



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**

**"MEDICIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE FAS LIGANDO (FasL) EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA MANEJADA CON  
CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA"**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA: DR. PEDRO RODRÍGUEZ GÓMEZ

COMITÉ TUTOR:

M.C. EUGENIA DOLORES RUIZ CRUZ

D. en C. VILMA CAROLINA BEKKER MÉNDEZ

INVESTIGADORES ASOCIADOS:

DR. JOSÉ COSMOS SALDAÑA SÁNCHEZ



CIUDAD DE MÉXICO

AGOSTO, 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **Comité tutor**

### **Investigador principal:**

#### **M en C. Eugenia Dolores Ruiz Cruz**

Médico de base del servicio de genética Médica.

Adscripción: UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, CMN “LA RAZA”

Matrícula: 99363367

Correo electrónico: [draeugenia.ruiz@gmail.com](mailto:draeugenia.ruiz@gmail.com)

Teléfono: 5529146651

#### **M en C. Vilma Carolina Bekker Méndez**

Jefe de la unidad de investigación

Adscripción: Unidad de Investigación en Inmunología e Infectología, Hospital de Infectología “Daniel Méndez Hernández”, CMN “LA RAZA”

Matricula: 11114452

Correo electrónico: [bekkermendez@yahoo.com](mailto:bekkermendez@yahoo.com)

Teléfono: 57821088 ext. 24315

### **Investigadores asociados:**

#### **Médico residente tesista**

##### **Dr. Pedro Rodríguez Gómez.**

Residente de segundo año de la especialidad de Genética Médica

Adscripción: UMAE Hospital General “Gaudencio González Garza”.

Matrícula: 97366854

Correo electrónico: [rodriguez.pedro100@gmail.com](mailto:rodriguez.pedro100@gmail.com)

Teléfono: 6561973948

##### **Dr. José Cosmos Saldaña Sánchez**

Adscrito a la Terapia Intensiva Pediátrica, Centro Médico Nacional La Raza, Hospital General Gaudencio González Garza, en el séptimo piso.

Matricula: 99387555

Correo electrónico: [Cosmos\\_sal@hotmail.com](mailto:Cosmos_sal@hotmail.com)

Teléfono: 55 24 59 00 Ext: 23489, 23490

## **Agradecimientos**

Agradezco a mis profesores que participaron en el desarrollo de mi tesis.

Mi especial agradecimiento a los me ayudaron a llevarla a cabo:

M en C. Eugenia Dolores Ruiz Cruz

Dra. Vilma Carolina Bekker Méndez

Dra. Charmina Aguirre Alvarado

QFB. Técnico en Investigación Mónica Patricia Ortiz Maganda

TLC. Nayeli Cabrera Velázquez

## Contenido

Resumen.....	1
Marco teórico .....	2
Gen y proteína .....	2
Inflamación y apoptosis.....	3
Efectos de FasL sobre los tejidos.....	3
Efectos de FasL sobre el miocardio .....	4
Cuantificación de FasL y su expresión .....	4
Cardiopatías congénitas .....	5
Circulación extracorpórea .....	5
Justificación .....	6
Planteamiento del problema.....	7
Pregunta de investigación .....	7
Objetivo general .....	7
Objetivos específicos.....	7
Hipótesis.....	8
Variables cuantitativas .....	8
Variables cualitativas.....	8
Criterios de inclusión exclusión y eliminación del proyecto principal .....	10
Criterios de inclusión, exclusión y eliminación de este proyecto .....	10
Tamaño de muestra .....	10
Material y métodos.....	10
Desarrollo del proyecto .....	11
Procesamiento de datos.....	12
Aspectos éticos .....	12
Recursos, infraestructura financiamiento y factibilidad .....	13
Aspectos de bioseguridad .....	13
Resultados .....	14
Análisis de resultados.....	18
Discusión .....	25
Conclusión .....	26
Referencias .....	
Anexos .....	

## índice de tablas

Tabla 1. Descripción de variables .....	9
Tabla 2. Datos demográficos de la población estudiada. ....	14
Tabla 3. Concentraciones plasmáticas de FasL previo a la CEC (FasL1) y posterior a la CEC (FasL2).15	
Tabla 4. Cuenta de linfocitos previa (TL1) y posterior (TL2) a la CEC.....	16
Tabla 5. Se registra el diagnóstico del paciente, el tiempo en CEC (tCEC), el diferencial de la cuenta de leucocitos ( $\Delta L$ ) y la concentración diferencial de FasL ( $\Delta FasL$ ). ....	17
Tabla 6. Se registra la evolución y el desenlace.....	18
Tabla 7. Correlación de Pearson para las variables tCEC y FasL2. ....	20
Tabla 8. Correlación de Pearson entre la tCEC y $\Delta FasL$ .....	21
Tabla 9. Coeficiente de correlación entre tCEC >100 min y $\Delta FasL$ . ....	22
Tabla 10. Coeficiente de correlación de Pearson para las variables tCEC y TL2.....	23
Tabla 11. Correlación entre tCEC y $\Delta L$ .....	24
Tabla 12. Coeficiente de correlación de Pearson. ....	25

## índice de ilustraciones

Ilustración 1. Concentración de FASL1 y FasL2 determinada por ELISA.. ....	19
Ilustración 2. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y FasL2.....	20
Ilustración 3. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y $\Delta FasL$ . ....	21
Ilustración 4. Gráfico de dispersión, correlación entre las variables tCEC>100 min y $\Delta FasL$ . Estratificación de los datos.....	22
Ilustración 5. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y TL2.....	23
Ilustración 6. Gráfico de dispersión del análisis de correlación entre tCEC y $\Delta L$ . ....	24
Ilustración 7. Gráfico de dispersión del análisis de correlación entre $\Delta FasL$ y $\Delta L$ . ....	25
Ilustración 8. Medición de la expresión relativa de FASL en el proyecto principal. ....	Anexos
Ilustración 9. RT-PCR con PCR punto final del mRNA de FASL usando $\beta$ -catenina como control .....	Anexos

## **Glosario**

**CC:** cardiopatías congénitas

**CEC:** circulación extracorpórea

**CIA:** Comunicación Interauricular

**CIV:** Comunicación Interventricular

**$\Delta$ FasL:** concentración diferencial de FasL

**$\Delta$ L:** Cuenta diferencial de linfocitos

**DISC:** *death-inducing signaling complex*

**ELISA:** Ensayo Enzimático de Inmuno Adsorción

**FADD:** *Fas associated protein with death domain*

**FasL:** Fas Ligando

**INF-gamma:** interferón Gamma

**IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social

**IL-2:** Interleucina-2

**NK:** *Natural Killer*

**NO:** óxido nítrico

**mRNA:** Ácido ribonucleico mensajero

**DAMPs:** *Damage-Associated Molecular Patterns* (Patrones Moleculares Asociados al Peligro)

**PCR:** Proteína C Reactiva

**r:** Coeficiente de correlación de Pearson

**RT-PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa

**T1:** Tiempo antes de la ECE

**T2:** Tiempo después de la ECE

**TCR:** T-Cell Receptor

**TNF:** tumor necrosis factor (Factor de necrosis tumoral)



## Resumen

### **Medición de niveles séricos de Fas Ligando (FasL) en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejada con circulación extracorpórea**

#### **Antecedentes**

La proteína Fas es un miembro de la Superfamilia de receptores del Factor de Necrosis Tumoral (TNF: *tumor necrosis factor*) se localiza en los linfocitos y en tejidos como el miocardio. Fas ligando (FasL) induce la apoptosis por la vía extrínseca en las células que expresan el receptor Fas, los efectos de FasL sobre el tejido miocárdico están descritos a nivel teórico, y es casi nula la información acerca de las consecuencias de su elevación en circulación extracorpórea. FasL tiene múltiples funciones a nivel tisular. A nivel de corazón no está claro el efecto y los estudios actuales solo han evaluado su respuesta a esteroides y la concentración en enfermedades crónicas. Se sabe que el trauma, la isquemia, la lesión por reperfusión y en general los estímulos inflamatorios elevan su concentración, pero no está claro si es la causa o consecuencia de las manifestaciones a nivel tisular. Las Cardiopatías Congénitas (CC) que requieren atención quirúrgica y uso Circulación Extracorpórea (CEC), son un procedimiento en que se pueden evaluar posibles efectos de FasL a nivel cardiovascular.

#### **Objetivo**

Medir niveles plasmáticos de FasL en pacientes con cardiopatía congénita antes (FasL1) y después (FasL2) de CEC utilizando la prueba de Ensayo Enzimático de Inmuno Adsorción (ELISA). Correlacionar los niveles plasmáticos de FasL con los resultados clínicos.

#### **Material y métodos**

De una cohorte anidada retrospectiva, se realizó el registro de datos en 20 pacientes a los cuales se les midió la concentración de FasL con ELISA en dos tiempos, el primero previo a la CEC y el segundo posterior a la CEC.

#### **Resultados**

En 20 pacientes con edad promedio de 4.5 años, se incluyeron 11 pacientes femeninos y 9 masculinos. Registramos tiempo en CEC (tCEC) que en promedio fue de 101 minutos, cardiopatía, biometría previa, biometría posterior a la CEC y seguimiento.

La concentración de FasL se elevó en la mayoría de los pacientes después de CEC, sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p=0.72$ ).

Usando el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) Se busco correlación entre tCEC, la concentración diferencial de FasL ( $\Delta$ FasL) y la cuenta diferencial de linfocitos ( $\Delta$ L).

El análisis identifico baja correlación entre tCEC y  $\Delta$ FasL ( $r=0.27$ ,  $p=0.40$ ).

En los pacientes que estuvieron más de 100 min en CEC hay un alto coeficiente de correlación entre tCEC y  $\Delta$ FasL ( $r=-0.83$ ,  $p=0.16$ ).

La cuenta diferencial de linfocitos ( $\Delta$ L) en general disminuye con el aumento de  $\Delta$ FasL. Se identificó un bajo coeficiente de correlación negativo entre  $\Delta$ FasL y  $\Delta$ L, ( $r=-0.07$ ,  $p=0.77$ ).

No se encontró una correlación estadísticamente significativa en ninguna de las variables.

No hay asociación visible en el corto plazo en la evolución o desenlace de los pacientes con ninguna de las variables estudiadas.

### **Conclusión**

FasL tiende a elevarse posterior a la CEC y este efecto es más marcado en los pacientes que están más de 100 min en CEC.

Encontramos baja correlación negativa de la cuenta diferencial de linfocitos y  $\Delta$ FasL. La caída en la cuenta de linfocitos se podría explicar por elevación de FasL, pero también por otros fenómenos.

No hay una asociación visible a los 6 meses en la evolución o desenlace con ninguna de las variables clínicas estudiadas.

El efecto de FasL en el miocardio podría ser analizado en modelos con mayor control como tejidos in vitro para determinar la importancia biológica de este ligando sobre la función cardiovascular. Así, se podría obtener mayor precisión acerca del efecto que tiene el ligando sobre las células del miocardio.

