

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL DE PEDIATRIA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**“Células endoteliales circulantes pre y postquirúrgicas en niños operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN:  
MEDICINA DEL ENFERMO PEDIÁTRICO EN ESTADO CRÍTICO**

**PRESENTA**

**Dr. Juan José Pérez Barragán<sup>1</sup>**

**Tutores.**

**Dr. Juan Carlos Rivera Rebolledo<sup>2</sup>**

**Dr. Héctor Jaime González Cabello<sup>3</sup>**

**Colaboradores**

**Dra. María Eugenia Paniagua Medina<sup>4</sup>**

**Dra. Angelica Rangel López<sup>5</sup>**

**1. Médico residente de 2do año de Especialidad en Medicina del Enfermo Pediátrico en Estado Crítico**

**2. Médico Intensivista Pediatra Adscrito al Servicio de Terapia Intensiva**

**3. Médico Pediatra Neonatólogo Adscrito al Servicio de Lactantes**

**4. Médico Intensivista Pediatra Adscrita al Servicio de Trasplantes**

**5. Investigador de tiempo completo de la Unidad de Investigaciones Nefrológicas**

**México DF**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AGRADECIMIENTOS.**

- A mi madre amor infinito, eres mi todo.
- A mis hermanos enanos hermosos, compañeros inseparables de toda la vida los amo.
- A mi ángel eterno mi padre sigues estando conmigo aunque no te pueda ver, te amo.
- A mi abuela, segundo ángel, aún después de la vida continuas enseñándome cosas y consolándome en los momentos difíciles.
- A mi tía no hay duda que has sido y eres mi segunda madre, te amo.
- Al resto de mi familia por estar siempre a mi lado, y hacer de mi el hombre que soy.
- A mis amigos, compañeros, maestros, son parte importante de mi pasado, presente y futuro.
- A Dios, después de todo lo que he pasado sigo creyendo que existes.
- A mis hijos y esposa aún los sigue esperando este médico loco, ansioso de darles todo lo que soy algún día compartirán estos logros conmigo, los amo.

|  |              |
|--|--------------|
| <b>CAPÍTULO II. ÍNDICE</b>                       |              |
| <b>CAPÍTULO III</b>                              |              |
| <b>INTRODUCCIÓN.....</b>                         | <b>6-7</b>   |
| <b>RESUMEN .....</b>                             | <b>8</b>     |
| <b>CAPÍTULO IV</b>                               |              |
| <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>           | <b>9</b>     |
| <b>CAPÍTULO V</b>                                |              |
| <b>ANTECEDENTES.....</b>                         | <b>10-17</b> |
| <b>CAPÍTULO VI</b>                               |              |
| <b>OBJETIVOS.....</b>                            | <b>18</b>    |
| <b>HIPÓTESIS.....</b>                            | <b>19</b>    |
| <b>JUSTIFICACIÓN.....</b>                        | <b>20-21</b> |
| <b>CAPÍTULO VII</b>                              |              |
| <b>DISEÑO<br/>METODOLÓGICO.....</b>              | <b>22-27</b> |
| <b>CAPÍTULO VIII</b>                             |              |
| <b>RESULTADOS, ANÁLISIS Y<br/>DISCUSIÓN.....</b> | <b>28-42</b> |
| <b>CAPÍTULO IX</b>                               |              |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>                         | <b>43</b>    |
| <b>CAPÍTULO X</b>                                |              |
| <b>ANEXOS.....</b>                               | <b>44-47</b> |
| <b>CAPÍTULO XI</b>                               |              |
| <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>                         | <b>48-51</b> |

### **CAPÍTULO III. INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades cardíacas congénitas en los niños requieren para su resolución de diferentes procedimientos quirúrgicos, los cuáles conllevan alteraciones sistémicas o hemodinámicas en general; que pueden poner en riesgo la vida del paciente, ya que la gran mayoría de ellas requiere de suspender la función del corazón mediante el uso de derivación cardio-pulmonar (DCP). El daño endotelial arterial pulmonar provocado posterior a DCP, contribuye a hipertensión arterial pulmonar con incremento del trabajo del ventrículo derecho y la presencia de falla ventricular derecha peri operatoria lo que se relaciona con un índice de mortalidad entre 44 a 86%.<sup>(2-3)</sup> El endotelio tiene un importante papel en regular el tono vascular, inhibiendo la agregación plaquetaria y la adhesión de neutrófilos a través de la liberación de vasodilatadores y vasoconstrictores; al evento que se presenta cuando existe desequilibrio entre los mencionados factores vasodilatadores y vasoconstrictores, y por lo que se ocasiona pérdida del rol protector normal del endotelio en la homeostasis de la pared vascular, se le conoce como disfunción endotelial (DE).<sup>(2-3)</sup> Durante la DCP existe la posibilidad de inestabilidad hemodinámica asociada con resistencia vascular sistémica baja (vasoplejia), debido a liberación sistémica de citocinas, lo que retrasa la extubación y prolonga la estancia de los pacientes en la unidad de terapia intensiva pediátrica (UTIP).<sup>(4-5)</sup> La falla cardíaca es un gran problema de salud pública dada su alta frecuencia, parece no ser solo el resultado de una sobrecarga o lesión cardíaca, sino que también es secundaria a cambios a nivel del miocito, o intersticio cardíaco o ambos, debido a una compleja interacción entre cambios bioquímicos, genéticos, inflamatorios, neurohormonales y genéticos, a estos, se les ha denominado biomarcadores, entre los que se pueden mencionar además: Imágenes clínicas, pruebas fisiológicas, genéticas, cambios microscópicos en las biopsias, así como alteraciones en los genes.<sup>(12-14)</sup> Los biomarcadores, han sido de utilidad para toma de decisiones terapéuticas en el paciente post operado de corazón bajo DCP, así como también, para predecir la evolución clínica del paciente, las células endoteliales circulantes (CEC) han sido utilizadas y descritas como marcadores de síndromes coronarios agudos en adultos, para estratificación y clasificación de los

mismos. <sup>(19-26)</sup> Por analogía y dado que el paciente coronario adulto, tiene a la isquemia, como el primer factor etiopatogénico de su disfunción ventricular, como una manifestación de la disfunción endotelial a nivel celular, es biológicamente plausible, que las CEC estén alteradas en el paciente pediátrico postoperado de cirugía cardíaca sometido a DCP, procedimiento que por si mismo puede condicionar isquemia además de la lesión vascular secundaria a todos los fenómenos que suceden durante DCP, ya descritos en párrafos anteriores, lo anterior le da peso específico a su posible utilidad en la estratificación de riesgo en el paciente post quirúrgico cardíaco sometido a DCP, como nuevo biomarcador de disfunción endotelial, pero aún no descrito en la literatura con estos fines.

## RESUMEN

### **“Células endoteliales circulantes pre y postquirúrgicas en niños operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar”**

**Introducción.** Las enfermedades cardíacas congénitas en los niños requieren para su resolución de diferentes procedimientos quirúrgicos, los cuáles conllevan alteraciones sistémicas o hemodinámicas en general; la gran mayoría de ellas requiere de suspender la función del corazón mediante el uso de derivación cardio-pulmonar (DCP). El endotelio tiene un importante papel en regular el tono vascular, al evento que se presenta cuando existe desequilibrio entre los factores vasodilatadores y vasoconstrictores se le conoce como disfunción endotelial (DE), la cual incrementa la morbilidad post operatoria. Los biomarcadores, han sido de utilidad para toma de decisiones terapéuticas en el paciente post operado de corazón bajo DCP, así como también, para predecir la evolución clínica del paciente. Existe evidencia que sugiere que las células progenitoras endoteliales (CPE) derivadas de la médula ósea circulan en la sangre y juegan un importante papel en la neoformación de vasos sanguíneos, así como, contribuyen en la homeostasis vascular, las CPE pueden participar no solamente en la neoformación de vasos sanguíneos, sino que también mantienen la integridad y función del endotelio vascular, las cuales ante eventos inflamatorios con lesión endotelial vascular, se desprenden de los vasos y al circular en sangre, se les denomina células endoteliales circulantes (CEC), la que han sido descritas como biomarcadores de eventos coronarios agudos en series de adultos, lo cual abre la posibilidad de que se encuentren alteradas en el paciente pediátrico sometido a DCP, con su posible utilidad subsecuente en la estratificación de riesgo de este tipo de pacientes, como nuevo biomarcador de la función endotelial aún no descrito en la literatura.

Objetivo general: 1. Cuantificar el número de células endoteliales circulantes sanguíneas en niños, en período pre y post quirúrgico de corazón sometidos a DCP. Objetivos específicos: 1. Identificar cual es el punto de corte de CEC, que se asocia a alteración de la función endotelial en los niños post operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar

El estudio se llevo a cabo en la Terapia Intensiva Pediátrica Hospital de Pediatría de la UMAE IMSS Siglo XXI, muestra no probabilística por conveniencia de 25 casos consecutivos de niños intervenidos quirúrgicamente a corazón abierto y bajo DCP. Diseño del estudio cohorte (antes y después de DCP).

Resultados: Se encontraron medianas de CEC pre quirúrgicas de 21/ml y post quirúrgicas de 53/ml, en 25 pacientes captados cardiopatas sometidos a DCP para corrección quirúrgica con valor predictivo positivo de 8 para las pre quirúrgicas, 2 para las post quirúrgicas, mortalidad en el estudio del 20% de los pacientes, mediana de edad 2 años, 40% de defectos septales sometidos a corrección quirúrgica.

Conclusiones: Los valores de CEC pre y post quirúrgicas son mayores que los reportados en adultos, las pre quirúrgicas muestran una alta sensibilidad y especificidad para predecir desenlace en cardiopatas pediátricos sometidos a DCP para corrección quirúrgica, la alta razón de probabilidad positiva encontrada en el valor de CEC pre quirúrgico sugiere la posibilidad de utilizar en un futuro este biomarcador para ayudar a decidir el llevar a cabo o no la corrección quirúrgica de algunos pacientes.

