

11237



**CENTRO MEDICO NACIONAL
"20 DE NOVIEMBRE"**

PEDIATRÍA

CUANTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES
LINFOCITARIAS EN NIÑOS POSTOPERADOS DE
CORAZÓN EN EL CMN "20 DE NOVIEMBRE".

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALIDAD DE PEDIATRIA
PRESENTA:

DRA. LUZ MARIA RAMIREZ FUENTES

2004



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).

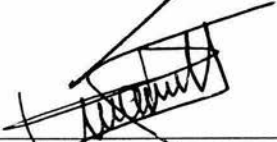
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

FIRMAS:






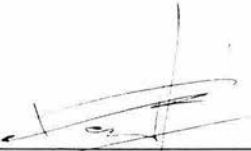
DR. MAURICIO DISILVIO LOPEZ
Subdirección de enseñanza e investigación.



DR. MIGUEL ANGEL PEZZOTTI Y RENTERIA
Profesor titular de pediatría.



DRA. MIRNA SUAREZ CARDENAS
Asesor de tesis.



DRA. LUZ MARIA RAMIREZ FUENTES
Residente de pediatría.



ÍNDICE:

Resumen	4
Summary	4
Introducción	5
Material y métodos	6
Resultados	7
Discusión.	8
Conclusión	9
Tablas	9
Gráficas	10
Bibliografía	12

RESUMEN.

OBJETIVO. Determinar los cambios cuantitativos de las subpoblaciones de linfocitos T, secundarias al trauma por cirugía cardíaca, dentro de las primeras 8, 24 y 72 horas del posquirúrgico.

MATERIAL Y METODOS. En el período comprendido de mayo a agosto del 2002, en el CMN "20 de Noviembre" se realizó un estudio observacional, prospectivo y longitudinal en donde se incluyeron 18 pacientes con diversas cardiopatías a quienes se les tomaron linfocitos totales, CD3, CD4 y CD8 72 horas previas a la corrección quirúrgica de su cardiopatía, y un control a las 8, 24 y 72 horas después de la cirugía.

RESULTADOS. Se observó una disminución significativa en la cantidad de linfocitos totales ($p = 0.000012$), CD3 ($p = 0.000026$), CD4 ($p = 0.000010$) y CD8 ($p = 0.000011$), desde las primeras 8 horas del evento quirúrgico, siendo ésta disminución más paulatina de las 24 a las 72 horas para CD8, mientras que CD4 su disminución fue más evidente dentro de las primeras 24 horas con una disminución más gradual para las 72 horas, sin observarse recuperación en alguna de las variables hasta el momento de concluir el período de estudio.

CONCLUSIONES. Existe una disminución cuantitativa de los linfocitos totales así como de CD3, CD4 y CD8 desde las primeras 8 horas posteriores a cirugía cardíaca, sin observarse recuperación durante las siguientes 72 horas del postoperatorio.

SUMMARY.

OBJECTIVE. To determine the quantitative changes of the subpopulations of lymphocyte T, secondary to the trauma for heart surgery, inside the first ones 8, 24 and 72 hours of the pos-surgical.

MATERIAL AND METHODS. In the understood period of May to August of the 2002, in the CMN 20 of November them was carried out an observational, prospective and longitudinal study where 18 patients were included with diverse heart disease to those who were taken total lymphocyte, CD3, CD4 and CD8 72 previous hours to the surgical correction of their heart disease, and a control at the 8, 24 and 72 hours after the surgery.

RESULTS. A significant decrease was observed in the quantity of total lymphocyte ($p = 0.000012$), CD3 ($p = 0.000026$), CD4 ($p = 0.000010$) and CD8 ($p = 0.000011$), from the first 8 hours of the surgical event, being this more gradual decrease from 24 o'clock to the 72 hours for CD8, while CD4 its decrease was more evident in the first 24 hours, with a more gradual decrease for the 72 hours, concluding the period of study without being observed recovery of all the variables until that moment.

CONCLUSIONS. A quantitative decrease of the total lymphocyte exists as well as of CD3, CD4 and CD8 from the first 8 later hours to heart surgery, without being observed recovery until the 72 hours that it lasted the period of study.