## **Medición de niveles séricos de Fas Ligando (FasL) en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejada con circulación extracorpórea**

### Marco teórico

#### Gen y proteína

El gen *FAS* es un miembro de la Superfamilia de receptores-TNF se localiza en 10q23.31 es altamente expresado en los linfocitos activados y en células no linfoides como el timo, hígado, corazón y riñón.<sup>1</sup> Codifica Fas, una proteína transmembrana tipo I de 48 kD que contiene un dominio de muerte en su región citoplasmática que es esencial para la inducción de la apoptosis por la vía extrínseca.<sup>2,3</sup>

El gen *FASL* se localiza en el cromosoma 1q36 y es predominantemente expresado en los linfocitos T activados y los linfocitos Natural Killer.<sup>1</sup> Codifica a FasL, que pertenece a la familia TNF y es sintetizada como una proteína de membrana tipo II de 40 kD. La expresión de FasL en las células T activadas es inducida por estimulación vía T-Cell Receptor<sup>4</sup> por moléculas como TNF-alfa, IL-2, IL-

12 e IL-18<sup>5</sup> FasL se expresa en la superficie celular de las células T, es una proteína inestable que es cortada de la superficie celular por la acción de enzimas como la Metaloproteínasa-7 de matriz, cuando es cortado se genera una forma soluble de FasL que es liberada en el espacio extracelular.<sup>4</sup> Esta forma soluble de FasL induce de forma eficiente la apoptosis de algunas de las células que expresan Fas.<sup>6</sup>

### Inflamación y apoptosis

El estrés quirúrgico ha mostrado inducir alteraciones en el sistema inmunológico, en general una cirugía mayor induce no solo inflamación sistémica, también, supresión inmune<sup>7</sup>. La respuesta al trauma después de la cirugía es consecuencia de los DAMPs, que pueden inducir hiperactivación inmune<sup>8</sup> y resulta en la disociación del Factor nuclear kB (NF-kB), su inhibidor en los leucocitos, NF-kB induce la liberación masiva de citocinas proinflamatorias entre las que se incluyen IL6, IL-8 e Interferón-gamma.<sup>9</sup> FasL es regulado al alza por las citocinas proinflamatorias, por inflamación sistémica en las células T y NK en respuesta a las citocinas proinflamatorias IL1, IL-8, MCP1 y TNF-alfa y tiene propiedades quimiotácticas en las áreas de inflamación.<sup>10</sup>

Fas es una proteína receptor de membrana para el ligando FasL, cuando se une al ligando hace trimerización y<sup>1</sup> recluta una proteína adaptadora asociada a Fas (FADD): *Fas associated protein with death domain*) que une la procaspasa-8 y resulta en la formación del Complejo de Señalización Inductor de Muerte (DISC: *death-inducing signaling complex*), lo que lleva a la activación de la caspasa-3 efectora.<sup>2</sup> Como consecuencia de esta vía de señalización y en ausencia de inhibidores se activan las caspasas efectoras CASP3/6/7 y la vía intrínseca de la apoptosis, que resulta en la muerte celular por apoptosis.<sup>11</sup> La apoptosis inducida por Fas/FasL está involucrada en muchos procesos, incluyendo homeostasis de los tejidos y toxicidad mediada por células T.<sup>12</sup>

Estudios previos han reportado un efecto dramático en la caída de la cuenta de leucocitos después de CEC y han sugerido un papel para Fas como marcador proinflamatorio.<sup>13</sup>

### Efectos de FasL sobre los tejidos

Después de una cirugía mayor se ha reportado un alto coeficiente de correlación de los reactantes de fase aguda como Proteína C Reactiva (PCR) con la elevación de FasL. Se ha reportado también correlación entre la cuenta diferencial de linfocitos antes y después de cirugía mayor con FasL. Pero la expresión de Fas no parece modificarse.<sup>7</sup> Hay modelos de inflamación aséptica que han relacionado el desarrollo de falla hepática mediada por FasL-Fas.<sup>3</sup>

Las células pueden ser sensibilizadas a FasL por la acción de citocinas inflamatorias.<sup>11</sup> La apoptosis por la vía extrínseca es iniciada por señales de estrés extracelulares que incluyen TNF-alfa, FasL y TRAIL. La apoptosis participa en el desarrollo fetal, homeostasis de los tejidos, en enfermedades cardiovasculares con isquemia, lesión por reperfusión, cardiopatía inducida por quimioterapia e insuficiencia cardíaca.<sup>14</sup>

## Efectos de FasL sobre el miocardio

Un hallazgo común en las enfermedades que llevan a la muerte de miocitos es la concentración elevada de citocinas en la sangre y el músculo. Esto ha sido asociado a depresión de la función cardíaca y apoptosis, principalmente por la inducción de la producción de óxido nítrico (NO). Las citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-2 e INF-gamma y el TNF-alfa también han demostrado inducir depresión miocárdica en modelos experimentales.<sup>15</sup>

Se ha demostrado que los niveles de FasL están elevados en pacientes con cardiopatía crónica y enfermedad Renal Crónica en comparación con los controles. Después de un año de seguimiento se ha encontrado en estos pacientes disminución significativa de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, incremento de la dimensión al final de la diástole del ventrículo izquierdo y cambios isquémicos del miocardio. Múltiples estudios han demostrado que los marcadores de inflamación PCR, IL-6, fibrinógeno y moléculas de adhesión solubles están asociadas al incremento en el riesgo cardiovascular en poblaciones sanas.<sup>16,17</sup> Los niveles de FasL están incrementados en plasma de pacientes con insuficiencia cardíaca y los niveles séricos reflejan la severidad de la falla.<sup>18</sup>

Los modelos animales han mostrado dos vías principales para la expresión de Fas en el corazón la primera la carga y la sobredistensión del miocardio y la segunda la hipoxia.<sup>19</sup> En ratones que sobreexpresan FasL a nivel del miocardio se desarrolla pérdida de la función cardíaca que se acompaña con pérdida de la integridad del sarcolema.<sup>19</sup>

No está claro si FasL es la causa o consecuencia de la cardiopatía, como molécula proinflamatoria puede ser un marcador que se puede asociar de forma independiente con enfermedad cardiovascular.<sup>18</sup>

FasL tiene múltiples funciones a nivel tisular y su efecto ha sido estudiado a nivel hepático donde se ha relacionado el aumento en su concentración con la inflamación y que tiene como consecuencia falla hepática. A nivel de corazón no está claro el efecto y los estudios actuales solo han evaluado su respuesta a esteroides y la concentración en enfermedades crónicas. Se sabe que el trauma, la isquemia, la lesión por reperfusión y en general los estímulos inflamatorios elevan su concentración. Pero no está claro si es la causa o consecuencia de las manifestaciones a nivel tisular.<sup>3</sup>

Las cardiopatías congénitas que son manejadas con cirugía cardiovascular bajo circulación extracorpórea son una oportunidad para evaluar el efecto que tiene la inflamación y el trauma en la concentración de FasL, además, posibles efectos a nivel del tejido cardíaco que tengan repercusión clínica.

## Cuantificación de FasL y su expresión

El gen *FASL* tiene expresión inducible por medio de las interleucinas durante la inflamación, esta elevación puede ser cuantificada teniendo en cuenta la expresión de un gen constitutivo como la

*CTNFB1* ( $\beta$ -Catenina) con la RT-PCR. La proteína FasL puede ser cuantificada en plasma utilizando la prueba de ELISA.<sup>7</sup>

### Cardiopatías congénitas

Las cardiopatías congénitas son las anomalías congénitas más frecuentes y afectan millones de recién nacidos cada año, son anomalías estructurales del corazón y/o los grandes vasos<sup>20</sup> y tienen una prevalencia aproximada de 5-11 casos por 1,000 nacidos vivos, con una incidencia de 1% en recién nacidos.<sup>21</sup> La prevalencia de la CC ha ido en aumento desde 2009.<sup>20</sup> En México, se calcula una prevalencia de 8-10 por cada 1,000 nacidos por lo que se espera un aproximado de 18,000-20,000 casos nuevos por año.<sup>22</sup>

Las CC se pueden clasificar por su efecto fisiológico sobre la circulación o por a la anomalía estructural.<sup>21</sup>

De acuerdo con su efecto fisiológico se clasifican con cortocircuito de izquierda a derecha: Comunicación Interauricular (CIA), Comunicación Interventricular (CIV) y Ductus arterioso, entre otras.<sup>21</sup>

Entre las anomalías estructurales se incluyen las CC del corazón izquierdo: entre ellas las que tienen obstrucción de la entrada al VI como estenosis mitral y regurgitación de la válvula mitral y las que tienen obstrucción en el tracto de salida como la estenosis aórtica, arco aórtico interrumpido y coartación de la aorta. Las CC del corazón derecho: entre ellas la Anomalia de Ebstein, y las que tienen obstrucción del tracto de salida: estenosis de la válvula pulmonar, atresia pulmonar. Las CC con origen anómalo de las grandes arterias como la transposición de las grandes arterias, truncus arterioso y doble salida del ventrículo derecho. Y las CC misceláneas como la conexión anómala de las arterias pulmonares u origen anómalo de las coronarias y el espectro de heterotaxia.<sup>21</sup>

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) cuenta con clínica de CC en tercer nivel, donde se da atención quirúrgica a las CC y estos pacientes son seguidos durante la evolución de su patología en todos los niveles de atención. Un análisis demográfico en esta clínica muestra una distribución de las CC en menores de 2 años en el que las CC reportadas con mayor frecuencia son: Atresia pulmonar con CIV 15.88%, atresia pulmonar sin CIV 15.66%, tetralogía de Fallot 15.21%, atresia tricúspidea 9.4%, transposición de las grandes arterias 7.83% y coartación aórtica 5.5%.<sup>22</sup> El manejo de estas patologías al nacimiento, en episodios agudos o por programación requiere en muchos casos el uso de CEC ya sea porque el paciente nace en estado de choque, presenta complicaciones de la patología o por una intervención programada.<sup>23</sup>

### Circulación extracorpórea

La CEC es una medida terapéutica en que sangre desoxigenada del sistema venoso central es oxigenada en un dispositivo de circulación extracorpórea y se retorna sangre oxigenada al sistema arterial. Actualmente es uno de los dispositivos preferidos para el soporte cardiopulmonar temporal

en pacientes con falla cardiovascular con o sin compromiso respiratorio. Entre las principales indicaciones están: el soporte circulatorio cuando hay falla para regresar a la circulación espontánea posterior al uso de bypass, en recién nacidos en que previamente no se ha reconocido una CC y para dar una ventana de tiempo para la recuperación o el tratamiento definitivo.<sup>24</sup> Los pacientes posoperados pueden mantenerse en CEC por días hasta recuperar la función ventricular.<sup>25</sup>

La CEC es un procedimiento agresivo que puede provocar complicaciones en muchos órganos y sistemas e inducir un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. La gran mayoría de los procedimientos quirúrgicos en la cirugía cardíaca se realizan bajo CEC, con pinzamiento aórtico y paro cardíaco selectivo.<sup>25</sup>

A consecuencia de la cirugía puede ocurrir bajo gasto en el postoperatorio por los periodos de isquemia-reperfusión. Estos pacientes también se pueden presentar con respuesta inflamatoria sistémica con signos como fiebre, leucocitosis y vasodilatación lo que puede asociarse al circuito de circulación o al padecimiento del paciente<sup>26</sup>, La mortalidad de los pacientes con CEC aumenta con el tiempo en circulación extracorpórea, sin embargo, la relación es compleja y está asociada a las comorbilidades. En los pacientes en que se usa como ventana por tratamiento quirúrgico tiene mejores resultados<sup>27</sup>

Se ha reportado una diferencia significativa ( $p < 0.000$ ) en la mortalidad a 30 días entre los pacientes con pinzamiento de la aorta que están menos de 75 minutos en CEC y más de 75 minutos.<sup>28</sup>

En la búsqueda en bases de datos nacionales e internacionales no se encuentran estudios que evalúen en pacientes pediátricos que entran a CEC como se modifican las concentraciones de FasL y su efecto sobre los resultados clínicos, los estudios precedentes que miden FasL antes y después de CEC solo evalúan el efecto de los esteroides sobre FasL y la correlación con marcadores de apoptosis de miocardio.<sup>29</sup>

### Justificación

Los efectos de FasL sobre el tejido miocárdico están descritos a nivel teórico, y es poca, casi nula la información acerca de las consecuencias de su elevación en circulación extracorpórea. FasL tiene múltiples funciones a nivel tisular y su efecto ha sido estudiado a nivel hepático donde se ha relacionado el aumento en su concentración con falla hepática.<sup>3</sup> A nivel de corazón no está claro el efecto y los estudios actuales solo han evaluado su respuesta a esteroides y la concentración en enfermedades crónicas. Se sabe que el trauma, la isquemia, la lesión por reperfusión y en general los estímulos inflamatorios elevan su concentración, pero no está claro si es la causa o consecuencia de las manifestaciones a nivel tisular.<sup>30</sup> Medir las concentraciones de FasL antes y posterior a la CEC podría aportar un biomarcador predictor de los efectos a corto, mediano y largo plazo, mejorar la comprensión del efecto que tiene esta proteína y cómo modifica la evolución y pronóstico del paciente. Los niveles de FasL pueden ser medidos de manera práctica en el laboratorio clínico con

la prueba de ELISA, lo que lo hace factible como biomarcador. La CC es la anomalía congénita más frecuente con prevalencia de hasta 1% en nacidos vivos. En México se esperan un aproximado de 18,000-20,000 casos anuales. En el IMSS la clínica de cardiopatía congénita en tercer nivel utiliza la CEC de forma rutinaria para el manejo quirúrgico de estas patologías.<sup>22</sup>

### Planteamiento del problema

La búsqueda en bases de datos nacionales e internacionales no arroja estudios que evalúen a nivel clínico las consecuencias de la elevación de FasL durante la CEC en pacientes con cardiopatía congénita. Previamente se ha evaluado la regulación al alza de FasL a nivel de mRNA en mononucleares, sin embargo, esta molécula cumple su función como una proteína soluble que se une directamente a las células e induce la apoptosis. Por tanto, es poca, casi nula la información respecto a sus modificaciones en CEC y el efecto clínico que tiene.