## **CAPÍTULO IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En pacientes adultos con enfermedad coronaria, y disfunción ventricular, alteración en la que el eje etiopatogénico es la isquemia, se han descrito cambios en las células progenitoras endoteliales que se han asociado al evento clínico mencionado, y se ha sugerido la posibilidad de que puedan representar una nueva clase de biomarcadores y si bien es cierto que no se ha hecho un estudio en donde se midan la CEC en niños, es factible que la alteración en dichas células, se puedan medir con una toma prequirúrgica y contrastarla contra la medición postquirúrgica, para conocer el comportamiento ante DCP. Se planteó la siguiente pregunta:

¿Cuál es el comportamiento de la cifra de CEC en niños operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar, en el período pre y postquirúrgico?



## **CAPÍTULO V. ANTECEDENTES**

Las enfermedades cardíacas congénitas en los niños requieren para su resolución de diferentes procedimientos quirúrgicos, los cuáles conllevan alteraciones sistémicas o hemodinámicas en general; que pueden poner en riesgo la vida del paciente, ya que la gran mayoría de ellas requiere de suspender la función del corazón mediante el uso de derivación cardio-pulmonar (DCP), lo que conduce a que la sangre sea expuesta a superficies celulares no endoteliales, ya que es recogida y recirculada en el cuerpo, con superficies sintéticas en el circuito de perfusión, circunstancias que desencadenan una reacción inflamatoria como mecanismo de defensa que involucra la activación de varios sistemas de proteínas plasmáticas, y de células sanguíneas. <sup>(1)</sup>

Esta respuesta inflamatoria que se desencadena posterior a la DCP, inicia un estímulo trombotico poderoso que implica la producción, liberación y circulación de sustancias vasoactivas, microembólicas y citotóxicas que afectan cada órgano y tejido del cuerpo. <sup>(1)</sup> Alteraciones fisiológicas entre las que se incluye, la inducción de una respuesta inflamatoria sistémica posterior a DCP, fueron identificadas poco tiempo después de su introducción en 1950. Durante la DCP el flujo sanguíneo es dirigido a la aurícula derecha por la bomba y de regreso dentro de la aorta. <sup>(2)</sup>

Hay reducción de flujo en las arterias pulmonares y los pulmones son perfundidos solamente por las arterias bronquiales y sometidos a isquemia. Al término de la DCP la ventilación y flujo de las arterias pulmonares se reinstalan, los pulmones están bajo reperfusión y sufren lesión por isquemia-reperfusión debido a exposición a radicales libres de oxígeno. <sup>(2)</sup> La activación de neutrófilos y plaquetas contribuye al daño pulmonar, el síndrome post bomba es caracterizado por incremento en la permeabilidad capilar pulmonar llevando a una disminución de oxígeno, manifestado por un incremento en el gradiente alveolo arterial de oxígeno, asociado con disminución de la distensibilidad pulmonar e incremento de las resistencias vasculares pulmonares. <sup>(2)</sup>

El daño endotelial arterial pulmonar provocado posterior a DCP, contribuye a hipertensión arterial pulmonar con incremento del trabajo del ventrículo derecho y la presencia de falla ventricular derecha peri operatoria lo que se relaciona con un índice de mortalidad entre 44 a 86%.<sup>(2-3)</sup>

El endotelio tiene un importante papel en regular el tono vascular, inhibiendo la agregación plaquetaria y la adhesión de neutrófilos a través de la liberación de vasodilatadores y vasoconstrictores; al evento que se presenta cuando existe desequilibrio entre los mencionados factores vasodilatadores y vasoconstrictores, y por lo que se ocasiona pérdida del rol protector normal del endotelio en la homeostasis de la pared vascular, se le conoce como disfunción endotelial (DE).<sup>(2-3)</sup>

El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica después de DCP puede ser inducido por liberación de citocinas pro-inflamatorias, y puede terminar en disfunción orgánica manifestado en daño miocárdico por reperfusión, lesión pulmonar y vasodilatación severa generalizada que incrementan la morbilidad post operatoria.<sup>(3-4)</sup> Durante la DCP existe la posibilidad de inestabilidad hemodinámica asociada con resistencia vascular sistémica baja (vasoplejia), debido a liberación sistémica de citocinas, lo que retrasa la extubación y prolonga la estancia de los pacientes en la unidad de terapia intensiva pediátrica (UTIP).<sup>(4-5)</sup> El contacto de la sangre con la superficie bioactiva del circuito de DCP y la isquemia por reperfusión también generan activación de la micro circulación a través de todo el cuerpo, dando lugar a la disfunción orgánica múltiple, la que es generada por la inflamación sin embargo al momento actual no está totalmente claro el mecanismo de acción de la misma y, por lo tanto existen pocas formas para prevenirla o tratarla.<sup>(5-6)</sup> Se sabe que la inflamación y la coagulación están íntimamente ligadas, la primera de estas regula la expresión del factor tisular en la microvasculatura, el cual dispara la activación de la coagulación, además de la expresión del inhibidor del activador del plasminógeno, lo que inhibe la activación de la fibrinólisis.<sup>(5-7)</sup> La inflamación también regula proteínas anticoagulantes naturales, tales como, la proteína C y S, trombomodulina y antitrombina. Estas

proteínas son particularmente activas a nivel de la microcirculación, esta respuesta inflamatoria puede terminar en lesión tisular isquémica debido a trombosis microvascular. <sup>(6-7)</sup> Varios estudios sugieren que la trombosis microvascular puede ser un importante mecanismo a través del cual la inflamación causa disfunción orgánica, pero aún este mecanismo de lesión posterior a DCP no se conoce; a esta alteración o disfunción, se manifiesta clínicamente por la llamada falla o insuficiencia cardíaca <sup>(7)</sup>

En la actualidad, en la mayoría de la terapias intensivas tanto para adultos como para niños, se emplean escalas validadas, que en general tienen como objetivo evaluar las distintas fallas orgánicas y/o la gravedad del enfermo, como las denominadas TISS, PRIMS, APACHE, <sup>(8)</sup> entre otras, pero en forma específica para pacientes con enfermedad cardiovascular y corrección quirúrgica se emplean las escalas pronósticas denominadas RASCH 1 para predecir mortalidad con base en el tipo de procedimiento y la llamada ARISTOTLE, cuya utilidad está demostrada, tanto a nivel internacional como nacional, y se puede considerar como una forma clínica de evaluación de los trastornos post DCP, ya que se incluyen variables clínicas, de intervención farmacológica y de otro tipo, tanto en el período preoperatorio como post DCP. <sup>(9-11)</sup>

La falla cardíaca es un gran problema de salud pública dada su alta frecuencia, parece no ser solo el resultado de una sobrecarga o lesión cardíaca, sino que también es secundaria a cambios a nivel del miocito, o intersticio cardíaco o ambos, debido a una compleja interacción entre cambios bioquímicos, genéticos, inflamatorios, neurohormonales y genéticos, a estos, se les ha denominado biomarcadores, entre los que se pueden mencionar además: imágenes clínicas, pruebas fisiológicas, genéticas, cambios microscópicos en las biopsias, así como alteraciones en los genes. <sup>(12-14)</sup>

Los biomarcadores, han sido de utilidad para toma de decisiones terapéuticas en el paciente post operado de corazón bajo DCP, así como también, para predecir la evolución clínica del paciente, los más frecuentemente empleados son los derivados de muestras rutinarias sanguíneas o urinarias (hemoglobina, enzimas

hepáticas, electrolitos séricos, creatinina), son mencionados consistentemente como parte del cuidado clínico. <sup>(12-14)</sup>

Se han precisado tres criterios para que un biomarcador sea utilizado en la clínica. *Primero*, la medición seriada debe estar disponible en corto tiempo y a un costo razonable para el clínico.

*Segundo*, el biomarcador debe proveer de nueva información sobre alguna evaluación clínica.

*Tercero* El resultado debe permitir tomar decisiones clínicas.

Pocos biomarcadores actualmente satisfacen los tres criterios, sin embargo muchos parecen proveer de información importante considerando la patogénesis de la falla cardíaca o la identificación de sujetos en riesgo para presentar falla cardíaca, estratificación de riesgo, diagnóstico de falla cardíaca o el monitoreo de la misma. <sup>(14)</sup> No existe actualmente una clasificación de biomarcadores aceptada, se podrían encuadrar en seis grupos de los ahora conocidos y en siete si se agrega el grupo de los que todavía no están bien descritos. (Cuadro 1). <sup>(14)</sup>

### CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE BIOMARCADORES

| MEDIADORES                              | TIPOS O PRUEBAS                        |   |   |   |
|---|--|---|---|---|
| <b>INFLAMACIÓN</b>                      | PROTEÍNA C REACTIVA                    | FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA             | FAS (APO 1)   | INTERLEUCINAS 1,16,18   |
| <b>STRESS OXIDATIVO</b>                 | LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD OXIDADAS | MIELOPEROXIDASA                             | BIOPIRRINAS URINARIAS   | ISOPROSTANOS URINARIOS Y PLASMÁTICOS<br>MALONDIALDEHID O PLASMÁTICO |
| <b>REMODELACIÓN MATRIZ EXTRACELULAR</b> | METALOPROTEÍNAS AS DE LA MATRIZ        | INHIBIDORES TISULARES DE METALOPROTEINAS AS | PROPÉPTIDOS DE COLÁGENO<br>PROCOLÁGENO TIPO I Y III PLASMÁTICOS |   |

|                           |                                     |   |  |   |
|---------------------------|-------------------------------------|---|--|---|
| <b>NEUROHORMONAS</b>      | NOREPINEFRINA                       | RENINA,<br>VASOPRESINA,<br>ARGININA                   | ANGIOTENSINA II  | ALDOSTERONA,<br>ENDOTELINA  |
| <b>LESIÓN DEL MIOCITO</b> | TROPONINAS I Y T                    | CINASA DE LA<br>CADENA LIGERA DE<br>MIOSINA I         | PROTEÍNAS DE<br>ÁCIDOS GRASOS<br>TIPO CARDÍACO         | CREATININASA<br>FRACCIÓN MB                                       |
| <b>STRESS DEL MIOCITO</b> | PÉPTIDO<br>NATRIURÉTICO<br>CEREBRAL | PÉPTIDO<br>NATRIURÉTICO<br>CEREBRAL PRO N<br>TERMINAL | FRAGMENTO<br>MEDIOREGIONAL DE<br>PROADRENOMEDULI<br>NA | ST2   |
| <b>NUEVOS</b>             | CROMOGRANINA                        | GALECTINA 3   | OSTEOPROTEGERINA                                       | ADIPONECTINA,<br>FACTOR 15 DE<br>DIFERENCIACIÓN<br>DE CRECIMIENTO |