INTRODUCCIÓN.

Las malformaciones cardíacas congénitas es una de las principales causas de muerte en los niños de Norte América. De 3.7 millones de recién nacidos por año, 30,000 resultan con algún defecto congénito cardíaco de quienes aproximadamente 25,000 requerirán cirugía correctiva (1). Durante la pasada década la corrección quirúrgica se posponía por largo tiempo, realizándose procedimientos paliativos; sin embargo, se ha denotado que la corrección quirúrgica temprana puede prevenir frecuentemente las complicaciones fisiológicas de la misma cardiopatía congénita. Una modalidad en las técnicas quirúrgicas para este tipo de malformaciones es la cirugía realizada con Bomba de Circulación Extracorpórea (2). Ésta se caracteriza por el uso de variables mecánicas para el mantenimiento temporal de la función de corazón y pulmón.

Varias publicaciones desde 1989 han listado factores tales como la duración del bypass, canalización en el quirófano, disfunción renal, terapia con productos sanguíneos, presencia de defectos residuales cardíacos y duración de la bomba como factores asociados con muerte postoperatoria. Existen evidencias de la asociación de infección adquirida en algún momento durante el tiempo de bomba aumentando la mortalidad. Datos publicados sugieren que solamente del 36 al 58% de los niños sometidos a cirugía con bomba de circulación extracorpórea, sobreviven durante el período postoperatorio, por causas no cardíacas incluyendo falla orgánica múltiple e infección.

El trauma causado por la cirugía cardíaca como por cualquier otro tipo de trauma causa modificaciones en la interacción monocitos-células T lo cual es asociado con profundos cambios en los monocitos y depresión substancial de las células T. Este daño inducido por el trauma se ha postulado como un factor importante para aumentar la susceptibilidad a adquirir serios procesos infecciosos así como disfunción orgánica múltiple.

Comúnmente se ha acordado que las células T muestran una disfunción funcional inmediata después de cualquier trauma, el grado y la duración de la misma es directamente proporcional a la severidad del trauma. Bajo ciertas condiciones los linfocitos T ayudadores pueden ser subdivididos en dos grupos funcionalmente distintos, subtipos altamente polarizados, denominados TH1 y TH2, esto depende del tipo de linfocinas que producen: la TH1 produce interferón gamma, interleucina 2 y factor de necrosis tumoral β y las TH 2 producen IL 4, 5, 6, 9, 10 y 13. Otras proteínas son producidas por ambas como IL 3, factor de necrosis tumoral α y factor estimulante de colonias macrófago-granulocitos (5). El daño en la función de las células T-ayudadoras y la polarización de la síntesis de linfocinas de las TH2 se postula como la mayor causa de inmunodeficiencia postraumática. En estudios donde se comparan los niveles de CD4 y CD8 de pacientes con trauma importante (quemados); se observa disminución continua de CD8 durante el postraumático inmediato y mediato mientras que los niveles de CD4 se encontraban dentro de rangos iguales al grupo control(6).

Aparentemente las alteraciones en las líneas celulares sanguíneas son iguales en cualquier tipo de trauma quirúrgico grave, sin embargo; para pacientes sometidos a cirugía cardíaca, como los pacientes que se atienden en la UTIP del CMN "20 de Noviembre", no hay referencias; siendo el propósito final del presente estudio, observar el comportamiento de los linfocitos totales, CD3, CD4 y CD8 posteriores a la corrección quirúrgica cardíaca en un período máximo de 72 horas.

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un estudio observacional, prospectivo y longitudinal, durante el período de mayo a agosto del 2002, a 46 pacientes pediátricos se les realizó cirugía cardíaca en el CMN "20 de Noviembre", de los cuales 18 cumplieron con los siguientes criterios de inclusión para el estudio: tener una edad de un mes a menores de 15 años, con cualquier tipo de cardiopatía congénita, que ingresaran a corrección quirúrgica de la misma, con valoración por el servicio de infectología pediátrica corroborándose la ausencia de proceso infeccioso previo a la cirugía, y una estancia hospitalaria mínima de 72 horas en UTIP posterior al evento quirúrgico. El resto se excluyeron por antecedente de proceso infeccioso o tratamiento inmunomodulador una semana previa a la cirugía, eliminándose por toma de muestras incompletas o extemporáneas, reintervención quirúrgica y fallecimiento durante las primeras 72 horas postoperatorias. De los 18 pacientes incluidos 17 fueron intervenidos con bomba de circulación extracorpórea con oxigenador de membrana y el restante sólo se le realizó cierre de PCA.