### Pregunta de investigación

¿Cómo se modifican los niveles de FasL en pacientes pediátricos después de cirugía cardiovascular con circulación extracorpórea?

¿Existe correlación y/o asociación de los niveles de FasL encontrados en plasma y los resultados clínicos y de laboratorio antes y después de estar en cirugía cardiovascular con circulación extracorpórea en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita?

### Objetivo general

Medir niveles plasmáticos de FasL en sangre periférica en pacientes con cardiopatía congénita antes y después de estar en circulación extracorpórea (CEC).

### Objetivos específicos

Medir niveles Plasmáticos de FasL en sangre periférica en pacientes con cardiopatía congénita antes (FasL1) y después (FasL2) de CEC utilizando la prueba de Ensayo Enzimático de Inmuno Adsorción (ELISA).

Buscar correlación de la concentración diferencial de FasL ( $\Delta$ FasL) con la CEC, la cuenta diferencial de linfocitos ( $\Delta$ L), y buscar asociación con los resultados clínicos.

## Hipótesis

Los niveles séricos de FasL en plasma se elevan en pacientes con cardiopatía congénita sometidos a CEC y se correlacionan positivamente con los cambios en la cuenta de leucocitos.

Los cambios en la concentración de FasL en plasma se asocian a los resultados clínicos (evolución y desenlace del paciente).

## Variables cuantitativas

La variable cuantitativa independiente continua es el tiempo que dura el paciente en CEC y se define como el tiempo que transcurre del inicio de la CEC (T1) a la finalización de la CEC (T2) tiempo en CEC ( $t_{CEC}=CECT2-CECT1$ ).

La concentración diferencial de FasL ( $\Delta FasL$ ) es una variable cuantitativa dependiente continua. Es la diferencia en la concentración de la medición inicial de Fas (FasL1) comparado con la medición final (FasL2). Es la resta de la concentración final a la concentración inicial de FasL. ( $=FasL2-FasL1$ ).

La cuenta diferencial de linfocitos ( $\Delta L$ ) es una variable cuantitativa dependiente continua. Es la diferencia entre la cuenta de linfocitos previa (TL1) y la posterior (TL2) a la CEC. Es la resta de la cuenta de linfocitos (L) posterior a la CEC (TL2) a la previa a la CEC (TL1).

## Variables cualitativas

La evolución es una variable cualitativa nominal dependiente y se define como la opinión subjetiva del Cardiólogo que da seguimiento en los primeros 6 meses después de CEC y es reportada como buena, mala o no reportada.

El desenlace es una variable cualitativa nominal dependiente y se define como el último resultado clínico que tuvo el paciente posterior a la CEC y puede ser su alta, seguimiento o muerte del paciente.

## Registro de las variables

La hora de inicio y finalización de la CEC se registró a partir de la hoja de derivación cardiopulmonar. La cuenta de linfocitos se registró de la biometría hemática que se realiza previa a la cirugía y la biometría hemática de control posterior a ella. Para evaluar la evolución de los pacientes se hizo un seguimiento en el expediente electrónico (ECE) 6 meses después de la cirugía para revisar su evolución y el desenlace de su patología.



Tabla 1. Descripción de variables

Nombre variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
<b>Edad</b>	Tiempo de vida	Tiempo de vida en meses o años	Cualitativa	Continua	Días Meses Años
<b>Sexo</b>	Características de genitales al nacimiento	Características de genitales al nacimiento con las que se es asignado hombre o mujer.	Cualitativa	Nominal	Femenino, masculino y no determinado
<b>Cardiopatía</b>	Diagnóstico clínico del paciente	Características anatómicas del defecto en ecocardiograma	Cualitativa	Nominal	Cianógenos No cianógena
<b>Tiempo en CEC (tCEC)</b>	Tiempo que transcurre del inicio de la CEC (T1) a la finalización de la CEC (T2)	Diferencia en minutos de la finalización de la CEC (T2) con el inicio de la CEC (T1). $(tCEC)=CECT2-CECT1$	Independiente Cuantitativa	continua	Minutos
<b>Concentración diferencial de FasL (<math>\Delta</math>FasL)</b>	Diferencia en concentración de la medición inicial (FasL1) de FasL comparado con la final (FasL2)	Es la resta de la concentración final a la concentración inicial de FasL. $\Delta$ FasL=FasL2-FasL1	Dependiente cualitativa	Continua	UI/ $\mu$ l
<b>Cuenta diferencial de linfocitos (<math>\Delta</math>L)</b>	Diferencia entre la cuenta de linfocitos previa y la posterior a la CEC	Es la resta de la cuenta de linfocitos (L) posterior a la CEC (TL2) de linfocitos a la previa a la CEC (TL1)	Dependiente cuantitativa	Continua	Cantidad/ $\mu$ l
<b>Evolución</b>	Es el curso de las manifestaciones clínicas que tiene el paciente	Opinión subjetiva del Cardiólogo que da seguimiento en los primeros 6 meses después de CEC	Cualitativa Dependiente	Nominal	Buena Mala No reportada
<b>Desenlace</b>	Es el resultado de la intervención quirúrgica con CEC	Último resultado clínico que tuvo el paciente	Cualitativa Dependiente	Nominal	Alta, seguimiento o muerte

## Criterios de inclusión exclusión y eliminación del proyecto principal

El presente proyecto estudió una cohorte anidada dentro de un proyecto principal que lleva por título “Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea” con número de registro R-2019-3502-059.

Los criterios de inclusión del proyecto principal fueron: Empleo de cirugía cardiovascular para corregir cardiopatía, ingreso a la UCIN, mayores de un mes y menores de 16 años, cardiopatía cianógena o no cianógena, consentimiento informado firmado y aceptado.

Los criterios de exclusión del proyecto principal fueron: infección evidente no controlada previo a la CEC y uso de prostaglandinas previo a evento quirúrgico.

Los criterios de eliminación del proyecto principal fueron: Expediente incompleto, deseo de retirarse del estudio, muestra insuficiente para determinación y fallecer antes de terminar el estudio.

## Criterios de inclusión, exclusión y eliminación de este proyecto

### **Criterios de inclusión**

Se incluyeron pacientes registrados dentro del proyecto principal, de cualquier género, lactantes hasta adolescentes, con cardiopatía congénita corregida con cirugía cardiovascular bajo CEC, que contaban con suficiente muestra previa a la CEC y posterior a la CEC y con expediente clínico disponible. Que aceptaron con consentimiento informado y carta de asentimiento (en su caso).

### **Criterios de exclusión**

Se excluyeron pacientes en los que no se pudo recolectar alguna de las muestras, la muestra fue insuficiente o se degradó.

### **Criterios de eliminación**

Sin expediente clínico.

## Tamaño de muestra

Los pacientes fueron elegidos en el proyecto principal por conveniencia por las condiciones de la pandemia se recibieron 6 pacientes cada mes por lo que en una colecta de 5 meses se recibieron 30 pacientes. De la cohorte mayor fueron tomados todos los pacientes que cumplían los criterios de inclusión.

## Material y métodos

El presente proyecto estudió una cohorte anidada dentro de un proyecto principal que lleva por título “Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea” con número de registro R-2019-3502-059.

## **Tipo de estudio**

Estudio clínico con diseño de cohorte analítico, retrospectivo y observacional. Cohorte anidada.

## **Universo de estudio**

Pacientes pediátricos con CC que requirieron cirugía cardiovascular y fueron puestos en CEC y fueron reclutados del Hospital General “Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional (CMN) La Raza. Se tomó el residuo de la muestra de control de biometría hemática (2ml) que se toma previa a la cirugía y CEC, y se recogió el residuo de la muestra de biometría hemática (2ml) de control posterior a la cirugía y CEC.

El remanente de la muestra de la cohorte mayor fue usado para realizar la medición de FasL por el método de ELISA en ambas muestras, la tomada previa a la CEC y la tomada posterior a la CEC.

## **Desarrollo del proyecto**

Para la medición de FasL se usó el kit comercial Human Fas Ligand ELISA Kit (RAB 0178-1KT KIT).

Llevando a cabo la siguiente metodología:

1. Todos los reactivos y muestras se dejarán a temperatura ambiente (28-25°C) antes de usarlos. Se corrieron las muestras y el estándar por duplicado.
2. Se añadió 100 µl de cada prueba control y muestra de suero de pacientes en los pozos, se cubrirán los pozos y será incubado por 2.5 horas a temperatura ambiente con agitación lenta.
3. Se desechó la solución y se lavará 4 tiempos con solución de lavado 1X para cada pozo con Buffer de lavado (300 µl) usando una pipeta multicanal o auto-lavador. Después del último lavado se quitó cualquier remanente del Buffer de lavado por aspiración o decantación. Se invirtió la placa y se limpió contra papel.
4. Se añadieron 100 µl de la preparación Detección Entibad 1x a cada pozo. Se cubrieron los pozos y se incubaron por una hora a temperatura ambiente con agitación lenta.
5. La solución fue desechada. Se repitió el lavado y se procedió como en el paso 3.
6. Fueron añadidos 100 µl de la solución preparada Streptavidina en cada pozo. Se cubrieron los pozos y se incubaron por 45 minutos a temperatura ambiente con agitación lenta.
7. Fue desechada la solución y se repitió el lavado como en el paso 3.
8. Se añadieron 100 µl de TMB One-Step Substrate Reagent (Item H) a cada pozo, se cubrieron los pozos y se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación lenta.
9. Fueron añadidos 50 µl Stop Solution (item I) a cada pozo. Y se leyó la absorbancia a 450 nm inmediatamente.

El proyecto se llevó a cabo en un periodo de 3 meses de junio del 2022 a septiembre de 2022. En mayo de 2022 se desarrolló este protocolo, en junio se presentó ante el Comité local de investigación

en salud y el Comité de ética en investigación. Se inició la medición de FasL y la revisión de expedientes físicos en cuanto se obtuvo la autorización del comité de investigación y ética del hospital. En agosto del 2022 se analizaron los resultados y se reportaron el mismo mes.

#### Procesamiento de datos

Las variables fueron analizadas de forma comparativa usando SPSS v.23 software estadístico (Corporación IBM). Se hizo una correlación entre la variable cuantitativa independiente y las dependientes. Se realizó correlación entre las concentraciones (Inicial, final y diferencial) de FasL. Para las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central que fueron comparadas con t-Student y correlación de Pearson para buscar diferencias entre los datos. Para las variables cualitativas no se encontró diferencia en los resultados clínicos de los diferentes pacientes por lo no fue necesario otro análisis.

#### Aspectos éticos

Las muestras sanguíneas fueron tomadas por un procedimiento habitual que se hace a estos pacientes durante su tratamiento, toma de laboratorio clínico previo a su cirugía y un control posterior a la cirugía. Por ello se encontraban en existencia y este estudio se clasifica como Investigación sin riesgo de acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Se otorgó carta de consentimiento informado a los tutores para la autorización de la participación en el estudio y carta de asentimiento al participante cuando tenía entre 8 y 19 años de acuerdo con la Declaración **de Helsinki vigente (2013) de la Asociación Médica Mundial** y al **Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación.**<sup>31, 32</sup>

El presente estudio tiene potencial de obtener conocimientos generalizables sobre el efecto de FasL en CEC, la evolución de los pacientes a corto y mediano plazo y mejorar el manejo de los pacientes que requieren esta intervención médica.