Con respecto a algunos biomarcadores, en la literatura se informan de los siguientes valores de corte, con utilidad clínica:

1. Los Valores de mieloperoxidasa mayores de 400pmol/dl se asocian con 80% de frecuencia de falla cardiaca.
2. Cifras de Péptido natriurético cerebral mayores a 600pg/ml, se asocia con 100% de frecuencia de falla cardiaca, mientras que los niveles séricos de péptido natriurético cerebral mayor de 238pg/dl se relacionan mortalidad por arriba del 35%.
3. Los valores séricos de norepinefrina mayores de 572 pg/ml se asociaron con 27%, de mortalidad. <sup>(14)</sup>
4. La cifra sérica de ácido láctico y el cálculo de la brecha aniónica, entre otros, han ayudado a predecir la necesidad de mayores maniobras de soporte hemodinámico. En un grupo de niños con comunicación interventricular (CIV), operados bajo DCP, de la UTIP, donde laboran los autores, se reportó que un nivel de ácido láctico mayor de 2mmol/L a las 24 horas y una brecha aniónica mayor de 14mmol/L a las 24 horas se asociaban a mayor riesgo de mortalidad. <sup>(11)</sup>

Existe un estudio en población pediátrica llevado a cabo en 10 pacientes sometidos a DCP con 5 mediciones 1 prequirúrgica 30 minutos antes de la cirugía, 2 transquirúrgicas 5 minutos después de la entrada a DCP y al final de la misma, y 2 post quirúrgicas a la primera posterior a la salida de bomba y a las 24 horas el cual identificó potenciales marcadores de patología tales como hemopexina, ceruloplasmina, inhibidor inter alfa H4 y alfa 2 macroglobulina entre otras 13 en total lo cual abre el horizonte para continuar estudiando en el campo de los cuidados críticos cardiovasculares este tipo de biomarcadores con tanto auge en la población adulta. <sup>(15)</sup> Hay descripciones de la lesión por oxidación proteica lo cual se ha visto que puede influir en la morbilidad post operatoria, así como, el rol del stress oxidativo, status del hierro e inflamación, sin embargo siguen siendo cohortes aisladas con pocos pacientes lo cual le da poco peso específico en los hallazgos encontrados en las mismas y se sugiere el hecho de continuar abordando esta área para obtener mejores resultados. <sup>(16-17)</sup>

Por otra parte existe evidencia que sugiere que las células progenitoras endoteliales derivadas de la médula ósea circulan en la sangre y juegan un importante papel en la neoformación de vasos sanguíneos, así como, contribuyen en la homeostasis vascular. <sup>(18)</sup> Las células progenitoras endoteliales fueron inicialmente identificadas a través de su expresión CD34 (un marcador de superficie de las células madre hematopoyéticas y células endoteliales), y el receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular, pero no se han diferenciado completamente de otros marcadores de células endoteliales. Las células progenitoras endoteliales probablemente representan una población heterogénea de células cuya función específica no se conoce aún del todo. <sup>(18-19)</sup> Las células progenitoras endoteliales pueden participar no solamente en la neoformación de vasos sanguíneos también mantienen la integridad y función del endotelio vascular. <sup>(19)</sup>

Lee y colaboradores estudiaron 519 pacientes adultos con enfermedad arterial coronaria quienes fueron seguidos durante un año posterior a cateterismo cardíaco y encontraron que los pacientes con altos niveles de células progenitoras

endoteliales tenían una disminución en el riesgo de muerte de origen cardiovascular además de una reducción en la presencia de nuevos eventos cardiovasculares. <sup>(19)</sup>

La inmunotipificación de la célula endotelial a través de la determinación de un perfil de biomarcadores celulares entre ellos el CD 146, CD 133, CD 34 y el receptor 2 de factor de crecimiento celular endotelial vascular, todos estos miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas expresado en células endoteliales circulantes (CEC), del cual se ha encontrado relación con incremento de eventos trombóticos recurrentes en pacientes ateroscleróticos adultos, además de estratificar pacientes con riesgo de falla cardíaca asociados a síndromes coronarios agudos en comparación con otros biomarcadores como el factor de Von Willebrand e interleucina 6. <sup>(19-22)</sup>

Los valores encontrados en adultos sanos son de 3 CEC/ml, la elevación de este valor se ha observado también en pacientes portadores de anemia de células falciformes, sepsis, púrpura trombopénica trombótica, enfermedad de Behcet con rangos entre 0-1500 CEC/ml, los valores encontrados en síndromes coronarios agudos oscilan entre 20-47 CEC/ml, con una media de 14; un conteo de CEC mayor de 7/ml provee un valor predictivo positivo de 90.6%, y un valor predictivo negativo de 53.5% para el diagnóstico de infarto agudo al miocardio en presencia de un cuadro clínico característico, todo esto en un estudio realizado en adultos de 40 a 80 años de edad clasificados y estratificados con calificaciones de riesgo para síndromes coronarios agudos en el 2007. <sup>(19-26)</sup>

Por analogía y dado que el paciente coronario adulto, tiene a la isquemia, como el primer factor etiopatogénico de su disfunción ventricular, como una manifestación de la disfunción endotelial a nivel celular, es biológicamente plausible, que las CEC estén alteradas en el paciente pediátrico postoperado de cirugía cardíaca sometido a DCP, procedimiento que por si mismo puede condicionar isquemia además de la lesión vascular secundaria a todos los fenómenos que suceden durante DCP, ya descritos en párrafos anteriores, lo anterior le da peso específico a su posible utilidad en la estratificación de riesgo en el paciente post quirúrgico

cardíaco sometido a DCP, como nuevo biomarcador de disfunción endotelial, pero aún no descrito en la literatura con estos fines, ya que la utilización de este tipo de marcadores con valor pronóstico se ha evaluado a la fecha, solo en los ya referidos síndromes coronarios agudos en adultos,

Los cambios en las células progenitoras endoteliales asociados a determinados eventos clínicos sugieren la posibilidad de que puedan representar una nueva clase de biomarcadores que bajo efectos genéticos y ambientales, pudiesen tener valor pronóstico en la evolución clínica de los pacientes pediátricos sometidos a bomba extracorpórea y si bien es cierto que no se ha hecho un estudio en donde se midan la CEC en niños, es factible que la alteración en dichas células, se puedan medir con una toma prequirúrgica y contrastarla contra la medición postquirúrgica, para conocer el comportamiento ante DCP, y si se encontrase una modificación, se sugeriría la asociación de daño endotelial secundario, en los pacientes sometidos a DCP y se empezarían a cumplir los postulados establecidos para considerar a una variable como biomarcador. <sup>(14)</sup>



## **CAPÍTULO VI.**

### **OBJETIVOS.**

#### General

1. Cuantificar el número de células endoteliales circulantes sanguíneas en niños, en período pre y posquirúrgico de corazón sometidos a DCP

#### Específicos

1. Identificar cual es el punto de corte de CEC, que se asocia a alteración de la función endotelial en los niños post operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar

## **HIPÓTESIS.**

El número de células endoteliales circulantes (CEC), será mayor a 7 /ml en el 65% de los niños sometidos a derivación cardiopulmonar,

## **JUSTIFICACIÓN.**

En general en las Terapias Intensivas Pediátricas, es el sitio donde se ingresan los pacientes postoperados de corazón en el período postoperatorio inmediato, y este tipo de pacientes, constituyen en los hospitales de concentración, una de las primeras causas de ingreso; en la Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP) del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional (HPCMN) Siglo XXI, donde laboran los autores, se tienen un total de 626 ingresos por año (2007), de los cuales el 30% (188), fueron niños con cardiopatía congénita que requirieron cirugía con DCP, con una mortalidad del 2.4% (15), Debido a lo complejo de la respuesta inflamatoria en pacientes con cirugía cardiaca bajo DCP, se han empleado diversos biomarcadores clínicos y de laboratorio, con diferentes niveles de utilidad, recientemente, se han descrito biomarcadores celulares específicos de disfunción endotelial, con aparente buen valor pronóstico en el paciente post síndrome coronario agudo, que han permitido decidir con datos mas firmes, entre la amplia gama de opciones terapéuticas inotrópicas y vasopresoras, ya que en la actualidad la elección de este tipo de medicamentos y la evolución clínica del paciente se determina con base a la experiencia clínica diaria y a lo expuesto en la literatura mundial en base a diferentes tipos de marcadores séricos de disfunción endotelial con pobre valor pronóstico aislado. El seguir tratando de encontrar biomarcadores en el área crítica cardiovascular en pediatría nos permitirá contar en un futuro a partir de este tipo de estudios con una forma más específica de establecer la disfunción endotelial en niños post operados de corazón lo cual dará pauta para optar por la mejor terapéutica para cada paciente, y de esta manera

tratar de incidir positivamente el desenlace final de los pacientes con enfermedad cardiaca sometidos a cirugía paliativa o correctiva bajo DCP.

## **CAPÍTULO VII. DISEÑO METODOLÓGICO**

El estudio se llevo a cabo en la Terapia Intensiva Pediátrica Hospital de Pediatría de la UMAE IMSS Siglo XXI

**Tamaño de muestra:** Se trata de una muestra no probabilística por conveniencia de veinticinco casos consecutivos de niños intervenidos quirúrgicamente a corazón abierto y bajo derivación cardiopulmonar,

**Diseño del estudio** Cohorte (antes y después de DCP).

### **Población de estudio**

Niños post operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar, ingresados a la Terapia Intensiva Pediátrica

### **Criterios de inclusión**

Se incluyeron niños entre 30 días a 4 años de vida post operados de corazón sometidos a derivación cardio-pulmonar

### **Criterios de no inclusión**

Comorbilidad asociada (previamente infectado, con insuficiencia renal antes de la cirugía, oncológicos y/o con isquemia previa)

### **Criterios de eliminación**

Defunción transquirúrgica, desarrollo de sepsis temprana en las primeras 24h postcirugía.