Se tomaron muestras de linfocitos totales, subpoblación de linfocitos (CD3, CD4 y CD8) alrededor de 72 horas previas a la cirugía, lo que se tomó como referencia basal, posteriormente a las 8, 24 y 72 horas posteriores a la misma. Se tomó la cifra de linfocitos de biometría hemática, la muestra fue tomada en tubos microtainer con K3 EDTA como anticoagulante de 0.5ml de capacidad, llevándose a laboratorio central de esta unidad hospitalaria, en donde se cuenta con Coulter Maxm Analyzer y Coulter Maxm Analyzer with autolouder. La muestra para la subpoblación linfocitaria se obtuvo en el mismo tipo de tubo y ésta se procesó en el laboratorio de genética con Clitómetro de flujo (Facsalibur de BD).

Los resultados fueron recolectados en hojas en donde se incluyó nombre, edad, sexo, diagnóstico, cirugía realizada, tiempo de cirugía, bomba, anestesia y grado de hipotermia, además de las cifras obtenidas en la biometría hemática de linfocitos totales y los resultados obtenidos de CD3, CD4 y CD8, las cuales se reportaron en células/mm³.

Para la estadística se utilizó análisis de varianza de Kruskal-Wallis, obteniéndose medias, valores mínimos y máximos, desviaciones estándar y valor de "p", considerándose significativa < 0.05. Otro utilizado fue la correlación de Pearson, ambos métodos obtenidos del programa EPI6.

RESULTADOS.

Se encontró que de los 18 pacientes incluidos 9 del sexo femenino y 9 del sexo masculino con un rango de edad media de 52 meses (4.3 años), con un mínimo de 3 meses y máximo de 132 meses (11 años). Los diagnósticos variaron desde malformaciones únicas hasta malformaciones complejas teniendo de los más frecuentes 3 pacientes con Tetralogía de Fallot (16.7%), 3 con Comunicación Interauricular (CIA) tipo ostium secundum (16.7%), 2 con Comunicación Interventricular (CIV) + Persistencia del conducto arterioso (PCA) + Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) (11%), encontrándose un paciente para cada uno de los siguientes diagnósticos: CIV, Estenosis aórtica, Anomalía de Ebstein, Estenosis de venas pulmonares derechas + HAP, Doble Vía de Salida de Ventrículo Derecho (DVSVD), Drenaje Anómalo Total de Venas Pulmonares (DATVP) + CIA + PCA, CIA + DATVP + HAP, DVSVD + CIV + CIA + HPA y DVSVD + CIV + HAP (44% por todos). Otras variables para cada paciente se describen en la tabla 1.

El comportamiento de los linfocitos absolutos muestra disminución con respecto a la cifra basal, siendo más evidente dentro de las primeras 8 horas, con una pendiente menor para las siguientes 24 y 72 horas ($p=0.000012$) (gráfica 1). Los CD3 absolutos presentaron disminución significativa dentro de las primeras 24 horas del período posquirúrgico siendo más discreta ésta disminución para las 72 horas ($p=0.000026$) (gráfica 2). Los linfocitos T supresores (CD8) presentan una disminución mayor dentro de las primeras 8 horas, con una disminución menos significativa de las 8 a las 24 horas, continuando la disminución más pausadamente para las 72 horas ($p=0.000010$) (gráfica 3). Los linfocitos T cooperadores (CD4) presentaron también disminución en sus cifras siendo más evidente dentro de las primeras 24 horas del período posquirúrgico, y para las 72 horas la disminución fue más gradual ($p=0.000011$) (gráfica 4). Se realizó correlación entre la disminución de cada uno de las variables medidas en sangre con el tiempo de pinzamiento Aórtico, grado de hipotermia y la utilización de hemoderivados durante la cirugía, con método de Pearsons, sin embargo, no se encontró una correlación estadísticamente significativa para cada variable en cuestión en ningún momento de los tiempos analizados.

