-7.
- Siegmund B, Zude R, Piper HM. Recovery of anoxicreoxygenated cardiomyocytes from severe calcium overload. *Am J Physiol* 1992; 263:1262-9.
- Singh P, Chauhan S, Jain G, Talwar S, Makhija N, Kiran U. Comparison of Cardioprotective Effects of Volatile Anesthetics in Children Undergoing Ventricular Septal Defect Closure. *World J Ped Cong Heart Surg* 2013;4(1):24-29.
- Soares LC, Ribas D, Spring R, Silva JM, Miyague NI. [Clinical profile of systemic inflammatory response after pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass]. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(1):127-33.

-
- Srivastava P, Rajanikanth M, Raghavan SA, Dikshit M. Role of endogenous reactive oxygen derived species and cyclooxygenase mediators in 5-hydroxytryptamine-induced contractions in rat aorta: relationship to nitric oxide. *Pharmacol Res* 2002; 45:375- 382.
 - Steinberg JS, Gaur A, Sciacca R, Tan E. New-onset sustained ventricular tachycardia after cardiac surgery. *Circulation* 1999; 99:903-8.
 - Sturman JA, Gaull G, Raiha NC. Absence of cystathionase in human fetal liver: is cystine essential? *Science* 1970; 169(3940):74-6.

T

- Takimoto E, Kass DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension* 2007; 49:241–248.
- Tárnok A, Schneider P. Pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: pathways contributing to transient systemic immune suppression. *Shock* 2001; 16 Suppl 1:24-32.
- Tassani P, Schad H, Schreiber C, Zaccaria F, Haas F, Mössinger H, Altmeyer S, Köhler R, Seghaye MC, Lange R. Extravasation of albumin after cardiopulmonary bypass in newborns. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007; 21(2):174-8.
- Tosaka M, Hashiba Y, Saito N, Imai H, Shimizu T, Sasaki T. Contractile responses to reactive oxygen species in the canine basilar artery in vitro: selective inhibitory effect of MCI-186, a new hydroxyl radical scavenger. *Acta Neurochir (Wien)*. 2002; 144:1305-1310.
- Tsai MC, Chen WJ, Ching CH, Chuang JI. Resuscitation with hydroxyethyl starch solution prevents nuclear factor kappaB activation and oxidative stress after hemorrhagic shock and resuscitation in rats. *Shock* 2007; 27:527-33.

- Tuttle KR, Worrall NK, Dahlstrom LR, Nandagopal R, Kausz AT, Davis CL. Predictors of ARF after cardiac surgical procedures. *Am J Kidney Dis* 2003; 41 (1):76-83.

U

- Umanski S. Apoptosis in ischemia-reperfusion injury. In: Grace P, Mathie R, eds. *Ischemia-reperfusion injury*. Oxford: Oxford Blackwell Science Ltd, 1999: 281-90.
- Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189:41-54.

V

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease". *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(1):44-84.
- Van Boven WJ, Gerritsen WB, Driessen AH et al. Myocardial oxidative stress, and cell injury comparing three different techniques for coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008; 34(5):969-75.
- Van der Vliet A, O'Neill CA, Cross CE, Koostra JM, Volz WG, Halliwell B, Louie S. Determination of low-molecular-mass antioxidant concentrations in human respiratory tract lining fluids. *Am J Physiol* 1999; 276(2 Pt 1):L289-96.

- Vázquez–Jiménez JF, Quing M, Hermanns B, et al. Moderate hypothermia during cardiopulmonary bypass reduces myocardial cell damage and myocardial cell death related to cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:1216–1233.
- Viña J, Borrás Blasco C, Sastre Belloch J, Pallardó Calatayud F. Posibles mecanismos por los que las mujeres viven más que los varones. *Rev Esp Ger Gerontol* 2004; 39 (6):381-384.
- Vitvitsky V, Thomas M, Ghorpade A, Gendelman HE, Banerjee R. A functional transsulfuration pathway in the brain links to glutathione homeostasis. *J Biol Chem* 2006; 281(47):35785-93.