Para garantizar la confidencialidad se le asignó un número de participante a cada individuo con el que se hizo todo el procesamiento de su muestra, todos los datos personales (NSS, nombre) fueron eliminados al finalizar el proyecto.

Los individuos fueron seleccionados por su diagnóstico y de acuerdo con los criterios de inclusión.

Los participantes del estudio no obtuvieron ningún tipo de beneficio o remuneración por su participación.

Los participantes de presente proyecto declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Recursos, infraestructura financiamiento y factibilidad

La Unidad de investigación en Inmunología e Infectología, Hospital de Infectología “Daniel Méndez Hernández”, CMN “La Raza” aportó la infraestructura, materiales y recursos humanos para llevar a cabo las pruebas del proyecto.

Del Hospital General “Gaudencio González Garza” se tomaron los pacientes, apporto la recolección de los datos clínicos, el análisis de la información y la interpretación de los resultados.

### Aspectos de bioseguridad

En el presente proyecto se siguieron las especificaciones de la **NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo** para el manejo de las muestras.<sup>33</sup>

Las muestras fueron tomadas en el Hospital General Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional La Raza de pacientes que fueron puestos en CEC por cirugía cardiovascular y estaban almacenadas en la Unidad de Investigación Biomédica Hospital de Infectología con un nivel de contención grupo de riesgo 2.

En el manejo de las muestras sanguíneas se usaron medidas universales de protección para su manejo (bata, lentes y guantes). El material biológico junto con los instrumentos e insumos contaminados fueron identificados, envasados en bolsa roja y enviados al centro de acopio para su recolección, tratamiento y disposición final.

## Resultados

El proyecto principal recluto 30 pacientes de los que en nuestro proyecto 10 fueron eliminados por falta de expediente o muestra plasmática insuficiente dejando una muestra de 20 pacientes, la edad promedio fue de 4.5 años y se incluyeron 11 pacientes femeninos y 9 masculinos, el tiempo en CEC en promedio fue de 101 minutos. Los datos de los pacientes se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Datos demográficos de la población estudiada. (0 años indica recién nacido\*)

Datos demográficos		
Número de paciente	Edad en años	Sexo
1	3	F
2	9	F
4	11	F
5	14	M
6	1	F
7	1	M
8	2	M
9	3	F
10	7	M
11	0*	M
12	10	F
13	0*	F
14	6	F
16	1	M
17	6	F
19	6	F
20	10	M
24	0*	F
27	11	M
30	0*	M
	$\bar{X}=4.5$	11 F   9 M
		N=20

Se pudo realizar la cuantificación de FasL antes de CEC y después de CEC en 17 de nuestros 20 pacientes como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones plasmáticas de FasL previo a la CEC (FasL1) y posterior a la CEC (FasL2), a partir de estos datos de calcula la concentración diferencial de FasL ( $\Delta$ FasL).

Paciente	FasL1 (pg/ml)	FasL2 (pg/ml)	$\Delta$ FasL
1	164.38	103.7	-60.68
2	184.4	163.4	-21
3	95.4	99.7	4.3
4	190.2	214.5	24.3
5	364.4	299.3	-65.1
6	342.2	215.13	-127.07
7	239.8	237.5	-2.3
8	92.2	197.5	105.3
9	122.5	264.2	141.7
10	262.8	15.2	-247.6
12	46.9	15	-31.9
21	657	476	-181
22	160.9	29	-131.9
23	257	297.7	40.7
28	259.3	312.9	53.6
29	81.9	70.5	-11.4
30	162.8	117	-45.8
<b>DS</b>	<b>148.6</b>	<b>125.5</b>	
<b>Media</b>	<b>207.1</b>	<b>184</b>	

De nuestros 20 pacientes se recolecto biometría hemática previa y posterior a la cirugía. En el paciente número 5 no se encontró la biometría previa a la CEC, como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Cuenta de linfocitos previa (TL1) y posterior (TL2) a la CEC. A partir de la cuenta de linfocitos previa y posterior a CEC se calcula el diferencial ( $\Delta L$ ).

Paciente	TL1 (linfocitos/ $\mu$ l)	TL2 (linfocitos/ $\mu$ l)	( $\Delta L$ )
1	710	4070	-3360
2	1030	2330	-1300
4	1740	1490	250
5		1310	
6	2040	2330	-290
7	4650	7974	-3324
8	1590	4270	-2680
9	2810	1700	1110
10	500	2390	-1890
11	2210	4150	-1940
12	860	2850	-1990
13	1990	7260	-5270
14	1560	2080	-520
16	2460	3740	-1280
17	1380	5620	-4240
19	1830	5790	-3960
20	1880	1360	520
24	2070	2070	0
27	1690	240	1450
30	2490	8280	-5790

En nuestros 20 pacientes se pudo registrar el tiempo que permanecieron en CEC,  $CECT2 - CECT1 = tCEC$ . (tabla 5)

Se recolectó la información acerca de su cardiopatía. En el paciente número 5 no se encontró la cardiopatía que padecía, pero si el resto de los datos (tabla 5)

Solo en 11 de los 20 pacientes se pudo registrar tanto  $tCEC$  como hacer el cálculo de  $\Delta FasL$  (tabla 5).

El tipo cardiopatía,  $tCEC$ , ( $\Delta L$ ) y  $\Delta FasL$  se registraron en la tabla 5.



Tabla 5. Se registra el diagnóstico del paciente, el tiempo en CEC (tCEC), el diferencial de la cuenta de leucocitos ( $\Delta L$ ) y la concentración diferencial de FasL ( $\Delta FasL$ ).

		tCEC	( $\Delta L$ )	$\Delta FasL$
1	Coartación Aórtica/ CIV	44	-3360	60.68
2	CIA OS	107	-1300	-21
4	CIV	120	250	24.3
5		82	-1310	65.1
6	Coartación aórtica/PCA	49	-290	-127
7	Atresia tricúspidea 1A / Dextrocardia	62	-3324	2.3
8	Interrupción de arco aórtico tipo A/ PCA/ CIV	175	-2680	105.3
9	Atresia tricúspidea/CIV	104	1110	-141.7
10	Canal AV balanceado, CIA, CIV	82	-1890	-247.6
11	Coartación aórtica+ CIV	150	-1940	
12	CIA OS	40	-1990	-31.9
13	Coartación/PCA	26	-5270	
14	CIV perimembranosa	44	-520	
16	Atresia tricúspidea	219	-1280	
17	CIA OS 25MM + conexión anómala parcial de vena pulmonar superior derecha a VCS	76	-4240	
19	Conexión anómala total de venas pulmonares tipo a seno coronario/CIA	107	-3960	
20	Atresia tricúspidea	131	520	
24	Coartación de la aorta	28	0	
27	Trauma de tórax	282	1450	
30	Coartación aórtica con hipoplasia de arco aórtico/PCA/ CIV	97	-5790	-45.8

Los resultados clínicos del seguimiento, la evolución y el desenlace de los pacientes se registraron en la tabla 6, en todos los casos hubo buena evolución.

Tabla 6. Se registra la evolución y el desenlace, todos los pacientes presentaron resultados similares.

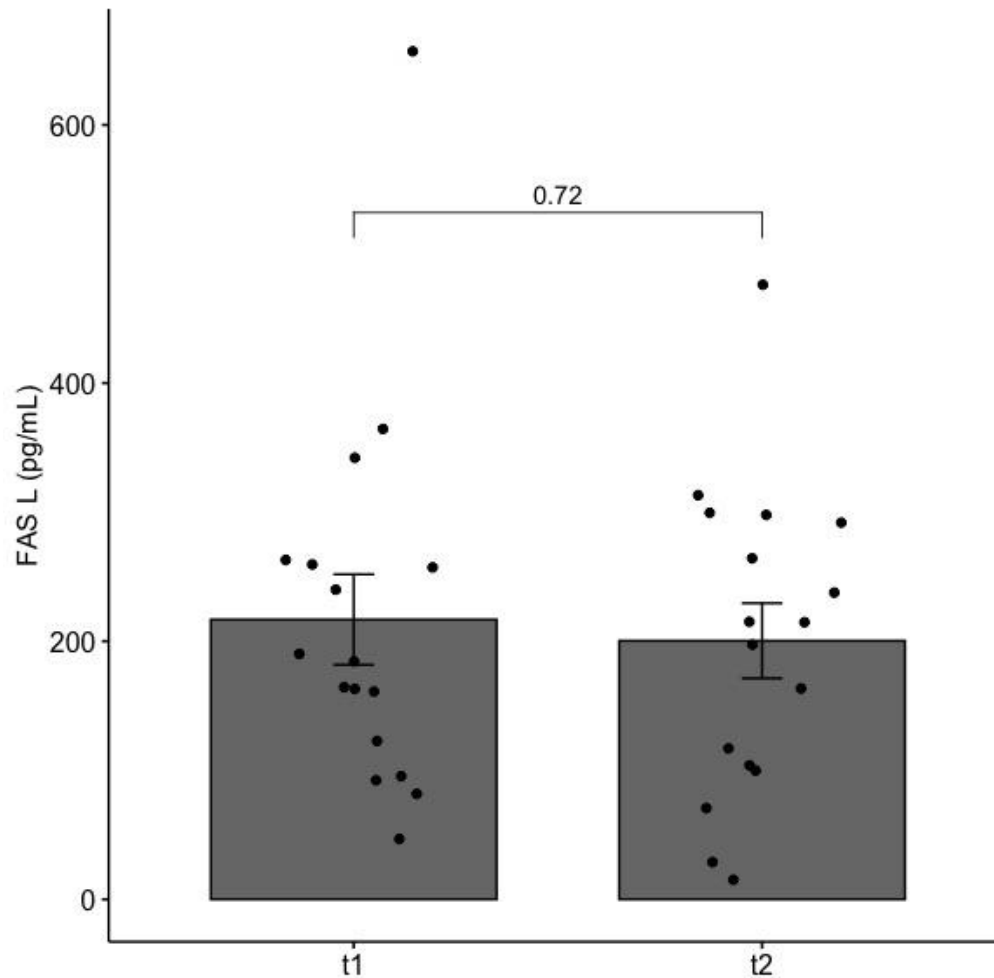
Paciente	Evolución	Desenlace
1	Buena	Seguimiento
2	Buena	Alta
3	Buena	
4	No reporta	Seguimiento
5		Seguimiento
6	No reporta	Seguimiento
7	No reporta	Seguimiento
8	Buena	Seguimiento
9	No reporta	Seguimiento
10	Buena	Seguimiento
11	Buena	Seguimiento
12	Buena	Seguimiento
13	Buena	Seguimiento
14	No reporta	Seguimiento
15		
16		Seguimiento
17	No reporta	Seguimiento
18		
19	No reportada	Seguimiento
20	Buena	Seguimiento
21	Buena	
22		
23	No reportada	
24	No reportada	Seguimiento
27		Seguimiento
28	Buena	
29	No reportado	
30	No reportado	Seguimiento

### Análisis de resultados

La tabla 5 muestra, el tiempo en circulación extracorpórea tCEC, que fue calculado de la resta del tiempo entre tCECT2 y tCECT1. Se registra  $\Delta$ FasL que es calculado de la resta de la concentración de FasL2 a FasL1. Y la  $\Delta$ L calculada de la resta de la cuenta de linfocitos TL2 a TL1.

La ilustración 1 muestra el análisis de los resultados de concentración plasmática de FasL determinada por ELISA. La concentración inicial y final de FasL fueron analizadas y presentaban distribución normal por lo que se realizó el análisis estadístico para buscar diferencia con la prueba

t-Student. Se obtuvo una  $p=0.72$  por lo que no hay diferencia estadísticamente significativa (como se muestra en la ilustración 1).