DISCUSIÓN.

El presente estudio muestra que la cantidad de linfocitos absolutos así como CD3, CD4 y CD8 disminuyeron dentro de las primeras 72 horas posteriores al evento quirúrgico, sin observarse recuperación de las mismas al término del período de estudio.

En la literatura se ha mencionado una disminución de leucocitos en pacientes sometidos a cirugía con circulación extracorpórea, presentando en la diferencial, incremento de las formas en banda y linfopenia (8). También se menciona la disfunción de las células NK posterior a este tipo de procedimientos quirúrgicos, como disfunción de la inmunidad celular (9), sin embargo, no se han observado en forma específica lo que sucede con los linfocitos T, ni con sus subpoblaciones en especial CD4 y CD8.

En 1997 Zedler y colaboradores, realizaron un estudio en 10 pacientes quemados, midiendo en sangre niveles de células T totales, CD4, CD8 y algunas citocinas, en el día 1,3,5 y 7 después de la quemadura, encontrando una disminución continua de CD8, durante el período inmediato al trauma, mientras que CD4 se mantuvo en un mismo rango, ambos comparados con un grupo control (sanos) (6,7) Considerando la cirugía cardíaca como otro tipo de insulto al organismo, en nuestro estudio, tanto los linfocitos CD4 como los CD8 disminuyeron desde las primeras 8 horas. Siendo un aspecto importante a resaltar es que no se observan indicios de recuperación durante las 72 horas que duró el período de observación. Estamos de acuerdo con el autor en que este tipo de insultos al organismo son factores que aumentan la susceptibilidad hacia infecciones graves y favorecen el desarrollo de disfunción orgánica múltiple, aceptando que las células T muestran alteraciones cuantitativas y muy probablemente también funcionales inmediatamente después al trauma. En otros estudios no sólo se observó el comportamiento de las subpoblaciones, también midieron interferón gamma e interleucina 4, encontrando un incremento excesivo de la interleucina 4, siendo muy escasa para interferón gamma (6).

Hoyt y colaboradores, midieron interleucina-2 (IL-2), en 27 pacientes con traumatismo cráneo-encefálico severo, para determinar el déficit funcional de las células T dentro de las primeras 24 horas, encontrando una disminución significativa en la proliferación de IL-2. (10). Concordando con lo estudiado por Ertel y colaboradores, quienes estudiaron a 21 pacientes con traumatismos mecánicos mayores, tomando niveles de IL-2 e IL-6, los días 3,7,10, 14 y 21 posteriores al trauma, encontrando que la IL-2 disminuyó un 23% en el 3er día y 40% para el día 21, mientras que la IL-6 mostró un incremento hasta 6 veces, con tendencia a la normalización ya para el día 21 (11).

A pesar que en nuestro estudio no se buscaron alteraciones cualitativas de las subpoblaciones linfocitarias, lo referido en la literatura para otros traumas, indican que sí hay alteraciones funcionales. En base a lo anterior y tomando en cuenta la disminución en cantidad en éstas, se infiere que la respuesta inmune celular se encuentra afectada con el consecuente mayor riesgo de adquirir complicaciones infecciosas.

CONCLUSIONES.

Los niveles totales de linfocitos y las subpoblaciones, CD4 y CD8 presentaron una disminución estadísticamente significativa desde las primeras 8 horas de su monitorización, permaneciendo disminuidas durante las 72 horas que duró el período de observación.

TABLA 1.