## **Descripción General del Estudio**

### **Lugar:**

El estudio se efectuó en la Terapia Intensiva Pediátrica del Hospital de Pediatría UMAE CMN Siglo XXI, unidad médica de alta especialidad, de 3er nivel de atención, que recibe pacientes procedentes de la zona Sur del Valle de México y de los Estados de Querétaro, Guerrero, Chiapas y Morelos.

### **Método para inclusión de pacientes:**

1. Se identificaron en la libreta de programación de cirugía cardiovascular, a los pacientes que reúnan los criterios de inclusión.
2. Una vez identificados, se procedió a obtener la carta de consentimiento informado de los padres.
3. A los pacientes, hijos de los padres que aceptaron participar en el estudio, se les tomaron las muestras de sangre para medición de CEC, preoperatorias como muestra basal y posteriormente, a las 18h de cirugía, una vez que sus condiciones generales, se encontraban estabilizadas del periodo inicial de máxima respuesta inflamatoria secundaria al procedimiento, de preferencia en forma simultánea a la toma de los productos habituales, tomando una alícuota de sangre de 5ml extras.
4. Por interrogatorio y revisión del expediente clínico se obtuvieron los otros datos de la hoja de recolección *ex profeso*, los que fueron capturados en una base de datos del estudio, en el programa SPSS 11

### **Método para la obtención y captura de información**

1. Se realizó una toma de muestra sanguínea a niños con cardiopatía congénita programados para cirugía correctiva o paliativa con DCP antes del procedimiento quirúrgico como muestra basal.
2. La segunda muestra se tomó a los mismos niños, después de las primeras 18 horas del procedimiento quirúrgico y la derivación cardiopulmonar.

3. En cada caso se obtuvo un volumen aproximado de 5 mL de sangre periférica, la cual se recolectó en tubo siliconizado con EDTA (1mg/mL) como anticoagulante (eliminando los primeros 2-3 mL de sangre para evitar contaminación con células endoteliales de la pared del vaso puncionado).

4. La sangre se diluyó 1:4 con solución salina estéril y las células mononucleares se aislaron a través de una separación por gradiente usando Ficoll-Hypaque (densidad 1.077). Las células mononucleares recuperadas de la interfase, se lavaron dos veces con solución salina estéril y se contaron en un hemocitómetro, para hacer alícuotas dependiendo del número inicial ( $10^7$  hasta  $2 \times 10^8$  cel/mm<sup>3</sup>) en PBS pH= 7.4.

5. La inmunocaptura de las células endoteliales se realizó colocando una alícuota de células mononucleares en un tubo (previamente enfriado en hielo) con un volumen de amortiguador que contiene partículas magnéticas acopladas a estreptavidina (IMag buffer), se incubó durante unos minutos, luego se agregó el anticuerpo CD146 marcado con biotina y se colocó en el campo del magneto (BD IMagnet) dejando reaccionar aproximadamente 6 minutos.

6. Posteriormente, se removió el sobrenadante y se lavó con amortiguador dos veces (los antígenos que comparten las células se retuvieron en el tubo mientras que las otras células se removieron con el sobrenadante). Luego se removió el tubo del campo magnético y se analizaron las células capturadas con las partículas todavía unidas (la fracción que se quedó en el fondo del tubo fue la que se analizó en el citómetro de flujo para realizar la cuenta de células endoteliales).

7. La identificación (inmunofenotipificación) de las células endoteliales se realizó incubando estas células con los siguientes anticuerpos: el anticuerpo CD34 marcado con APC, el anticuerpo VEGF R2 marcado con FITC y el CD133 marcado con Alexa 730.

El porcentaje de células positivas se analizó por citometría de flujo (FACS Aria, Becton Dickinson) y se comparó con un control isotipo IgG.

## Plan de análisis:

Se utilizó estadística descriptiva para el cálculo de frecuencias simples así como medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de las variables. Además mediante curva ROC se obtuvo el punto de corte y se asoció la cifra de CEC, asociada con falla en la función endotelial medida por cifra de lactato sérico superior a 2mMol/L, en niños post operados de corazón sometidos a DCP. Se empleó análisis estratificado para control de las variables de confusión.

## DESCRIPCION DE VARIABLES

### VARIABLES DEPENDIENTES

| <b>Variable</b>                  | <b>Definición conceptual</b>  | <b>Definición operativa</b>   | <b>Escala de medición</b> | <b>Unidades</b> |
|----------------------------------|---|---|---------------------------|-----------------|
| Células endoteliales circulantes | Células del endotelio vascular que circulan en sangre cuantificadas por citometría de flujo | Células epiteliales altamente especializadas que forran el endotelio que se desprenden del mismo y circulan en sangre | Cuantitativa continua     | Células/ml      |

### VARIABLES INDEPENDIENTES

| <b>Variable</b>    | <b>Definición conceptual</b>                         | <b>Definición operativa</b>   | <b>Escala de medición</b> | <b>Unidades</b> |
|--------------------|--|---|---------------------------|-----------------|
| Edad               | Tiempo transcurrido del nacimiento a la fecha actual | Tiempo que una persona, animal o planta ha vivido desde que nació                     | Cuantitativa continua     | Meses           |
| Peso               | Medición de masa corporal de un individuo            | Fuerza que ejerce un cuerpo sobre su apoyo como resultado de la acción de la gravedad | Cuantitativa continua     | Kilogramos      |
| Patología de fondo | Entidad cardíaca por la cual se indicó la cirugía    | Enfermedad principal de una persona   | Cualitativa nominal       | Nominal         |



|   |  |  |                       |                                 |
|---|--|--|-----------------------|---------------------------------|
| Apoyo inotrópico (días de uso, clase y dosis) | Medicamentos de apoyo a la frecuencia cardíaca y presión arterial sistémica intravenosos, clasificación farmacológica, intervalo de uso en el paciente y dosis | Medicamentos que se utilizan para mantener el latido cardíaco y la presión arterial de una persona | Cuantitativa continua | Microgramos por kilo por minuto |
| Tiempo con ventilación mecánica               | Tiempo de sostén respiratorio (ciclo respiratorio inspiración-espирación) llevado a cabo por medio de un ventilador  | Utilización de un dispositivo artificial para ayudar al paciente a respirar                        | Cuantitativa continua | Días                            |
| Días de estancia en la terapia intensiva      | Intervalo de tiempo entre ingreso y egreso de un paciente en terapia intensiva   | Días en que el paciente se mantiene en terapia intensiva desde su ingreso                          | Cuantitativa continua | Días                            |

## VARIABLES DE CONFUSIÓN

| Variable                      | Definición conceptual  | Definición operativa  | Escala de medición    | Unidades |
|-------------------------------|--|---|-----------------------|----------|
| Tiempo de dcp                 | Tiempo en el cual el flujo sanguíneo corporal, así como, la oxigenación del mismo se controla y fluye por una bomba extracorpórea el cual permite la realización de correcciones quirúrgicas de patologías cardíacas | Tiempo en el que un sistema mecánico es capaz de mantener las constantes de un paciente que precisan la detención temporal del corazón, del pulmón o de ambos y que es capaz de mantener una transferencia de oxígeno en la sangre fuera del paciente al tiempo que es impulsada por un sistema de bombeo | Cuantitativa continua | Minutos  |
| Tiempo de pinzamiento aórtico | Tiempo en el flujo aórtico sanguíneo es intervenido por colocación de una pinza en el cayado aórtico   | Tiempo de colocación de una pinza quirúrgica para detener el flujo sanguíneo a través de la aorta   | Cuantitativa continua | Minutos  |

|                                 |   |   |   |          |
|---------------------------------|---|---|---|----------|
| Hipertensión arterial sistémica | Aumento de la presión arterial sistólica y y/o diastólica en dos desviaciones estándar, de acuerdo media de TA para la talla del paciente | Aumento de la presión arterial sistólica y y/o diastólica en dos desviaciones estándar, de acuerdo media de TA para la talla del paciente de las curva de referencia del CDC2000. | Nominal dicotómica:<br>Si = TA > 2 ds de la media de TA para la talla<br>No: TA < 2 ds la media de TA para la talla | Si<br>No |
| Insuficiencia Renal Aguda       | Síndrome clínico, con oliguria por abajo de 0.5mlxkgxh, acompañado de Elevación de los azoados e indicadores de falla renal               | Síndrome clínico, con oliguria por abajo de 0.5mlxkgxh, aunado a Fracción excretada de Sodio (FENA) menor de 2  | Nominal dicotómica:<br>SI. FeNa ≥2<br>NO: FeNa < 2  | Si<br>No |
| Hipoxemia grave                 | Disminución del Índice de Kirby por debajo de 200 mmHg  | Disminución del Índice de Kirby por debajo de 200 mmHg  | Nominal dicotomica<br>Si: Kirby ≥ 200<br>No Kirby < 200   | Si<br>No |

### ASPECTOS ÉTICOS.

Este estudio se llevo a cabo de acuerdo a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos promulgados en la declaración de Helsinki en Junio de 1964, enmendada en la Asamblea General Mundial en Escocia en Octubre de 2000, con notas de clarificación sobre el párrafo 29 agregada por la Asamblea General en Washington 2002 y sobre el párrafo 30 en Tokio 2004, además de lo estipulado por el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, se considera como un estudio con riesgo mínimo, para los sujetos en estudio, por lo que requiere carta de consentimiento informado (anexo 2), firmada previamente por ambos padres, realizada de acuerdo a los lineamientos de la NOM número 168.

## CAPÍTULO VIII. RESULTADOS ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Durante el período de estudio se ingresaron a la UTIP del hospital sede del estudio un total de 125 pacientes, de los cuales 35 con diagnóstico de algún tipo de enfermedad cardíaca y de ellos se captaron los 25 niños cardiopatas que en forma consecutiva fueron intervenidos quirúrgicamente para corrección bajo DCP, y que cumplieron los criterios de inclusión; en la tabla 1 se hace una descripción de las variables demográficas observadas en el grupo de estudio en donde resalta, una mediana de edad de 24 meses, con un predominio en el sexo masculino de 1:1.27, llama la atención que a pesar del estado de desnutrición esperado en cualquiera de sus categorías en este tipo de pacientes predominan los pacientes eutróficos con un 56%; con respecto a la mortalidad fue del 20%.

