



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA IGNACIO CHÁVEZ

**CORRELACION ENTRE LOS VALORES SERICOS DE
LA PROTEINA S100B Y EL ESTADO CLÍNICO
NEUROLÓGICO PREQUIRÚRGICO DE LOS
PACIENTES PEDIÁTRICOS CON CARDIOPATÍAS
CONGÉNITAS**

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN

CARDIOLOGIA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DRA. PAOLA VIDAL ROJO

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN EBERTO CALDERÓN COLMENERO



MÉXICO, D.F.

FEBRERO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

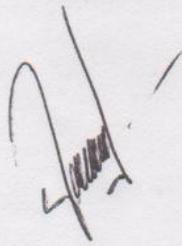


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

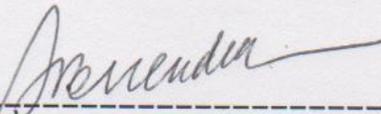
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

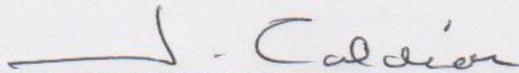
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



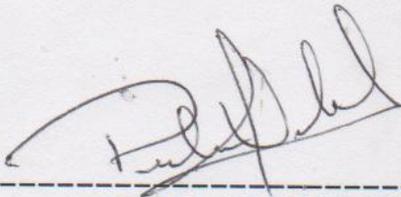
DR. JOSÉ FERNANDO GUADALAJARA BOO
JEFE DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ



DR ALFONSO BUENDÍA HERNÁNDEZ
JEFE DE SERVICIO
CARDIOLOGIA PEDIÁTRICA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ



DR. JUAN EBERTO CALDERÓN COLMENERO
DIRECTOR DE TESIS
SUBJEFE DE CARDIOLOGÍA PEDIÁTRICA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ



DRA. PAOLA VIDAL ROJO
AUTOR DE TESIS
RESIDENTE DE CARDIOLOGÍA PEDIÁTRICA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

A mi hermana

A mi familia

A mis otros amores

A mis amigos

A mis maestros...

Por su presencia, su compañía, su apoyo, su guía y su ejemplo

A mis pacientes...

El motor de mi día a día

CONTENIDO

Resumen	5
Abstract	7
Antecedentes	9
Planteamiento del problema	14
Justificación	14
Objetivos	15
Hipótesis	15
Método	16
Población de estudio	16
Medición de laboratorio	17
Análisis estadístico	18
Resultados	20
Discusión	23
Conclusión	27
Referencias	28
Tablas	32
Figuras	35

RESUMEN

La Proteína S100B (una enolasa) se encuentra en diversas partes del organismo, particularmente en la barrera hematoencefálica (astrocitos) y se ha reportado útil marcador para la integridad de la misma. Debido a la importante morbi-mortalidad de los pacientes con cardiopatías congénitas, reportándose hasta un 9% de daño cerebral permanente, es mandatorio identificar marcadores específicos de sufrimiento cerebral, a través de la actividad molecular neuronal.

Se estudiaron dos grupos de pacientes con cardiopatías congénitas sometidos a cirugía cardiaca con empleo de bomba de circulación extracorpórea: A) Grupo problema y B) Grupo control. Se tomó una muestra de sangre (2.5mL) de cada paciente en el periodo preanestésico (T0) y en los distintos momentos después de su intervención quirúrgica: 6 horas (T1), 24 horas (T2) y 56 horas (T3). Se midió la concentración de S100B en todas las determinaciones empleando técnica de ELISA.

Se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de proteína S100B entre ambos grupos, estableciéndose una concentración inicial de riesgo de 379 pg/mL con comportamiento exponencial en nuestra población latino-mexicana. Otros factores de riesgo para la morbilidad neurológica son la historia previa de patología neurológica y el deterioro de la clase funcional cardiovascular.

Debido al aumento de la concentración sérica de la proteína S100B, sin aumento significativo de la proteína C reactiva (PCR) en relación al mismo, es posible que el mecanismo de acción de la proteína en cuestión sea condicionando citotoxicidad por medio de apoptosis.

Palabras clave: biomarcador, cirugía cardíaca, morbilidad neurológica

ABSTRACT

S100B protein (an enolase) is found in several parts of the organism, specially in the hematoencephalic barrier (astrocytes) and has been considered a useful marker for its integrity. Because of an important morbimortality of patients with congenital heart diseases, being this reported up to 9% of permanent brain damage, it is imperative to identify specific markers of brain injury, throughout neuronal molecular activity.