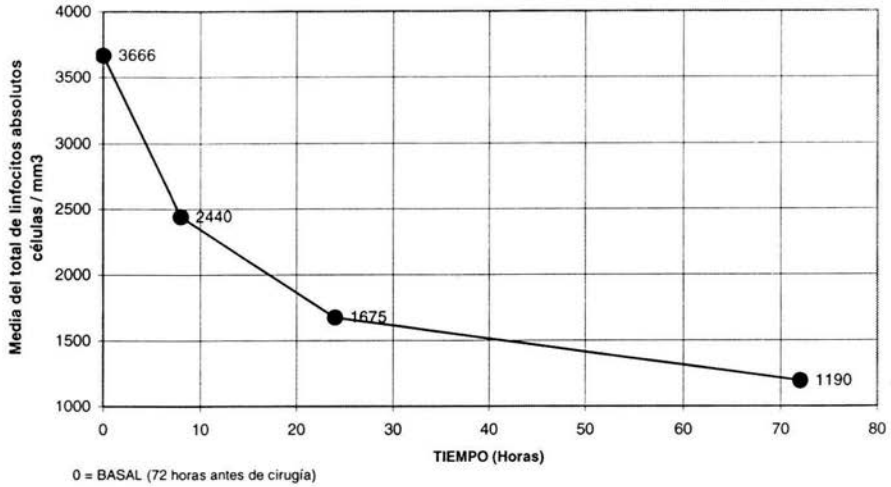
OTRAS VARIABLES OBSERVADAS DURANTE EL PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO.

VARIABLE	MINIMO	MAXIMO	MEDIA	DESV. ESTÁNDAR	
Tiempo de pinzamiento	0 minutos	110 minutos	40.2 minutos	37.2	
Hipotermia	25°C	33°C	29.5	2.75	
Tiempo de bomba CE.	20 minutos	350 minutos	83.6	64.9	
Tiempo de anestesia	120 minutos	480 minutos	249.4	91.6	
Tiempo de cirugía	90 minutos	420 minutos	193.5	83.7	
Tiempo de hipotermia*	22 minutos	270 minutos	84.0	62.3	

- Dato sólo obtenido en 15 pacientes.

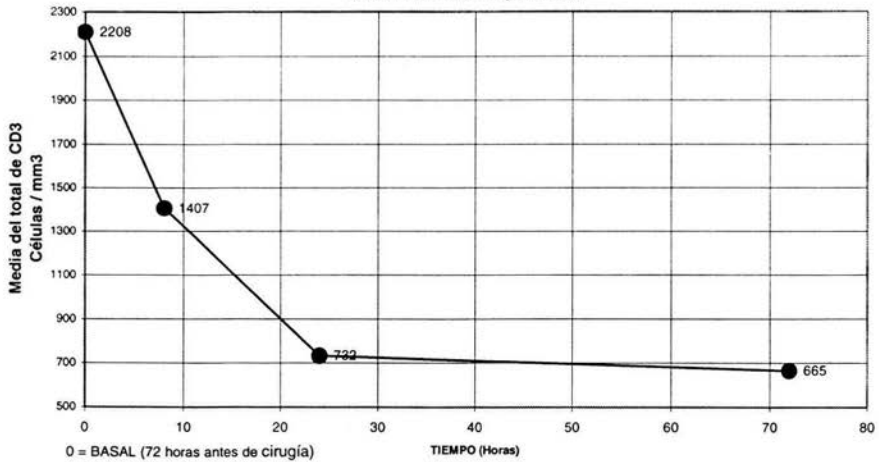
GRAFICA 1

MEDIA DEL TOTAL DE LINFOCITOS ABSOLUTOS BASEALES Y EL CONTROL DE LAS 8, 24 Y 72 HORAS POSTERIOR A LA CIRUGIA
Kruskal-Wallis = 25.4 p = 0.000012



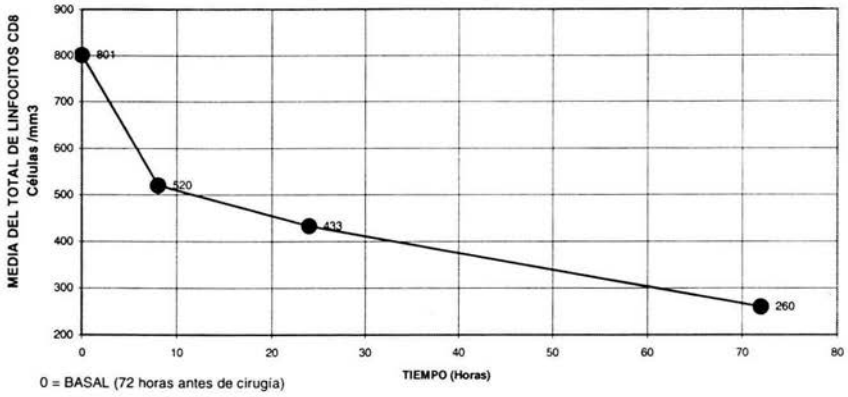
GRAFICA 2

MEDIA DEL TOTAL DE LOS LINFOCITOS CD3 BASEALES Y EL CONTROL DE LAS 8, 24 Y 72 HORAS POSTERIORES A LA CIRUGÍA
Kruskal-Wallis=23.9 p=0.00026