*Ilustración 1. Concentración de FASL1 y FasL2 determinada por ELISA. Se puede observar que no existe diferencia significativa. El análisis estadístico se realizó con la prueba t-student obteniéndose una  $P = 0.72$ .*

Las variables  $\Delta$ FasL,  $\Delta$ L, tCEC están en escalas de razón y siguen una distribución normal en nuestra muestra por lo que se aplicaron pruebas paramétricas, análisis de correlación bivariado, Coeficiente de Correlación de Pearson ( $r$ ), que mide la correlación estadística entre dos variables continuas con distribución normal.

Se calculo  $r$  para las variables concentración posterior a CEC (FasL2) y tCEC, la gráfica de dispersión muestra que las variables tienen correlación positiva como se muestra en la ilustración 2, el

coeficiente de correlación es bajo y no tiene correlación estadísticamente significativa. Se muestra en la tabla 7.

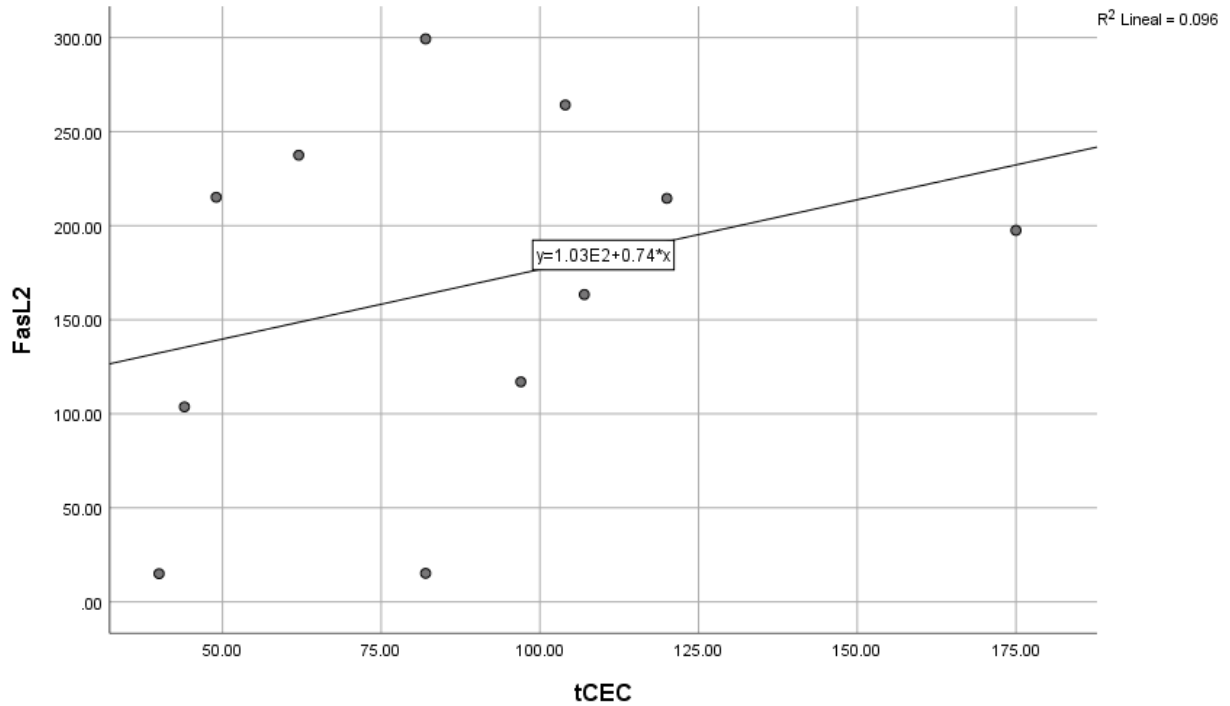


Ilustración 2. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y FasL2. El gráfico de dispersión muestra que la concentración de FasL2 aumenta con el aumento o la disminución del tiempo en CEC.

Tabla 7. Correlación de Pearson para las variables tCEC y FasL2.

		tCEC	FasL2
tCEC	Correlación de Pearson	1	$r=0.310$
	Sig. (bilateral)		$p=0.353$
	N	11	11
FasL2	Correlación de Pearson	0.310	1
	Sig. (bilateral)	0.353	
	N	11	11

Se calculó  $r$  para el tiempo que los pacientes estuvieron en CEC y la concentración diferencial de FasL. El gráfico de dispersión (ilustración 3) muestra que la concentración diferencial de FasL aumenta con el aumento en tCEC. El análisis estadístico identificó baja correlación entre el tCEC y

$\Delta$ FasL (tabla 8) de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson. La correlación entre estas variables no es estadísticamente significativa.

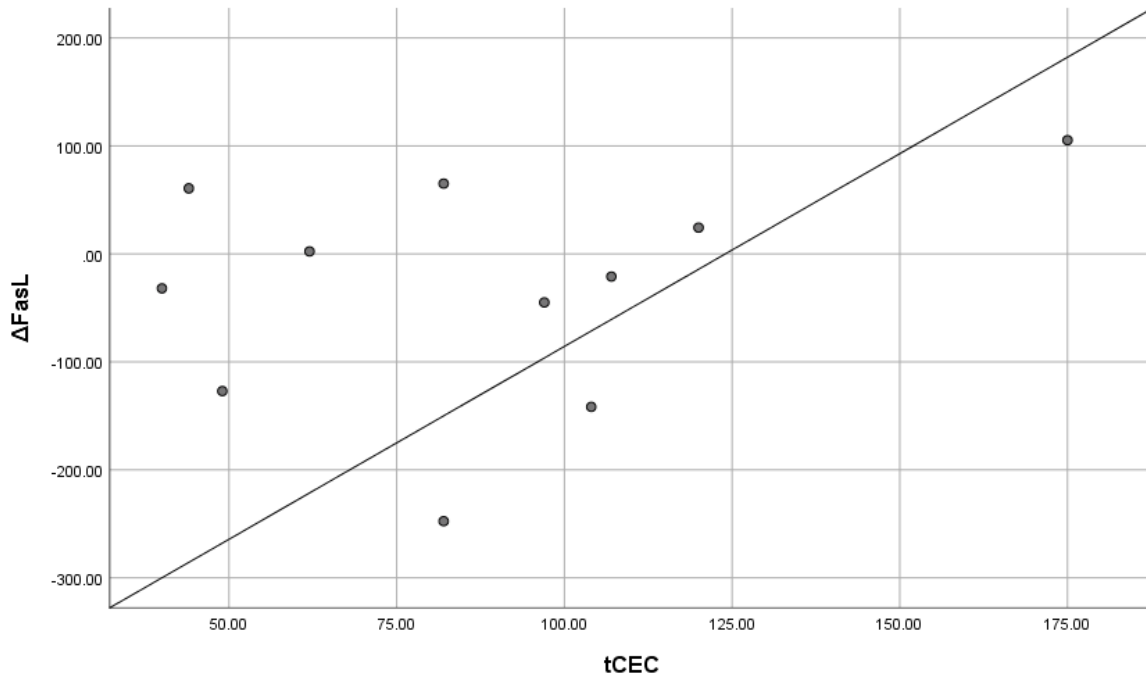


Ilustración 3. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y  $\Delta$ FasL. El gráfico de dispersión muestra que la concentración diferencial de FasL se eleva con el aumento del tiempo en CEC.

Tabla 8. Correlación de Pearson entre la tCEC y  $\Delta$ FasL. El análisis identificó baja correlación entre el tiempo en Circulación extracorpórea y  $\Delta$ FasL.

		tCEC	$\Delta$ FasL
tCEC	Correlación de Pearson	1	$r=0.27$
	Sig. (bilateral)		$p=0.40$
	N	20	11
$\Delta$ FasL	Correlación de Pearson	.27	1
	Sig. (bilateral)	.40	
	N	11	11

Al estratificar a los pacientes que estuvieron por más de 100 min en CEC (la media del tiempo en CEC) se obtiene un alto coeficiente de correlación ( $r=-0.83$ ) sin embargo, no es estadísticamente

significativo ( $p=0.16$ ) (tabla 9). La dispersión sigue una relación lineal como se muestra en la ilustración 4.

Tabla 9. Coeficiente de correlación entre tCEC >100 min y  $\Delta$ FasL.

		tCEC >100 min	$\Delta$ FasL
tCEC >100 min	Correlación de Pearson	1	$r=0.83$
	Sig. (bilateral)		$p=0.16$
	N	4	4
$\Delta$ FasL	Correlación de Pearson	0.83	1
	Sig. (bilateral)	0.16	
	N	4	4

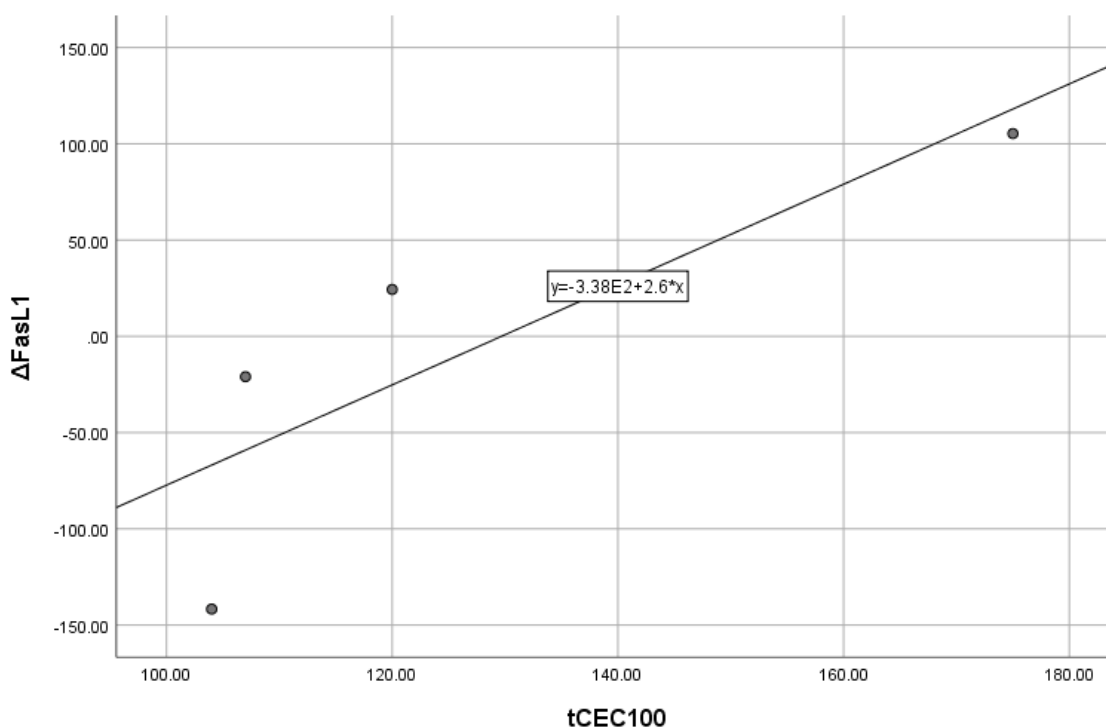


Ilustración 4. Gráfico de dispersión, correlación entre las variables tCEC>100 min y  $\Delta$ FasL. estratificación de los datos que muestra a los pacientes que duraron más de 100 min en CEC. La correlación entre Tcec y  $\Delta$ FasL es alta cuando los pacientes duraron más de 100 min en CEC.

Se calculo  $r$  para buscar correlación del tCEC con TL2. El gráfico de dispersión muestra que TL2 disminuye con el aumento de tCEC como se muestra en la ilustración 5. El análisis identifico baja

correlación entre el tiempo en Circulación extracorpórea y TL2 de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson. La correlación entre estas variables no es estadísticamente significativa como se muestra en la tabla 10.