**Tabla 1 Datos demográficos generales correspondientes a niños cardiopatas sometidos a DCP\* (n=25)**

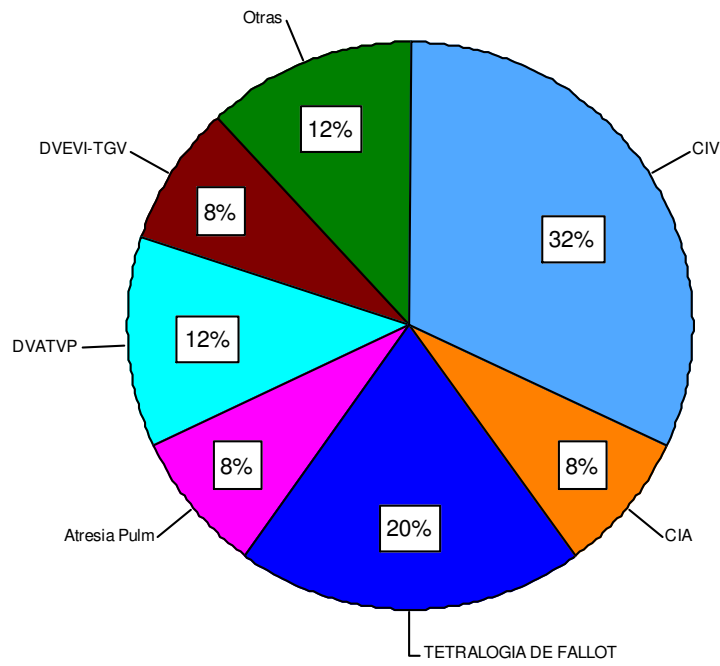
| <b>Variables</b>   | <b>Medidas de tendencia N ó %</b> | <b>Valores extremos</b> |
|--|-----------------------------------|-------------------------|
| <b>Edad en meses (Md)</b>                                  | 24                                | 1-48                    |
| <b>Sexo</b><br><b>F</b><br><b>M</b><br><b>Relación F/M</b> | 11<br>14<br>1: 1.27               | No aplica               |
| <b>Peso en kg (md)</b>                                     | 9.300                             | 2.7-17.1                |
| <b>Talla en cm (md)</b>                                    | 78                                | 45-117                  |
| <b>Estado Nutricional (n)</b>                              |                                   |                         |

|                   |          |           |
|-------------------|----------|-----------|
| <b>Eunutrido</b>  | 14 (56%) | No aplica |
| <b>Grado I</b>    | 0        |           |
| <b>Grado II</b>   | 9 (23%)  |           |
| <b>Grado III</b>  | 2 (8%)   |           |
| <b>Desenlace</b>  |          | No aplica |
| <b>Vivos</b>      | 20(80%)  |           |
| <b>Fallecidos</b> | 5 (20%)  |           |

\*DCP= derivación cardiopulmonar

El gráfico 1 muestra la frecuencia de cada uno de los tipos de cardiopatía congénita de los pacientes del grupo de estudio, la de mayor frecuencia relativa fueron las que incluyen defectos septales, y en segundo lugar la Tetralogía de Fallot, el grupo de estudio se completa con niños con cardiopatías complejas entre ellas el drenaje venoso total anómalo de venas pulmonares y la atresia pulmonar, entre otras.

**Grafico 1: Frecuencia de los tipos de cardiopatía en el grupo de estudio**



En la tabla 2 se reportan las variables perioperatorias, en donde destaca el ARISTOTLE más alto en 23 pacientes (92%), de acuerdo al diagnóstico de base, y una calificación RASH-1 de 2 en 48%, las medianas de tiempo de DCP de 90 minutos y de pinzamiento de 52 minutos, que se consideran prolongados.

**Tabla 2 Variables perioperatorias en el grupo de estudio (n=25)**

| <b>Variables</b>                      | <b>Medidas de tendencia central, n ó %</b> | <b>Valores extremos o porcentajes</b> |
|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| RASH 1: 1                             | 9  | 36%                                   |
| 2                                     | 12   | 48%                                   |
| 3                                     | 4  | 11%                                   |
| 4                                     | 0  | 0                                     |
| 5                                     | 0  | 0                                     |
| 6                                     | 0  | 0                                     |
| ARISTOTLE 1 (1.5-5.9)                 | 0  | No aplica                             |
| 2 (6-7.9)                             | 0  |                                       |
| 3 (8-9.9)                             | 2  |                                       |
| 4 (10-15)                             | 23   |                                       |
| Tiempo de DCP (Md en minutos)         | 90   | 23-250                                |
| Tiempo de pinzamiento (Md en minutos) | 52   | 0-123                                 |
| Días AMV (Mediana en días)            | 1  | 0-22                                  |
| Días estancia UTIP(Mediana)           | 2  | 1-27                                  |
| Días apoyo inotrópico (Mediana)       | 1  | 0-23                                  |

Se evaluó la validez y seguridad de la prueba y los resultados se muestran en la tabla 3, y destaca que la sensibilidad como la especificidad son altas, con valores predictivos y razones de probabilidad correspondientes.

**Tabla 3. Validez y seguridad de la prueba de CEC/ml pre quirúrgicas\***

| <b>Estimador</b>                  | <b>Valor</b> | <b>IC 95%</b> |
|-----------------------------------|--------------|---------------|
| Sensibilidad                      | 0.800        | 0.376, 0.990  |
| Especificidad                     | 0.900        | 0.699, 0.972  |
| Valor predictivo positivo         | 0.667        | 0.300, 0.903  |
| Valor predictivo negativo         | 0.947        | 0.754, 0.997  |
| Razón de Probabilidad de positiva | 8.0          | 2.001, 31.988 |
| Razón de Probabilidad de negativa | 0.222        | 0.038, 1.291  |

\* nivel de corte 21 CEC prequirúrgicas/mL

Al igual que la prueba de CEC prequirúrgicas, se evaluó la validez y seguridad de la CEC postquirúrgicas como predictor de mortalidad, y los resultados se muestran en la tabla 4, y resalta que mantiene la sensibilidad pero disminuyó la especificidad y sus correspondientes valores predictivos y las razones de probabilidad.

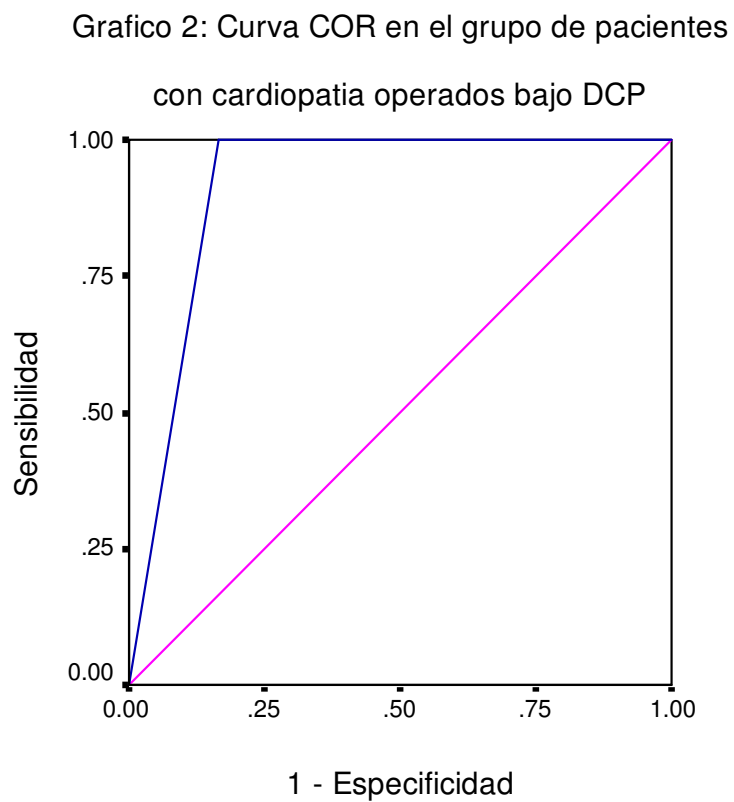
**Tabla 4. Validez y seguridad de la prueba de CEC/ml postquirúrgicas\***

| <b>Estimador</b>                  | <b>Valor</b> | <b>IC 95%</b> |
|-----------------------------------|--------------|---------------|
| Sensibilidad                      | 0.917        | 0.517, 0.991  |
| Especificidad                     | 0.595        | 0.387, 0.774  |
| Valor predictivo positivo         | 0.393        | 0.188, 0.644  |
| Valor predictivo negativo         | 0.962        | 0.717, 0.996  |
| Razón de Probabilidad de positiva | 2.265        | 1.278, 4.013  |
| Razón de Probabilidad de negativa | 0.140        | 0.010, 2.036  |

\* nivel de corte 53 CEC postquirúrgicas/ml

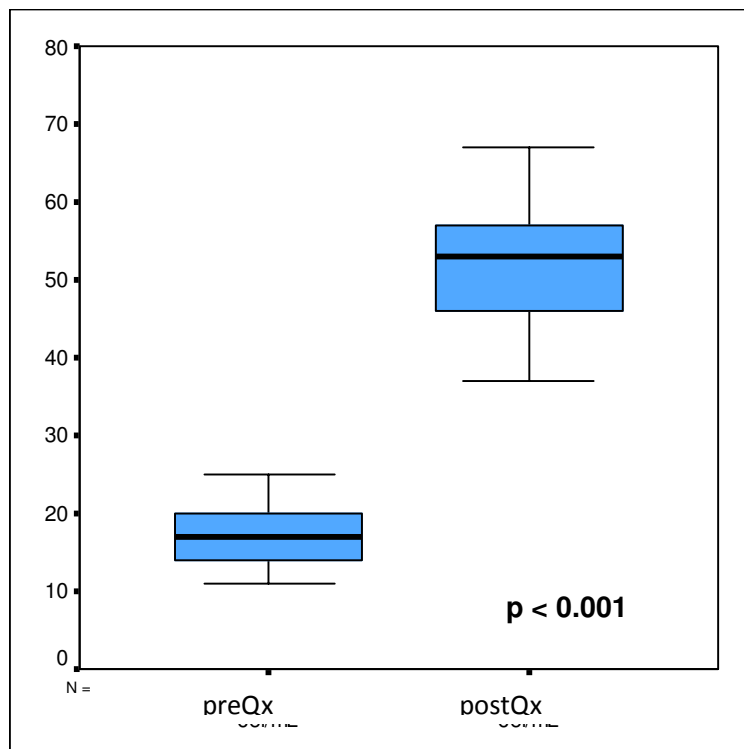


En el grafico 2 se muestra la curva COR final con un punto de corte de 20 CEC/ml, pre quirúrgicas, con la mayor sensibilidad y especificidad.