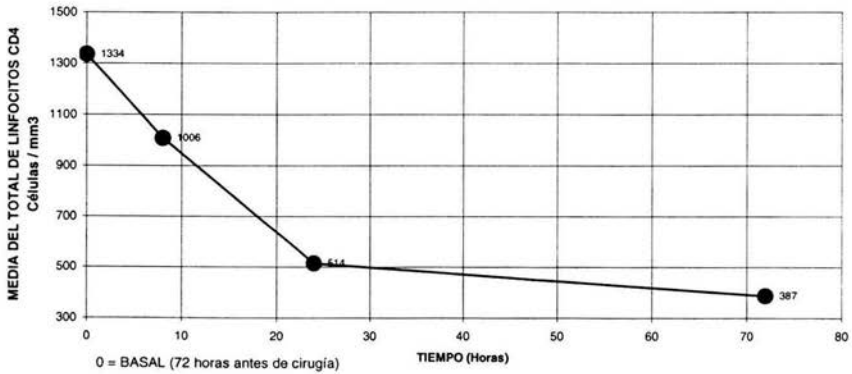
GRAFICA 3

MEDIA DEL TOTAL DE LOS LINFOCITOS CD8 BASALES Y CONTROLES A LAS 8, 24 Y 72 HORAS POSTERIORES A LA CIRUGÍA
Kruskal-Wallis=25.8 p=0.000010



GRAFICA 4

MEDIA DEL TOTAL DE LINFOCITOS CD4 BASALES Y CONTROLES A LAS 8, 24 Y 72 HORAS POSTERIORES A LA CIRUGÍA
Kruskal-Wallis=25.6 p=0.000011



BIBLIOGRAFÍA:

1. LeBlanc G. J.; Russell L. J.; *Pediatric cardiac surgery in the 1990's*; Surgical Clinics of North America; 78,5: 729-747; Octubre 1999.
2. Rosenkranz E. R.; *Pediatric Surgery for the primary care pediatrician, Part I*; Pediatric clinics of North America; 45,4: 907-941; Agosto 1998.
3. Néter F.H.; *Colección Ciba de ilustraciones médicas, tomo 5*; Salvat; Barcelona 1993; pp:294.
4. Montgomery V.L.; Strotman J.M.; *Impact of múltiple organ system dysfunction and nosocomial infections on survival of children treated with extracorporeal membrane oxygenation after heart surgery*; Critical Care Medicine; 28,2: 526-531; Febrero 2000.
5. Zedler S.; Bone R.C; y cols.; *T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns*; 27,1:66-72; Enero 1999.
6. Zedler S., Faist E, Ostermier B, y cols.; *Postburn constitutional changes in T-cell reactivity occur in CD8+ rather than in CD4+cell*; J. Trauma; 42:872-880; Mayo 1997.
7. Miller B., Levy J; *La respuesta inflamatoria en Bypass Cardiopulmonar*; Journal of Cardiothoracic and Vascular Anestesia; 11, 3:355-356; Mayo 1997.
8. Roit I.; *Essential immunology*, Inglaterra: Blackwel Scientific Publications 1977:151-188.
9. Van Velzen, Blad H, et al; *Cardiopulmonary bypass and host defense functions in humans beings:II lymphocyte function*; Ann Thorac Surgery;1985, 39:2122-17.
10. Hoyt DB, Ozkan AN, y cols.; *Head injury: an immunologic deficit in T-cell activation*; J. Trauma 1990; 30:759-766.
11. Erter W, Faist E, Nestle C y cols.; *Kinetics of interleukin-2 and interleukin-6 synthesis following major mechanical trauma*; J Surg Res, 1990; 48:622-628.