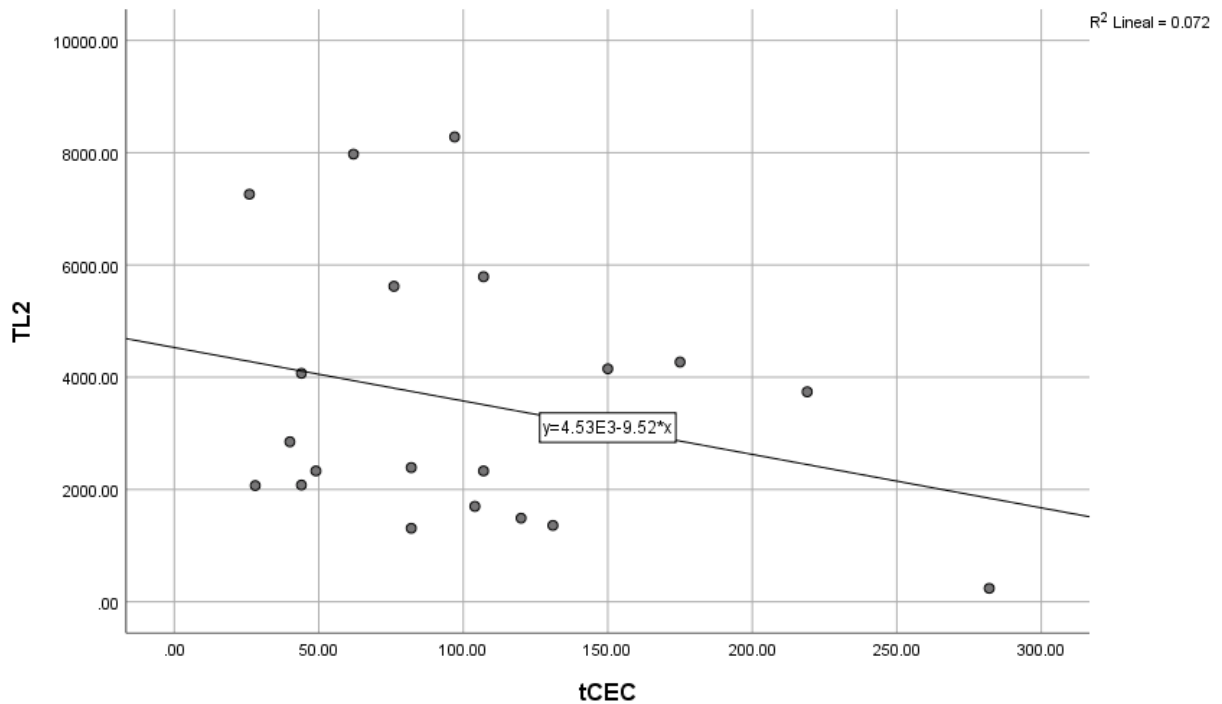


Ilustración 5. Gráfico de dispersión, correlación de Pearson entre las variables tCEC y TL2. El gráfico de dispersión muestra que la cuenta de linfocitos TL2 disminuye con el aumento del tiempo en CEC.

Tabla 10. Coeficiente de correlación de Pearson para las variables tCEC y TL2.

		tCEC	TL2
tCEC	Correlación de Pearson	1	$r=-0.269$
	Sig. (bilateral)		$p=0.252$
	N	20	20
TL2	Correlación de Pearson	-0.269	1
	Sig. (bilateral)	0.252	
	N	20	20

Se calculo  $r$  para buscar correlación del tCEC con  $\Delta L$ . El gráfico de dispersión muestra que  $\Delta L$  no se modifica de forma específica con el aumento o la disminución tCEC (ilustración 6).

El análisis identifico baja correlación entre el tiempo en Circulación extracorpórea y la cuenta diferencial de linfocitos de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson. La correlación entre estas variables no es estadísticamente significativa como se muestra en la tabla 11.

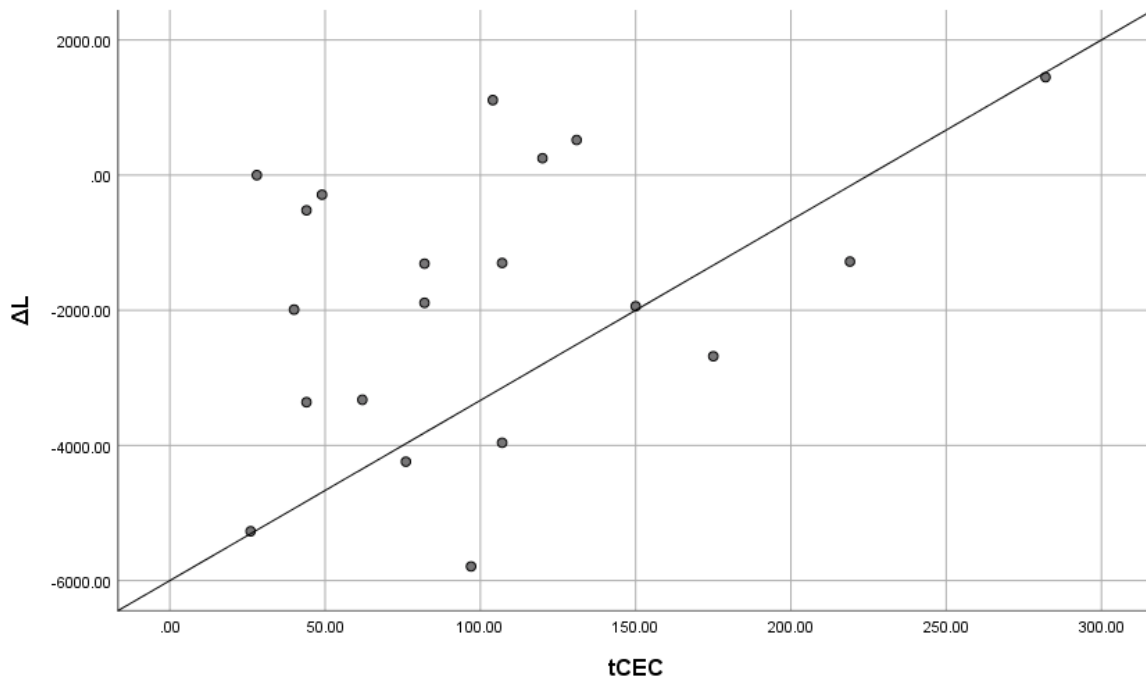


Ilustración 6. Gráfico de dispersión del análisis de correlación entre tCEC y  $\Delta L$ . El gráfico de dispersión muestra que la cuenta diferencial de linfocitos no se modifica de forma específica con el aumento o la disminución del tiempo en CEC.

Tabla 11. Correlación entre tCEC y  $\Delta L$ .

		tCEC	$\Delta L$
tCEC	Correlación de Pearson	1	$r=0.34$
	Sig. (bilateral)		$p=0.13$
	N	20	20
$\Delta L$	Correlación de Pearson	.34	1
	Sig. (bilateral)	.13	
	N	20	20

Se calculó  $r$  para buscar correlación de  $\Delta FasL$  con  $\Delta L$ . El análisis identificó un bajo coeficiente de correlación negativo entre  $\Delta FasL$  y  $\Delta L$ , sin embargo, estos resultados no son estadísticamente significativos (mostrado en la tabla 12).

El gráfico de dispersión muestra que la cuenta diferencial de linfocitos en general disminuye con el aumento de  $\Delta FasL$  (ilustración 7).



Tabla 12. Coeficiente de correlación de Pearson. Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre  $\Delta$ FasL y  $\Delta$ L

		$\Delta$ L	$\Delta$ FasL
$\Delta$ L	Correlación de Pearson	1	$r=0-.07$
	Sig. (bilateral)		$p=0.77$
	N	28	17
$\Delta$ FasL	Correlación de Pearson	-.07	1
	Sig. (bilateral)	.77	
	N	17	17

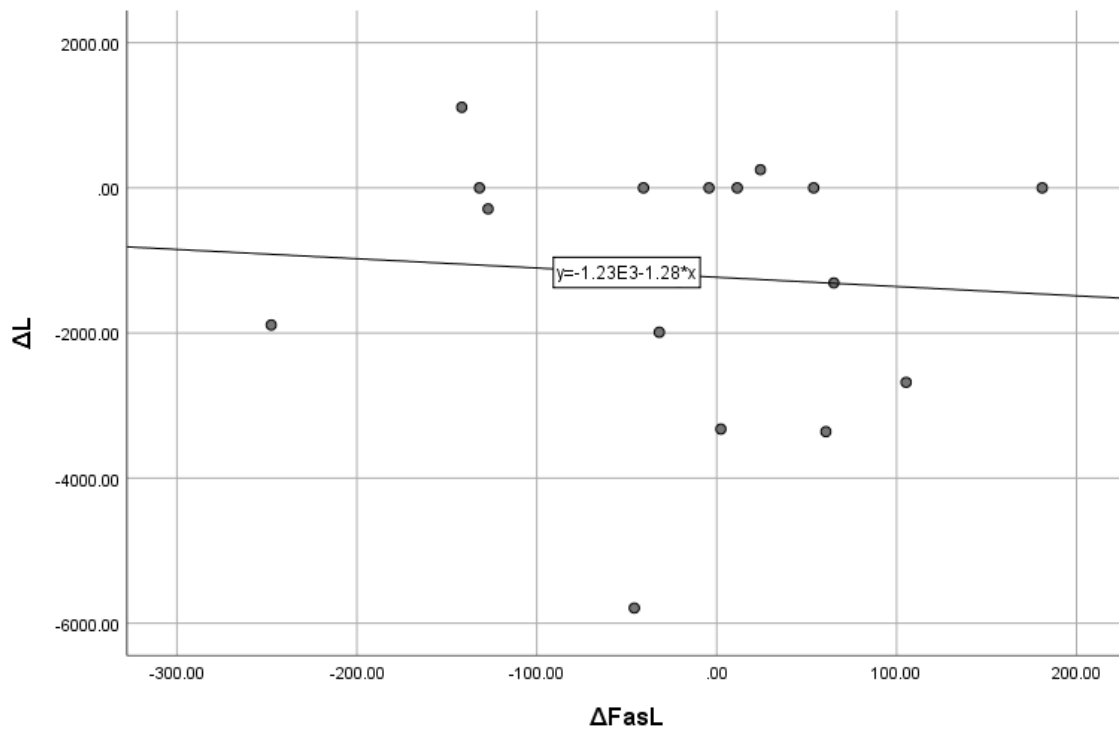


Ilustración 7. Gráfico de dispersión del análisis de correlación entre  $\Delta$ FasL y  $\Delta$ L. El gráfico de dispersión muestra que la cuenta diferencial de linfocitos disminuye con el aumento de  $\Delta$ L.

Los resultados clínicos y el seguimiento fueron similares en todos los pacientes por lo que no fue necesario un análisis de asociación entre estas variables y las concentraciones de FasL o el tCEC.

### Discusión

La concentración de FasL previa y posterior a la CEC se eleva en la mayoría de los pacientes analizados, sin embargo, el análisis de comparación no encontró diferencias estadísticamente significativas.

FasL muestra tendencia al aumento de sus concentraciones con el aumento en el tiempo en circulación extracorpórea. El efecto es más marcado en los pacientes que estuvieron más de 100 min en CEC (tCEC >100 min) como se muestra en la tabla 9, sin embargo, estos datos no son estadísticamente significativos, lo que puede deberse a un tamaño de muestra pequeño, solamente 11 pacientes en los que se pudo realizar el análisis de FasL y tCEC. Previamente se han obtenido datos por cuantificación con RT-PCR donde se observa elevación significativa de FasL comparando la concentración previa y la posterior a una cirugía mayor a consecuencia de las citocinas inflamatorias.<sup>7</sup>

En nuestro estudio el tiempo en CEC no parece modificar la cuenta diferencial de linfocitos de forma significativa.

El análisis de correlación entre  $\Delta$ FasL y  $\Delta$ L mostró un coeficiente de correlación negativo bajo, por lo que hay una correlación inversa entre la cuenta diferencial de linfocitos y  $\Delta$ FasL, previos estudios han reportado disminución de la cuenta de linfocitos, sin embargo, se reconoce que este efecto puede ser consecuencia de la redistribución vascular en el postoperatorio.<sup>7</sup> En nuestro estudio no se encontró correlación estadísticamente significativa entre estas dos variables.

La respuesta de FasL a los procesos inflamatorios y la tendencia a su elevación también se ha demostrado en el proyecto principal, en el que por medio de RT-PCR realizando mediciones relativas de la expresión de *FASL* en comparación con la *CTNNB1* ( $\beta$ -Catenina) previo a la CEC y posterior a la CEC se observó tendencia a la elevación de la expresión del gen (mostrado en el anexo, ilustración 9), sin embargo, los datos no tienen diferencia estadísticamente significativa (mostrado en el anexo, ilustración 8).