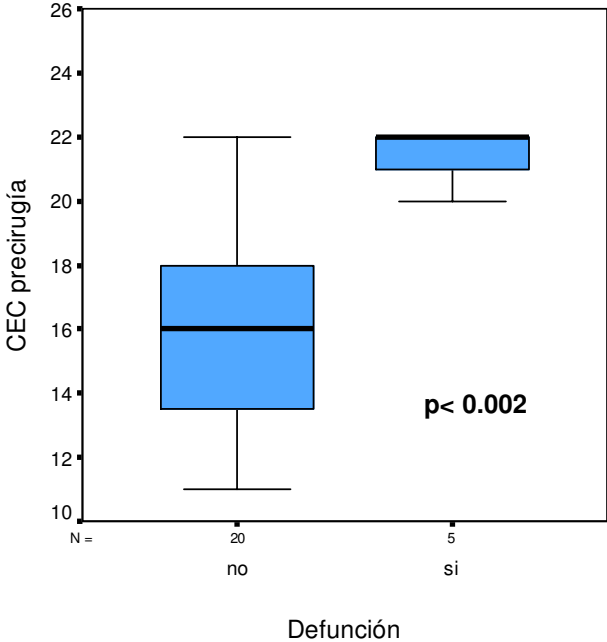
En el gráfico 3, se ilustra la cuantificación de las CEC en los periodos pre y postquirúrgicos en el grupo de estudio y resalta una diferencia significativa alta.

**Gráfico 3 CEC/ml pre y post cirugía en un grupo de niños con cardiopatía congénita intervenidos quirúrgicamente bajo DCP (n = 25)**

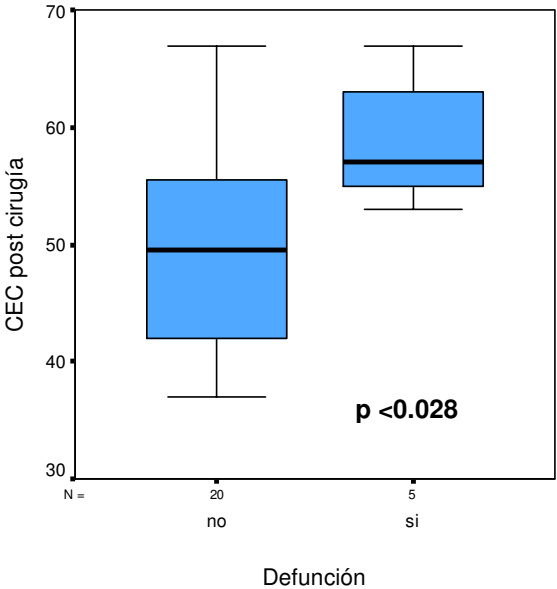


En los gráficos 4 y 5 se muestra una comparación entre las CEC pre y postquirúrgicas en el grupo de estudio divididos en pacientes sobrevivientes, y los que fallecieron, es evidente la elevación, tanto en el control pre como postquirúrgico en los pacientes que fallecieron con diferencia significativa.

**Grafico 4: CEC prequirúrgicas asociados a mortalidad en un grupo de pacientes con cardiopatía operados bajo DCP (n=25)**



**Grafico 5: CEC postquirúrgicas asociados a Mortalidad en un grupo de pacientes con cardiopatía operados bajo DCP (n=25)**



Finalmente se presentan en la tabla 5, las variables preponderantes en el grupo de pacientes que fallecieron, y resulta relevante por las escalas clínicas se ubicaban en un grupo de riesgo moderado de mortalidad y con cifras en los indicadores para clínicos inconsistentes, sin embargo, tanto las CEC pre como las postquirúrgicas en todos los casos, superaron el nivel de corte calculado para las CEC.

**Tabla 5 Variables clínicas y para clínicas en las cinco defunciones del grupo de pacientes con cardiopatía operados bajo DCP (n=25)**

| Diagnóstico de la Cardiopatía       | EDO NUTRICIO | ARISTOTLE | RASCH-1 | LACTATO | BRECHA ANIÓNICA | DÍAS AMV | DÍAS UTIP | DÍAS INOTRÓPICO | CEC PREQX | CEC POSTQX |
|-------------------------------------|--------------|-----------|---------|---------|-----------------|----------|-----------|-----------------|-----------|------------|
| <b>Caso 1</b><br>ATRESIA PULMONAR   | II grado     | 4         | 3       | 1.3     | 12              | 9        | 9         | 9               | 22        | 53         |
| <b>Caso 2</b><br>TETRALOGÍA FALLOT  | II grado     | 4         | 2       | 15      | 24              | 1        | 1         | 1               | 20        | 67         |
| <b>Caso 3</b><br>ESTENOSIS PULMONAR | II grado     | 4         | 2       | 1.9     | 15              | 9        | 9         | 9               | 21        | 57         |
| <b>Caso 4</b><br>DVEVI-TG           | Eunutrido    | 4         | 2       | 1.5     | 11              | 1        | 2         | 1               | 22        | 55         |
| <b>Caso 5</b><br>CIV                | Eunutrido    | 4         | 2       | 3.6     | 13              | 2        | 2         | 2               | 25        | 63         |

## CAPITULO VIII. DISCUSIÓN

Los progresos constantes en la atención de niños con cardiopatía, han disminuido la morbilidad y han aumentado la sobrevida, debido principalmente a un diagnóstico más oportuno y a la decisión precoz de paliación o corrección quirúrgica según sea el caso. A pesar de ello, la mortalidad sigue alta en algunas de las cardiopatías, por lo que una parte de la atención integral de estos niños es la vigilancia y estabilización, previa a la cirugía. Como en otras enfermedades, se ha tratado de identificar al paciente con riesgo de desenlace fatal mediante indicadores clínicos o paraclínicos; recientemente se emplean los denominados biomarcadores, de los cuales en pacientes cardiopatas se ha recomendado a la brecha aniónica y al lactato séricos, como elementos útiles para sospechar hipoperfusión sistémica generalmente grave, pero no son útiles como predictores en el paciente pediátrico cardiopata estable. A partir de 1976 las células endoteliales circulantes (CEC), han sido descritas como biomarcadores de eventos coronarios agudos en series de adultos. La analogía de la enfermedad isquémica, con la fisiopatogenia de la baja perfusión en niños con enfermedad cardiaca grave, hizo inferir la posibilidad de que se encuentren alteradas en el paciente pediátrico sometido a DCP, con una posible utilidad subsecuente en la estratificación de riesgo de este tipo de pacientes por lo que se les ha propuesto como un nuevo candidato a biomarcador de la función endotelial en niños con hipertensión arterial pulmonar secundaria a enfermedad cardiaca congénita.<sup>(27)</sup> Por lo anterior, el objetivo del estudio fue precisamente indagar cómo se encuentran las denominadas CEC en el niño cardiopata sometido a cirugía bajo DCP.

El grupo de estudio se integró de 25 pacientes pediátricos con enfermedad cardiaca congénita intervenidos quirúrgicamente bajo DCP, a los cuales se les cuantificó las CEC en etapa pre y postquirúrgica. En dicho grupo la mediana de edad fue de 24 meses, que se considera alta de acuerdo a los criterios de edad para intervención quirúrgica de niños con cardiopatías congénitas; por ejemplo, en niños con CIV se recomienda intervenir a los 6 meses<sup>(28)</sup> y la media de edad

para los pacientes con CIV de este estudio fue de 21.6 meses, lo cual conlleva un incremento en el riesgo de morbimortalidad secundaria a hipertensión arterial pulmonar entre otras, como se demostró en un trabajo previo, en el que se reportó mortalidad asociada a hipertensión arterial pulmonar en casi el 50% en niños con CIV.<sup>(11)</sup>

La mayor incidencia de defectos septales encontrado en presente trabajo, fue de un 40%, lo cual no difiere con lo reportado en la literatura, ya que los defectos ventriculares son la anomalía congénita cardíaca más comúnmente diagnosticada en un 20% de pacientes con cardiopatía congénita, y los defectos septales auriculares presentes en el 10 a 15% de los pacientes con cardiopatía congénita.<sup>(28,29,30)</sup> El hecho de que el resto de las cardiopatías reportadas en los niños del presente estudio correspondan al grupo de cardiopatías complejas obedece a un sesgo de referencia ya que la unidad hospitalaria, donde se llevó a cabo el estudio es una hospital de tercer nivel de atención, para la región sur del valle de México y de los estados de Querétaro, Morelos, Chiapas y Guerrero.

El estado nutricional, no se encontró alterado en más de la mitad del grupo de estudio (56%), muy semejante tanto en los pacientes que fallecieron como en los sobrevivientes, dato que contrasta con lo observado en otras series en donde la desnutrición prequirúrgica, se considera un factor de riesgo para mortalidad.<sup>(38)</sup>

La mortalidad global, cuantificada en este estudio, fue de 20% y aunque pudiera explicarse por la diversidad de los padecimientos cardíacos congénitos graves, supera los porcentajes de mortalidad descritos en la literatura del 4%, aún en cardiopatías congénitas complejas,<sup>(28)</sup> y se puede teorizar que es debido a que los traslados de los pacientes a la Unidad hospitalaria sede de la investigación, son tardíos, sin poder establecer claramente la razón de ello aunque parecieran ser problemas con la oportunidad diagnóstica y aun más con los criterios de referencia; por otro lado, en forma específica para niños con CIV, fue del 12.5%, consistente con la cifra reportada en un trabajo anterior<sup>(11)</sup> Las clasificaciones de RASCH-1 y ARISTOTLE, poco descritas en la literatura, son predictores validados en la morbi-mortalidad de niños con cardiopatía congénita sometidos a corrección

quirúrgica; <sup>(9,10)</sup> y en el presente estudio mostraron su utilidad ya que si se encontró una correlación en los niños que fallecieron.