W

- Wallen M, Morrison A, Gillies D, O'Riordan E, Bridge C, Stoddart F. Mediastinal chest drain clearance for cardiac surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004 Oct 18;(4):CD003042.
- Wan IY, Arifi AA, Wan S, Yip JH, Sihoe AD, Thung KH, Wong EM, Yim AP. Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127(6):1624-31.
- Wang W, Ballatori N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacol Rev* 1998; 50(3):335-56.
- Wei CC, Wang ZQ, Wang Q, et al. Rapid kinetic studies link tetrahydrobiopterin radical formation to heme-dioxy reduction and arginine hydroxylation in inducible nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2001;276:315–319.

- Weisiger RA, Fridovich I. Mitochondrial superoxide simutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem* 1973; 248(13):4793-6.
- Wernovsky G, Wypij D, Jonas RA, et al: Postoperative course and hemodynamic profile after the arterial switch operation in neonates and infants. A comparison of lowflow cardiopulmonary bypass and circulatory arrest. *Circulation* 1995; 92:2226–2235.
- Wahba A, Rothe G, Lodes H, Barlage S, Schmitz G, Birnbaum DE. Effects of extracorporeal circulation and heparin on the phenotype of platelet surface antigens following heart surgery. *Thromb Res.* 2000 Mar 15;97(6):379-86.
- Williams TA, Ho KM, Dobb GJ et al. Effect of length of stay in intensive care unit on hospital and long-term mortality of critically ill adult patients. *Br J Anaesth* 2010; 104(4):459-64.
- Winterbourn C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species *Nature Chemical Biology* 2008; 4(5):278-286.
- Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004; 134(3):489-92.

Y

- Yeung-Lai-Wah JA, Qi A, McNeill E, et-al. New-onset sustained ventricular tachycardia and fibrillation early after cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 2004;77:2083-8.
- Yip C, Ignjatovic V, Attard C, Monagle P, Linden MD. First report of elevated monocyte-platelet aggregates in healthy children. *PLoS One* 2013;8(6):e67416.
- Yuruk K, Bezemer R, Euser M, Milstein DM, de Geus HH, Scholten EW, de Mol BA, Ince C. The effects of conventional extracorporeal circulation versus miniaturized

extracorporeal circulation on microcirculation during cardiopulmonary bypass-assisted coronary artery bypass graft surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2012;15(3):364-70.

Z

- Zakowski JJ, Forstrom JW, Condell RA, Tappel AL. Attachment of selenocysteine in the catalytic site of glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 1978; 84(1):248-53.
- Zhong H, Gao Z, Chen M, Zhao J, Wang F, Li L, Cardioprotective effect of remote ischemic postconditioning on children undergoing cardiac surgery: a randomized controlled trial. *Pediatric Anesthesia* 2013; 23(8):726–733.
- Zhou XH, Castelluccio P, Zhou C. Nonparametric estimation of ROC curves in the absence of a gold standard. *Biometrics* 2005; 61(2):600-9.
- Zlotkin SH, Anderson GH. The development of cystathionase activity during the first year of life. *Pediatr Res* 1982; 16(1):65-8.
- Zweier JL, Hassan Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury *Cardiovasc Res* 2006; 70:181-190.

VIII. PUBLICACIONES REALIZADAS

El trabajo descrito en la presente memoria se encuentra recogido en las siguientes publicaciones y comunicaciones a congresos:

Publicaciones:

1. R. Gil-Gómez, J. Blasco-Alonso, J.A. González-Correa, J.P. de la Cruz, J.J. Reyes, G. Milano. Estudio de la agregación plaquetaria en el postoperatorio de cirugía cardiovascular mediante circulación extracorpórea en edad pediátrica. *Laboratorio Clinico* 2014;07:55-9. Esta revista es órgano de expresión científica de la Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM), la Asociación Española de Farmacéuticos Analistas (AEFA) y la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC). *SCImago Journal Rank (SJR)*: 0,184 (Q3 en Bioquímica Médica). Índice H de 3.
2. R. Gil-Gomez, J. Blasco-Alonso, J.J. Reyes, J.A. Gonzalez-Correa, J.P. De La Cruz, G. Milano. Post-operative Systemic Inflammatory Response After Cardiac Surgery Using Extracorporeal Circulation in Children. *Exp Clin Cardiol* 2014;20(6):3906-3919. Factor de impacto JCR 0,576 (Q3 en Cardiología y Medicina Cardiovascular). Thomson Reuters (ISI) Impact factor 1,1. *SCImago Journal Rank* 0,35. Índice H de 16.
3. R. Gil-Gómez, J. Blasco-Alonso, J.A. González-Correa, J.P. de la Cruz-Cortés, J.J. Reyes de la Vega, G. Milano-Manso. Estrés oxidativo en el postoperatorio de cirugía cardiovascular pediátrica. *Revista Española de Cardiología*, aceptado en septiembre de 2014, pendiente de publicación definitiva. Revista bilingüe científica internacional, dedicada a las enfermedades cardiovasculares, es la publicación oficial

de la Sociedad Española de Cardiología. Nuevo factor de impacto JCR (2013) 3,342 (Q2 en Cardiología). SCImago Journal Rank 0,59. Índice H de 43.

- 4. En elaboración final para envío a revista en mes de octubre de 2014:** Raquel Gil-Gómez; Javier Blasco-Alonso; Rafael Castillo Martín; Guillermo Milano Manso. Cinética del estrés oxidativo e indicadores pronósticos clínicos en el postoperatorio de cirugía cardiovascular pediátrica.

Congresos:

1. Comunicación oral Nacional. XXVII Congreso de la SECIP, celebrado en Córdoba en 2012: “Respuesta inflamatoria sistémica y estrés oxidativo en cirugía cardiovascular infantil mediante circulación extracorpórea”. R. Gil, J. Blasco, J.A. González-Correa, J.M. Camacho, J.M. González, J.M. Gil, J.I. Zabala, G. Milano.
2. Comunicación oral Nacional. XXVII Congreso de la SECIP, celebrado en Córdoba en 2012: “Estrés oxidativo y agregación plaquetaria en cirugía cardiovascular pediátrica mediante circulación extracorpórea”. R. Gil, J. Blasco, J.J. Reyes, J.A. González, J.P. de la Cruz, J.M. González, J.M. Camacho, G. Milano.
3. Póster oral Nacional al XXXIII Congreso de la Sociedad Española de Farmacología celebrado en Málaga en 2011: “Blood oxidative stress and platelet parameters in pediatric patients undergoing heart surgery”. R. Gil, J. Blasco, J.J. Reyes, A. Guerrero, J. Muñoz-Marin, J.A. López-Villodres, J.P. De La Cruz, J.A. González-Correa.

Y ha sido objeto de los siguientes premios:

1. III Beca Nestlé de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Infantil sobre Nutrición Infantil por el trabajo titulado “Valoración nutricional y del estrés oxidativo tras isquemia-reperfusión en el postoperatorio de cirugía cardiovascular pediátrica y su relación con la tetrahidrobiopterina”. Dotado con 25000 euros. Años 2009 a 2011.
2. Premio a la mejor comunicación del XXVII Congreso de la SECIP, celebrado en Córdoba en 2012 por la comunicación titulada “Respuesta inflamatoria sistémica y estrés oxidativo en cirugía cardiovascular infantil mediante circulación extracorpórea”. Beca Orion-Pharma, dotada de 1000 euros.
3. Premio Profesor D. Antonio Martínez Valverde 2014 al mejor trabajo presentado, otorgado por la Sociedad de Pediatría de Andalucía Oriental (SPAIO) en septiembre de 2014, dotado de 3000 euros.