Los resultados clínicos tanto en la evolución como en el seguimiento a los 6 meses fueron favorables en todos los casos por lo que no se consideró necesario un análisis de asociación entre estas variables y las concentraciones de FasL o el tCEC. Esto está relacionado con el manejo oportuno de los pacientes y el éxito de las intervenciones. Se desconoce su efecto a largo plazo.

## Conclusión

- FasL tiende a elevarse posterior a la CEC y este efecto es más marcado en los pacientes que están más de 100 min en CEC.
- En nuestro estudio el tiempo en CEC no modifica la cuenta diferencial de linfocitos de forma significativa.
- Encontramos baja correlación negativa de la cuenta diferencial de linfocitos y  $\Delta$ FasL, la caída en la cuenta de linfocitos se podría explicar por elevación de FasL, pero también por otros fenómenos como la redistribución vascular en el postoperatorio.<sup>7</sup>
- No hay una asociación visible en el corto y mediano plazo en la evolución o desenlace de los pacientes con ninguna de las variables estudiadas.

- En nuestro estudio el número de muestra es relativamente pequeño, se podrían aumentar los pacientes analizados para observar el cambio en la concentración de FasL.
- El efecto de FasL en el miocardio podría ser analizado en modelos con mayor control como tejidos in vitro para determinar la importancia biológica de este ligando sobre la función cardiovascular. Así, se podría obtener mayor precisión acerca del efecto que tiene el ligando sobre las células del miocardio.

## Referencias

1. Timmer T, de Vries EGE, de Jong S. Fas receptor-mediated apoptosis: A clinical application? *Journal of Pathology*. 2002;196(2):125-134. doi:10.1002/path.1028
2. Volpe E, Sambucci M, Battistini L, Borsellino G. Fas-fas ligand: Checkpoint of t cell functions in multiple sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2016;7(SEP). doi:10.3389/fimmu.2016.00382
3. Ruberti G, Cascino I, Papoff G, Eramo A. *Fas Splicing Variants and Their Effect on Apoptosis*. doi:Frontiers in bioscience: a journal and virtual library. 1996; vol. 1 d12-8. 1. doi:10.2741/A112
4. Yamada A, Arakaki R, Saito M, Kudo Y, Ishimaru N. Dual role of Fas/FasL-mediated signal in peripheral immune tolerance. *Frontiers in Immunology*. 2017;8(APR). doi:10.3389/fimmu.2017.00403
5. Malarkannan S. Molecular mechanisms of FasL-mediated 'reverse-signaling.' *Molecular Immunology*. 2020;127:31-37. doi:10.1016/j.molimm.2020.08.010
6. Suda T, Hashimoto H, Tanaka M, Ochi T, Nagata S. *Membrane Fas Ligand Kills Human Peripheral Blood T Lymphocytes, and Soluble Fas Ligand Blocks the Killing*. Vol 186.; 1997. <http://www.jem.org>
7. Sugimoto M, Shimaoka M, Hosotsubo K, et al. *Up-Regulation of Fas Ligand (FasL) MRNA Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) after Major Surgery*. doi:Clinical and experimental immunology. 1998; Vol. 112, 1. doi.org/10.1046/j.1365-2249.1998.00535.
8. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(23):2255-2273. doi:10.1056/nejmra2026131
9. Rebanta K. Chakraborty; Bracken Burns. Systemic Inflammatory Response Syndrome. doi:StatPearls, StatPearls Publishing. 2021; PMID: 31613449
10. Carcillo JA, Podd B, Aneja R, et al. Pathophysiology of pediatric multiple organ dysfunction syndrome. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2017;18(3):S32-S45. doi:10.1097/PCC.0000000000001052
11. Voss AK, Strasser A. The essentials of developmental apoptosis. *F1000Res*. 2020;9. doi:10.12688/f1000research.21571.1
12. Stoneman VEA, Bennett MR. *Role of Fas/Fas-L in Vascular Cell Apoptosis*. doi:Journal of cardiovascular pharmacology. 2009; vol. 53,2, 100-8. doi:10.1097/FJC.0b013e318198fe60
13. Joashi U, Tibby SM, Turner C, et al. Soluble Fas may be a proinflammatory marker after cardiopulmonary bypass in children. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2002;123(1):137-144. doi:10.1067/mtc.2002.118685
14. Sallee D, Qiu Y, Liu J, Watanabe M, Fisher SA. Fas ligand gene transfer to the embryonic heart induces programmed cell death and outflow tract defects. *Developmental Biology*. 2004;267(2):309-319. doi:10.1016/j.ydbio.2003.11.020

15. Pulkki KJ. Cytokines and cardiomyocyte death. *Annals of Medicine*. 1997;29(4):339-343. doi:10.3109/07853899708999358
16. Aul P, Idker MR, Harles C, et al. *C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women*. doi:The New England journal of medicine vol. 342,12 (2000): 836-43. doi:10.1056/NEJM200003233421202
17. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD. Relative contributions of nutrition and inflammation to clinical outcome in dialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001;38(6). doi:10.1053/ajkd.2001.29250
18. El-Agroudy AE, El-Baz A. Soluble Fas: A useful marker of inflammation and cardiovascular diseases in uremic patients. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2010;14(2):152-157. doi:10.1007/s10157-009-0261-8
19. Purevjav E, Nelson DP, Varela JJ, et al. Myocardial Fas ligand expression increases susceptibility to AZT-induced cardiomyopathy. *Cardiovascular Toxicology*. 2007;7(4):255-263. doi:10.1007/s12012-007-9004-9
20. Liu Y, Chen S, Zühlke L, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: Updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(2):455-463. doi:10.1093/ije/dyz009
21. Micheletti A. Congenital Heart Disease Classification, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Outcome. In: *Congenital Heart Disease*. Springer International Publishing; 2019:1-67. doi:10.1007/978-3-319-78423-6\_1
22. Márquez-González H, Yáñez-Gutiérrez L, Rivera-May JL, López-Gallegos D, Almeida-Gutiérrez E. Demographic analysis of a congenital heart disease clinic of the Mexican Institute of Social Security, with special interest in the adult. *Archivos de Cardiología de México*. 2018;88(5):360-368. doi:10.1016/j.acmx.2017.09.003
23. Hines MH. ECMO and congenital heart disease. *Seminars in Perinatology*. 2005;29(1):34-39. doi:10.1053/j.semperi.2004.02.001
24. Lüsebrink E, Stremmel C, Stark K, et al. Update on Weaning from Venous-Arterial Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(4):992. doi:10.3390/jcm9040992
25. Abad C, Castaño-Ruiz M, Clavo B, Urso S. Daño por isquemia-reperfusión miocárdico en cirugía cardíaca con circulación extracorpórea. Aspectos bioquímicos. *Cirugía Cardiovascular*. 2018;25(2):112-117. doi:10.1016/j.circv.2017.09.007
26. Thangappan K, Cavarocchi NC, Baram M, Thoma B, Hirose H. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) after extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): Incidence, risks and survivals. *Heart and Lung: Journal of Acute and Critical Care*. 2016;45(5):449-453. doi:10.1016/j.hrtlng.2016.06.004
27. Smith M, Vukomanovic A, Brodie D, Thiagarajan R, Rycus P, Buscher H. Duration of veno-arterial extracorporeal life support (VA ECMO) and outcome: An analysis of the

Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) registry. *Critical Care*. 2017;21(1). doi:10.1186/s13054-017-1633-1

28. Ruggieri VG, Bounader K, Verhoye JP, et al. Prognostic Impact of Prolonged Cross-Clamp Time in Coronary Artery Bypass Grafting. *Heart Lung and Circulation*. 2018;27(12):1476-1482. doi:10.1016/j.hlc.2017.09.006
29. Setsuta K et al. Ongoing myocardial damage in chronic heart failure is related to activated tumor necrosis factor and Fas/Fas ligand system. *official journal of the Japanese Circulation Society*. 2004;68,8(747-50. doi:10.1253/circj.68.747).
30. Müller P, Deneke T, Schiedat F, et al. Increased preoperative serum apoptosis marker fas ligand correlates with histopathology and new-onset of atrial fibrillation in patients after cardiac surgery. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013;24(10):1110-1115. doi:10.1111/jce.12191
31. *Declaration of Helsinki World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects*.
32. Diario Oficial de la Federación. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación Para la Salud. Published online 1987.
33. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, NOM-087-ECOL-SSA1-2002, sobre protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico-infecciosos y clasificación y especificaciones de manejo. 2002.

## Anexos

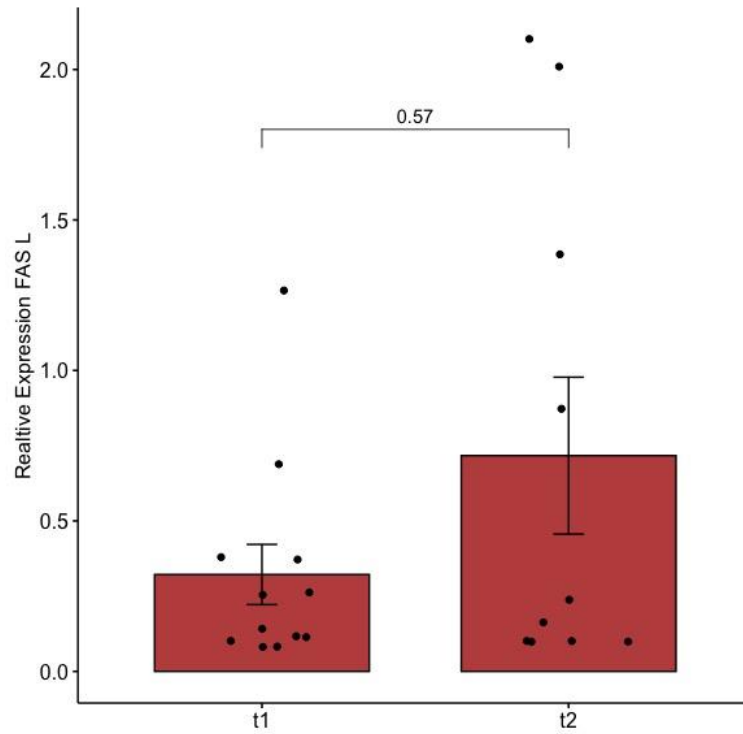


Ilustración 8. Medición de la expresión relativa de FASL en el proyecto principal. (Agregada del proyecto principal con permiso de la VILMA CAROLINA BEKKER MÉNDEZ)

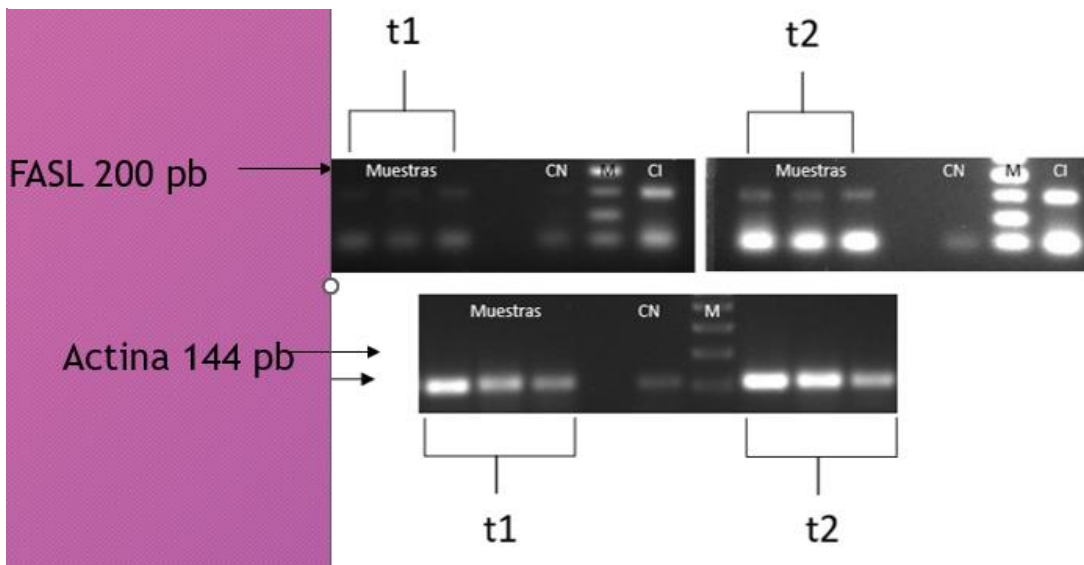


Ilustración 9. RT-PCR con PCR punto final del mRNA de FASL usando  $\beta$ -catenina como control. (Agregada del proyecto principal con permiso de la VILMA CAROLINA BEKKER MÉNDEZ)

**Formato 1.** Carta de consentimiento informado del proyecto principal:

“Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea” con número de registro R-2019-3502-059.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**  
**(NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)**



**Estudio: “Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea”**

**Investigador Principal:** Dra Bekker Méndez Vilma Carolina

**Sitio:** Terapia Intensiva Pediátrica, Hospital General Gaudencio González Garza CMN La Raza IMSS.

**México, D.F. a** \_\_\_\_ **de** \_\_\_\_\_ **de** \_\_\_\_\_.

**Número de Registro:** R-2019-3502-059

El Instituto Mexicano del Seguro Social en colaboración con la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica del Hospital General Gaudencio González Garza del CMN La Raza, le está invitando a participar en este estudio a su hijo. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento oral informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

**Justificación del Estudio**

Conocer la inflamación que se presenta en todos los procedimientos quirúrgicos (como el de su hijo), para implementar mejores estrategias de manejo y pronóstico.