La mediana en minutos, cuantificada para los tiempos de DCP y pinzamiento aórtico son prolongadas, si se comparan a lo reportado en la literatura mundial con medianas de 60 y 30 minutos, respectivamente aún en cardiopatías complejas.

Las medianas de las variables postquirúrgicas, como la estancia en la UTIP, de los días de apoyo inotrópico y de los días de asistencia mecánica a la ventilación, son similares a lo señalado en otras revisiones internacionales que informan de retiro temprano de la ventilación, suspensión de apoyo inotrópico, y disminución en la estancia, lo cual disminuye la morbi-mortalidad y los costos hospitalarios. <sup>(28)</sup>

Con respecto al principal objetivo de la presente investigación, que fue la cuantificación de las células endoteliales circulantes (CEC) en el paciente pediátrico cardiópata intervenido bajo DCP, tanto en el período prequirúrgico (CECpreQx), como en el postquirúrgico (CECpostQx), las medianas reportadas para las CECpreQx fue de 20/ml, y para las CECpostQx fue de 53/ml con diferencia significativa grupal entre ambos períodos, y también con diferencia significativa grupal al comparar las CEC en dos momentos (pre y postcirugía) además al separar en grupo de estudio en sobrevivientes y fallecidos para evaluarlas como predictores de mortalidad, , nuevamente se mostró diferencia significativa tanto en las cifras pre como post intervención quirúrgica bajo DCP;

El contrastar los resultados obtenidos en el presente trabajo, fue difícil ya que al revisar la información acerca de las CEC, y su utilidad clínica, se encuentran escasas investigaciones, relacionadas a reporte de cifras variables de CEC, en pacientes con enfermedad coronaria, <sup>(25)</sup> infecciones, enfermedades inmunológicas y cáncer, <sup>(31-37)</sup> con significancia estadística como prueba diagnóstica, pero no contundente para pronóstico, <sup>(37)</sup> de las anteriores la más relevante fue el informe

de Werner en el 2005 <sup>(25)</sup>, quien establece la cifra de corte de 7/ml (3-14) para enfermedad coronaria en adultos, cifra tres veces menor a la que se describe en el presente estudio, la diferencia puede ser explicada por las características biológicas diferentes y la mayor tolerancia a la hipoxia tisular en niños.

Por otra parte, solo hay un reporte y muy reciente, en la literatura sobre la utilidad de las CEC en niños, realizado por Smadja y colaboradores <sup>(27)</sup> y reportado en Enero de 2009 en Francia, la cual propone a las CEC como un marcador no invasivo de daño vascular, remodelación y disfunción, y sugiere que se encuentran presentes en pequeñas cantidades, en individuos sanos aunque hasta el momento no se cuenta con un estudio poblacional, pediátrico. En el estudio referido se intentaba predecir irreversibilidad de la hipertensión pulmonar secundaria a cardiopatía congénita<sup>(27)</sup>, en 31 pacientes en total, con cifras de CEC de 12 a 166/ml media de 62, en 10 pacientes con hipertensión arterial refractaria a tratamiento médico, cifra similar a los valores encontrados en la investigación actual de 51.64/ml (37 a 67), en pacientes con cardiopatías congénitas graves tanto con flujo pulmonar aumentado y disminuido, en el periodo postoperatorio, esta similitud hace sospechar que el ser operados bajo DCP, se ocasiona hipoxia en alguna medida y posiblemente comparable con la fisiopatogenia de hipoxia crónica en pacientes con hipertensión arterial pulmonar grave, dado que las cifras de presión arterial pulmonar eran prácticamente normales con medicamentos y ninguno requirió de cerclaje de la arteria pulmonar previo a la cirugía correctiva .

Como parte de la investigación en Francia, se tomaron muestras de cinco pacientes sanos y las cifras cuantificadas fueron con media de 3 y valores extremos de 0.6 a 19.8, esta última cifra se estableció como cifra de corte, y que se asocia de forma significativa con el fallecimiento en el grupo de estudio, motivo de nuestro trabajo, con cifra media para la etapa preoperatoria de 17.28/ml (11 a 25).



Durante este estudio se evaluó la validez y seguridad de la prueba y los valores obtenidos (tabla 5), de la CECpreQx, la ubican como una prueba más específica que sensible pero con buena utilidad pronóstica y aun diagnóstica, por otra parte los valores de las CECpostQx, la muestran como un mejor indicador de la hipoxia (biomarcador) durante DCP, aunque con menor utilidad como factor pronóstico; los datos son similares a lo informado por Smadja para hipertensión arterial pulmonar irreversible, lo cual sugiere posible daño endotelial hipóxico en niños con hipertensión arterial irreversible.

El estudio presenta las siguientes limitaciones: la falta de un grupo control con determinar valores de CEC en niños cardiopatas intervenidos sin DCP, y niños intervenidos electivamente de alteraciones no cardiológicas ni respiratorias, como por ejemplo estrabismo, hernias inguinales, etc.; probablemente en futuras investigaciones convendrá contar o dividir lo grupos en niños con cardiopatías cianógenas y no cianógenas, para establecer el nivel de corte de las CEC en diferentes grupos con distintos factores de riesgo y dar así un mayor peso específico como un nuevo biomarcador diagnóstico y pronóstico en el campo del niño cardiopata sometido o no a DCP para su corrección quirúrgica.

Este estudio abre la puerta para la realización de nuevos estudios en diferentes grupos de cardiopatías congénitas sometidas a corrección quirúrgica bajo DCP, así como, en niños sanos para determinar los valores pediátricos normales; es el primer estudio en la literatura del continente americano y el segundo a nivel mundial que describe el comportamiento de este nuevo biomarcador en el paciente cardiopata pediátrico sometido a corrección quirúrgica bajo DCP, que establece valores mínimos y máximos en un grupo heterogéneo de cardiopatías en el paciente pediátrico, correlación del nuevo biomarcador con variables clínicas y para clínicas previamente utilizadas para inferir el desenlace de estos niños,

La hipótesis formulada al principio, se acepta al contrastar los resultados encontrados con la misma y mostrando una elevación de más de 7 CEC/ml en más del 65% de los pacientes con una significancia estadística.

## **CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES**

1. Los valores de CEC prequirúrgicas y postquirúrgicas, son mayores con respecto a las cifras reportadas para adultos.
2. Las CEC prequirúrgicas parecen ser un buen biomarcador con alta sensibilidad y especificidad para predecir desenlace en el paciente pediátrico cardiópata sometido a corrección bajo DCP, y deberían considerarse como un buen indicador en la ayuda de toma de decisión del tratamiento en cierto tipo de pacientes con cardiopatía e hipertensión arterial pulmonar, entre otras.
3. Las CEC postquirúrgicas tienen mayor sensibilidad que especificidad que las CEC prequirúrgicas pero también ayudarían en la evaluación postquirúrgica en la necesidad temprana de diversas medidas de apoyo ya sea hemodinámico o de ventilación, para mejorar el desenlace en el paciente pediátrico cardiópata sometido a corrección bajo DCP.
4. La cifras de corte para la CEC prequirúrgicas y postquirúrgicas son de 20 /ml y de 53/ml respectivamente
5. La alta razón de probabilidad positiva encontrada en el valor de CEC prequirúrgico sugiere la posibilidad de utilizar en un futuro este biomarcador para ayudar a decidir el llevar a cabo o no la corrección quirúrgica de algunos pacientes.
6. En la actualidad aunque se cuenta con pocos biomarcadores en las UTIP a nivel nacional que sirvan de apoyo al clínico para predecir el desenlace o la toma de decisiones del paciente cardiópata pediátrico sometido a DCP para corrección, ocasionalmente se emplean, por lo que es prioritario incentivar el uso de los disponibles, tanto clínicos como las escalas RASCH1, ARISTOTLE, .y algunos para clínicos como brecha aniónica y lactato séricos y con los datos de la investigación actual, la cuantificación de CEC tanto pre como postquirúrgicas,.

## CAPÍTULO X. ANEXOS

### CRONOGRAMA.

| ETAPA                             | MARZO<br>2008-<br>ABRIL<br>2009 | MAYO-JULIO<br>2009 | JULIO-<br>AGOSTO 2009 |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------|-----------------------|
| Elaboración de protocolo          | X                               |                    |                       |
| Presentación de protocolo         |                                 | X                  |                       |
| Obtención de autorización         |                                 | X                  |                       |
| Recolección de información        |                                 | X                  |                       |
| Ordenamiento de datos             |                                 | X                  |                       |
| Almacenar información             |                                 | X                  |                       |
| Procesamiento y análisis de datos |                                 |                    | X                     |
| Reporte final                     |                                 |                    | X                     |

## HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE:  
2=F

EDAD: MESES

SEXO: 1=M

PESO: KG

TALLA: CM

ARISTOTLE %  
6

RASCH-1: 1 2 3 4 5

Diagnóstico de Enfermedad Principal:

TIEMPO DE DCP: \_\_\_\_\_ minutos

TIEMPO DE PINZAMIENTO AÓRTICO: \_\_\_\_\_ minutos

DÍAS DE VENTILACIÓN MECÁNICA: \_\_\_\_\_ días

DÍAS DE ESTANCIA EN LA TERAPIA INTENSIVA: \_\_\_\_\_ días

APOYO INOTRÓPICO: 1. DOPAMINA 2. DOBUTAMINA 3.  
MILRINONA

4. ADRENALINA 5. NORADRENALINA 6. LEVOSIMENDAN

DÍAS DE UTILIZACIÓN DE INOTRÓPICO: \_\_\_\_\_ días

Lactato sérico (18h) : \_\_\_\_\_ mMol/L Brecha Anionica(18h): \_\_\_\_\_ mEq/L

DEFUNCIÓN: 1: SI 2: NO

CÉLULAS ENDOTELIALES CIRCULANTES

PREQUIRÚRGICAS: \_\_\_\_\_ /mL

POST QUIRÚRGICAS: \_\_\_\_\_ /mL

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D. F. a \_\_\_\_\_ del mes \_\_\_\_\_ 200\_\_\_\_\_

Nosotros

\_\_\_\_\_ O \_\_\_\_\_ O \_\_\_\_\_

Padre y madre del  
paciente \_\_\_\_\_

Estamos de acuerdo en que nuestra(o) hija(o) participe en el estudio: **“Células endoteliales circulantes pre y postquirúrgicas en niños operados de corazón sometidos a derivación cardiopulmonar”**

Se me ha informado que la investigación tiene como objetivo, saber si con la prueba sanguínea que se va a estudiar, se puede saber desde antes, si habrá problemas o complicaciones en las horas posteriores a la cirugía de la enfermedad cardíaca, a corazón abierto.