**Propósito del Estudio**

Conocer y describir mejor la inflamación que se presenta en todos los eventos quirúrgicos, en especial en el tipo de cirugía de su hijo, con la finalidad de proponer mejores estrategias de tratamiento.

**Tipo de Intervención en el estudio (procedimiento):**

Le tomaremos a su hijo 2 muestras de sangre en total, en 2 ocasiones, una previo al inicio del procedimiento quirúrgico y 24 horas después de la cirugía. Serán 4 ml por muestra (menos de una cuchara) a través de catéter vascular (por lo que nunca sentirá dolor por punción). Además de esto, recolectaremos el registro de evolución de su hijo.

**Posibles Riesgos y molestias de la Investigación:**

Debido a que se toman de líneas vasculares (o catéteres), no se presentará dolor por punción (no se introducirá aguja) para la obtención de la muestra.

**Posibles Beneficios que recibirá al participar en el estudio:**



Usted no será beneficiado de ninguna manera directa, pero la información que se genere, contribuirá en gran medida a mejorar las estrategias de atención a niños como su hijo.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:**

De así desearlo, podrá solicitar el resultado de dicha muestra de sangre (Fas/FasL). Este resultado no modifica la terapéutica que amerite su hijo.

**Participación o retiro:**

Su participación es valiosa, voluntaria y libre, si no desea participar o desea retirarse, su hijo continuará recibiendo todos los beneficios de atención que su hijo requiera.

**Privacidad y Confidencialidad**

Toda la información (resultados de laboratorio, registros y nombre) serán protegidos y mantenidos en completa confidencialidad y nadie podrá tener acceso a ellos, a menos que solo personas del comité de ética local considere autorizados para ello. No se revelará su información personal a otras personas que sean ajenas al presente estudio.

Como una institución que otorga servicio de investigación en salud, las autoridades sanitarias en México podrían solicitar acceso a la información para evaluar la metodología y calidad de los datos de los estudios de investigación, pero su identidad será confidencial en todo momento. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos. Su muestra será cuidadosamente resguardada en la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología, Hospital de Infectología CMN “La Raza”.

Marque con una “X” la opción que usted considera más conveniente con respecto a la autorización para recolección de la muestra de sangre periférica:

<input type="checkbox"/>	No autorizo que se tome la muestra
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros

**En caso de que autorice que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros; Ud debe saber y conocer que esta muestra se guardara por tres años 2018-2021.**

**Disponibilidad de tratamiento médico:**

La disponibilidad del tratamiento o el tratamiento que necesite su hijo inherente al procedimiento quirúrgico que le realizaran a su hijo, será total y continuo, de acuerdo a lo que amerite.

**Costos y remuneraciones:**

Los costos del procedimiento tanto de evaluación como de laboratorio, no tienen ningún costo, usted no tendrá que pagar por nada que este relacionado con este estudio. Así

también es importante que sepa que al participar en este estudio no se le otorgara ningún tipo de remuneración.

**Beneficios al termino del estudio:**

Incrementara el conocimiento acerca de la inflamacion que se presenta en los eventos quirurgicos como el de su hijo.

**Información adicional importante:**

Su participación es completamente voluntaria, si usted decide no ser parte del estudio clínico, no será forzado ni motivado a explicar su decisión. Si usted acepta firmar este documento y ser parte del estudio y posteriormente decide ya no participar, podrá retirar su autorización sin que esto le ocasione que pierda sus beneficios que le otorga la atención médica en este Instituto y usted podrá sin ningún problema continuar con su tratamiento. No se trabajará mas con sus datos y muestras de material biológico, además de que estás serán automáticamente desechadas.

Si usted autoriza que su muestra biológica se resguarde, debe saber que será conservada por 3 años una vez finalizado el estudio, posterior a esto será desechada.

**En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité de Ética en Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330, 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Col. Doctores, CP06720, CDMX**

**Teléfono (55) 56276900 extensión 21230.**

**Correo electrónico: [comiteeticainv.imss@gmail.com](mailto:comiteeticainv.imss@gmail.com) o: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)**

**Información de Contacto:**

En caso de que tenga dudas o preguntas favor de contactar a las siguientes personas

**IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES INVESTIGADOR RESPONSABLE**

**[Dra. Vilma Carolina Bekker Méndez](#)**

[Titular de la Unidad de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología. Hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez Hernández” Centro Médico Nacional “La Raza”. Avenida Jacarandas esq. Seris, Colonia La Raza \(02990\). CDMX. Tel. 57821088 Ext. 24322, Laboratorio 24315 E-mail: \[bekkermendez@yahoo.com\]\(mailto:bekkermendez@yahoo.com\)](#)

Nº Matrícula IMSS 11113452

**[INVESTIGADORES ASOCIADOS](#)**

**Dr. José Cosmos Saldaña Sánchez.**

Adscrito a la Terapia Intensiva Pediátrica, Centro Médico Nacional La Raza, Hospital General Gaudencio González Garza, en el séptimo piso. [Avenida Jacarandas esq. Seris, Colonia La Raza \(02990\). CDMX. Cel 5514410877. \[cosmos\\\_sal@hotmail.com\]\(mailto:cosmos\_sal@hotmail.com\)](#)

## **FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

He tenido el tiempo suficiente para leer y comprender la carta de consentimiento informado. El propósito y naturaleza del estudio se me han explicado.

He tenido oportunidad de hacer preguntas y se me han otorgado respuestas comprensibles. Entiendo que puedo expresar mis dudas durante el estudio y me serán aclaradas.

Declaro no omitir información que pueda afectar mi salud durante la realización del estudio.

Mi participación en este estudio es completamente voluntaria.

Comprendo que la información que se genere durante el estudio puede ser difundida, pero siempre se respetará mi confidencialidad y no será revelada mi identidad.

Acepto participar en el estudio clínico, entiendo también que estoy en libertad de retirarme del estudio en cualquier momento y por cualquier razón sin afectar el estudio en marcha.

Comprendo que recibiré un duplicado firmado de este consentimiento escrito.

### **Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

### **Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

### **Testigo 1:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto: \_\_\_\_\_

### **Testigo 2:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto: \_\_\_\_\_

**Investigador o Personal autorizado que llevo a cabo el proceso de consentimiento informado:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Formato 2.** Carta de asentimiento de proyecto principal "Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea" con número de registro R-2019-3502-059.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO  
(CASOS)**

**CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

**Nombre del estudio:** “Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea”

**Investigador Principal del protocolo** Dra. Bekker Méndez Vilma Carolina responsable

**Lugar y fecha:** Terapia Intensiva Pediátrica, Hospital General Gaudencio González Garza CMN La Raza IMSS. México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**Número de registro:** R-2019-3502-059

**Presentación e invitación a Mi nombre es:** Dra Bekker Méndez Vilma Carolina y José Cosmos Saldaña Sánchez, trabajamos en un laboratorio de investigación y en la terapia intensiva pediátrica, del Centro Médico Nacional “La Raza” y estamos realizando un estudio para conocer los marcadores de apoptosis Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea

**Nos interesa invitarte a que participes en este estudio ya que acudirás a la Terapia Intensiva**

Si tus padres y tú están de acuerdo. Tendrás que hacer lo siguiente:

- A)** Permitirnos obtener en 2 ocasiones (una en el quirófano y otras 24 horas de tu cirugía en la Terapia Intensiva Pediátrica) a través de un catéter venoso, menos de una cuchara de sangre (4 ml). Esto será sin generar ningún dolor o malestar.
- B)** Recolectar el registro de tu evolución en la Terapia Intensiva Pediátrica (también sin general dolor o molestia).

Este estudio busca la detección de marcadores de inflamación después del procedimiento quirúrgico que se presenta en todos los casos de niños como tú. La información que se obtenga ayudará a tu médico tratante a tener un mejor conocimiento de la inflamación.

Tu participación es libre y voluntaria, es decir, es la decisión de tus padres y tuya si participas en este proyecto genómico.

También es importante que sepas que, si estabas participando y tus padres y tú no quieren continuar en el estudio, no habrá ningún problema y se respetará tu decisión.

Si no quieres responder a alguna pregunta en particular, es necesario que lo digas. Es tu decisión y se respetará.

Si no participas o si dejas de participar en algún momento de esta investigación, igualmente seguirás recibiendo los cuidados que necesites, por parte del hospital y de tu médico, el Dr. \_\_\_\_\_

La información que tengamos de ti y tu salud será un secreto. Esto quiere decir que no diremos a nadie tus respuestas o resultados de los estudios sólo lo sabrán las personas que forman parte del equipo de este estudio.

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una x en el cuadrado de abajo que tu prefieras, que tu decidas y escribir tu nombre.

EN CASO DE QUE ACEPTES QUE SE TOME LA MUESTRA PARA ESTE ESTUDIO Y ESTUDIOS FUTUROS. DEBES SABER Y CONOCER QUE LA MUESTRA SE GUARDARÁ POR TRES AÑOS (2019-2022).

NO QUIERO PARTICIPAR

SI AUTORIZO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO

SI AUTORIZO QUE SE TOME LA MUESTRA PARA ESTE ESTUDIO Y ESTUDIOS FUTUROS

NOMBRE DEL PARTICIPANTE: \_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable: **Dra Vilma Carolina Bekker Méndez**, al teléfono: 5557245900 ext. 243322 o 24315 en el Servicio o la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología, ubicada en Centro Médico Nacional La Raza.

Colaboradores:

**Dr. José Cosmos Saldaña Sánchez** , a los teléfonos: 55245900  
extensión 223489 o 23490

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. T teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comiteeticainv.imss@gmail.com](mailto:comiteeticainv.imss@gmail.com)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de uno o ambos padres o  
tutores o representante legal

Testigo 1

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene carta de  
asentimiento

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma



**Formato 3. Dictamen de autorización de la cohorte del proyecto principal:**

“Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea” con número de registro R-2019-3502-059.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación en Salud 3502 con número de registro 18 CI 09 002 001 ante COFEPRIS y número de registro ante CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 027 2017101.  
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

FECHA Lunes, 18 de febrero de 2019.

**DRA. VILMA CAROLINA BEKKER MÉNDEZ  
PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

“Detección de marcadores apoptóticos Fas/FasL en pacientes pediátricos con cardiopatía congénita manejados con circulación extracorpórea”

que sometió a consideración para evaluación de este Comité Local de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

No. de Registro  
R-2019-3502-059

ATENTAMENTE

**DR. GUILLERMO CAREAGA REYNA**  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3502

**IMSS**  
SEGURIDAD Y SALUD PARA TODOS