Me explican que para la prueba sanguínea, se tomarán 5ml de sangre a mi hijo a su antes de la cirugía y otra vez, después de las primeras 18h posteriores a la cirugía, ya durante su estancia en la Terapia Intensiva Pediátrica, se tomarán en conjunto con otros exámenes sanguíneos que se realizan en este tipo de pacientes, para su vigilancia postoperatoria.

**Posibles Beneficios:** en esta fase del estudio, no hay un beneficio directo, en la atención de mi hijo, ya que por el momento no se sabe cuáles son los resultados normales en niños con la enfermedad como la de mi hijo, pero el objetivo del estudio precisamente es establecer las cifras normales y las anormales y anticiparse así al diagnóstico de posible complicaciones, además de los métodos que se usan actualmente, por lo que mi hijo siempre será vigilado cuidadosamente.

**Posibles molestias o inconvenientes:** solo son los relacionados a la punción de la vena para tomar la muestra de sangre, pero será la misma que en condiciones normales, ya que la toma se hará aprovechando el mismo momento en que de todas formas se le toma sangre para otros exámenes de control de este tipo de pacientes, las molestias consisten en un poco de dolor momentáneo por la

punción y posiblemente algún moretón pequeño o sangrado mínimo, que se controlará como en cualquier punción venosa..

**CONFIDENCIALIDAD:** Toda información que se derive de éste estudio será confidencial.

Se me explica que la participación en el presente estudio es voluntaria, asimismo se informa que podremos retirar del proyecto a nuestro hijo(a), en cualquier momento que lo decidamos, sin que se afecte la atención médica que actualmente recibo dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se ha dado a los padres una copia de éste documento y pueden leerlo detenidamente antes de tomar la decisión. También se nos ha informado sobre las personas que podemos contactar en caso de tener preguntas sobre el proyecto:

Dr. Juan José Pérez Barragán, Dr. Juan Carlos Rivera Rebolledo, Dr. Héctor J González Cabello servicio de Terapia Intensiva Pediátrica teléfonos para localizarles: 56276900 ext. 22472 y 22369

**Consentimiento de los padres**

|                       |                       |
|-----------------------|-----------------------|
|                       |                       |
| <b>Nombre y firma</b> | <b>Nombre y firma</b> |

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
|                                       |  |
| <b>Testigo1</b> <b>Nombre y firma</b> | <b>Testigo 2</b> <b>Nombre u firma</b> |

**Investigadores responsables**

|                              |                                  |
|------------------------------|----------------------------------|
|                              |                                  |
| Dr. Juan José Pérez Barragán | Dr. Juan Carlos Rivera Rebolledo |

## CAPÍTULO XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Raja SG, Berg GA. Impact of OffPump Coronary Artery Bypass Surgery on Systemic Inflammation: Current Best Available Evidence. *J Card Surg.* 2007;22:445-455
2. Aubin MC, Laurendeau S, Mommerot A, et al. Differential Effects of Inhaled and Intravenous Sildenafil in the Prevention of the Pulmonary Endothelial Dysfunction Due to Cardiopulmonary Bypass. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008;51:11–17
3. Hazama S, Eishi K, Yamachika S, et al. Inflammatory Response after Coronary Revascularization:Off-pump versus On-pump (Heparin-coated Circuits and Poly2methoxyethylacrylate-coated Circuits). *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;10: 90–6
4. Robles L. Systemic inflammatory response in pediatric cardiac surgery. *Arch Cardiol Mex.* 2006 Apr-Jun;76 Suppl 2:S92-9.
5. Brix-Christensen V. The systemic inflammatory response after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in children. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001;45:671-679
6. Larmann J, Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology.* 2004;18:425–438
7. Dixon B, Santamaria J, Campbell D. Coagulation Activation and Organ Dysfunction Following Cardiac Surgery. *CHEST.* 2005; 128:229–236
8. Pollack MM et al. Pediatric Risk of Mortality score. *Crit Care Med.* 1988;16:1110-6
9. Jenkins K. Risk adjustment for congenital heart surgery: the Rachs-1 method. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2004;7:180-4
10. Kang N, Cole T, Tsang V, et al. Risk stratification in pediatric open heart surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004;26:3-11



11. Vega S, Rivera J, González H. Factores asociados a mortalidad en niño sometidos a corrección de Comunicación interventricular. Tesis. 2007
12. Kerbaul F, Collart F, Giorgi R, et al. Role of endogenous adenosine as a predictive marker of vasoplegia during cardiopulmonary bypass and postoperative severe systemic inflammatory response. *Crit Care Med.* 2006; 34:640-645
13. Kalyanaraman M, DeCampi WM, Campbell AI, et al. Serial blood lactate levels as a predictor of mortality in children after cardiopulmonary bypass surgery. *Pediatr Crit Care Med.* 2008;9:1-4
14. Braunwald E. Biomarkers in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2008; 358:2148-59
15. Lull ME, Carkaci-Salli N, Freeman WM, et al. Plasma Biomarkers in Pediatric Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass. *Pediatr Res.* 2008;63:638-44
16. Sheil ML, Luxford C, Davies MJ, et al. Protein oxidation injury occurs during pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;130:1054-61
17. Christena S, Finckhb B, Lykkesfeldtc J, et al. Oxidative stress precedes peak systemic inflammatory response in pediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass operation. *freeradbiomed.* 2005;38:1323-32
18. Rosenzweig A. Circulating Endothelial Progenitors Cells as Biomarkers. *N Engl J Med.* 2005;10:1055-1057
19. Lee K, Lip G, Tayebjee M. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood.* 2005;105:526-532
20. Khan S, Solomon M, McCoy JP. Detection of Circulating Endothelial Cells and Endothelial Progenitor Cells by Flow Cytometry. *Clinical Cytometry.* 2005;64:1-8
21. Hunting BC, Noort WA & Zwaginga JJ. Circulating endothelial (progenitor) cells reflect the state of the endothelium: vascular injury, repair and neovascularization. *Vox Sanguinis.* 2005; 88: 1–9

22. Dignat-Gorge F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol* 2000; 65: 215-220.
23. Boos CJ, Soor SK, Kang D, et al. Relationship between circulating endothelial cells and the predicted risk of cardiovascular events in acute coronary syndromes. *European Heart Journal*. 2007; 28:1092–1101
24. Diller GP, Eijl SV, Okonko DO, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients With Eisenmenger Syndrome and Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*. 2008;117:3020-3030
25. Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells and Cardiovascular Outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353: 999-1007
26. Blume ED, Nelson DP, Gauvreau K, et al. Soluble adhesion molecules in infants and children undergoing cardiopulmonary bypass. *Circulation*. 1997 Nov 4;96(9 Suppl):II-352-7.
27. Smadja DM, Gaussem P, Mauge L, Israel-Biet D, Dignat-George F, Peyrard S et al. Circulating Endothelial Cells, a new candidate biomarker of irreversible pulmonary hypertension secondary to congenital heart diseases. *Circulation*. 2009;119:374-81
28. Spevak PJ, Ungerleider R. Atrial septal defects and Ventricular septal defects. En: *Critical Heart Disease in Infants and Children*. Nichols DG, Ungerleider RM, Spevak PJ, Greeley WJ, Cameron DE, Lappe DG (Eds.) Mosby Elsevier. 2a. Edición Estados Unidos de América, 2006, pp 579-92
29. Muir Head OM. Report on perinatal and infant mortality in Massachusetts. En: *Pediatric Cardiology*. Garson A, Briquerek JT, Mc Namara, (Eds.) Pennsylvania, Lea and Febiger, 1990, pp 661-675
30. Pérez Treviño C, editor: *Cardiopatías congénitas*. Compendio. México, Pérez-Treviño ediciones, 1973
31. Quilici J, Banzet N, Paule P, et al. Circulating endothelial cell count as a diagnostic marker for non-ST elevation acute coronary syndromes. *Circulation*. 2004;110:1586-91

32. Widemann A, Sabatier F, Arnaud L. CD 146 based immunomagnetic enrichment followed by multiparameter flow cytometry: a new approach to counting circulating endothelial cells. *J Thromb Haemost.* 2008;6:869-76
33. Mancuso P, Burlini A, Pruneri G, et al. Resting and activated endothelial cells are increased in the peripheral blood of cancer patients. *Blood.* 2001;97:3658-61
34. Woywodt A, Blann A, Bory MSJ, et al. Isolation and enumeration of circulating endothelial cells by immunomagnetic isolation: proposal of a definition and a consensus protocol. *J Thromb Haemost.* 2006;4:671-77
35. Mutin M, Canavy I, Bory MSJ, et al. Direct evidence of endothelial injury in acute myocardial infarction and unstable angina by demonstration of circulating endothelial cells. *Blood.* 1999;93:2951-58
36. Blann AD, Woywodt A, Bertolini F, et al. Circulating endothelial cells: biomarker of vascular disease. *Thromb Haemost.* 2005;93:228-35
37. Furstenberger G, Von Moos RL, Thurlimann B, et al. Circulating endothelial cells and angiogenic serum factors during neoadjuvant chemotherapy of primary breast cancer. *Br J Cancer.* 2006;94:524-31
38. Alvarez T, Ballesteros F, Camino M y cols. Nutrición en el paciente cardiopata. En: *Cuidados críticos en cardiopatías congénitas o adquiridas.* Muñoz R (Eds.) Distribuna. 1ª. Colombia, 2008, pp 41-46