We studied two groups of patients with congenital heart diseases that underwent open heart surgery with circulatory arrest. A) Problem Group and B) Control Group. We drew a blood sample (2.5mL) from each patient in the preanesthetic period (T0) and at different times during surgical intervention (6 hours (T1), 24 hours (T2) y 56 hours (T3)). We determined S100B protein concentration using ELISA technique.

We found significant statistical differences in protein S100B blood serum levels between both groups, establishing an initial risk concentration of 379 pg/mL con exponential behavior in our Mexican-latin population. Other risk factors for neurologic morbidity were previous history of neurological injury and deterioration of functional class.

Because the increase of S100B protein was paired with reactive C protein (RCP) and no increase in the last was statistically significant, it is possible that protein S100B action mechanism is cytotoxicity mediated by apoptosis.

Key words: biomarker, heart surgery, neurologic morbidity

ANTECEDENTES

La proteína S100B pertenece al grupo de las enolasas, proteínas caracterizadas por quelar agentes de calcio que regulan señales celulares de crecimiento, diferenciación, motilidad celular, transcripción y apoptosis. Se ha estipulado que esta proteína es un marcador de la integridad de la barrera hematoencefálica (*Heizmann et Al, Donato 2003; Maren Hoitz et Al, 2004*), y principalmente se localiza en el sistema nervioso central (SNC), y su síntesis se lleva a cabo en los astrocitos gliales capaces de regular la plasticidad neurológica (*Nishiyama et Al, 2002*). Además del SNC, se ha identificado a la proteína S100B en algunos tumores y en cardiomiocitos como respuesta a la hipoxia, aunque la literatura en este caso se refiere a la proteína S100A. En el sistema nervioso periférico (SNP), la proteína S100B se encuentra en altas concentraciones en las células Shwann, los adipositos entre otras (*Donato, Int J. Biochem Cell Biol, 2001*).

La mayor parte de la proteína S100B se encuentra en el citoplasma y se puede secretar en su forma oxidada como una molécula mitógena y neurotrópica. Sus comportamientos intra y extracelular son aparentemente independientes. Intracelularmente, la S100B regula el ensamblaje de microtúbulos y regula el ciclo celular interactuando con factores de transcripción, como la p53 (*Selinfreud et al, 1990*) Durante las alteraciones en las concentraciones de calcio y zinc intracelulares, ésta proteína es secretada por las células gliales al espacio extracelular, donde desarrolla

funciones parecidas a las citocinas (*Davey et al, 2001*) En concentraciones nanomolares se considera neuroprotector, y en concentraciones micromolares es citotóxico, además de que promueve la apoptosis activando la cascada de caspasas e incrementando la cantidad de especies reactivas de oxígeno (*Donato et. Al, 2006, Mark and Griffin, 2005*). Estos niveles extracelulares elevados suelen detectarse después de un traumatismo cerebral, o bien en desórdenes neurodegenerativos (por ejemplo, Síndrome de Down, Alzheimer o encefalomiелitis) (*Griffin et al, 206; Mark y Griffin, 2005*). La síntesis de la proteína S100B está finamente regulada y se conoce una diversidad de estímulos que activan su producción, como son el contacto celular, la hipoxia y la radiación UV, entre otros. Tanto los efectos tróficos (crecimiento de neuritas y supervivencia de neuronas durante el desarrollo y posterior a lesiones) como tóxicos de la S100B extracelular están regulados en el cerebro por el receptor RAGE (por sus siglas en inglés, Receptor for Advanced Glycation End Products). Extracelularmente, la S100B puede formar enlaces disulfuro requeridos para su actividad neurítica (*Selinfreund et al, 1001; Kiryushki et al, 2006*), pero no así para su actividad pro-inflamatoria (*Koppal et al, 2001*).

La hipótesis de que los astrocitos responden al daño cerebral con un aumento de la liberación de S100B proviene de la observación de concentraciones elevadas de S100B en sangre periférica tras un paro cardíaco (*Rosen et al, 1998*), un traumatismo craneal (*Rothoerl et al, 2000*)

o tras un ictus isquémico (*Buttner et al, 1997*).

Dentro del binomio corazón-cerebro, y dada la morbi/mortalidad en el ámbito cardiológico pediátrico, es necesario el desarrollo de marcadores bioquímicos que permitan la detección de factores predictores de daño neurológico postquirúrgico. Esto se debe a que a pesar de que en Institutos Nacionales de tercer nivel se logran resolver el 80% de los casos de manera satisfactoria, la literatura reporta un daño a nivel cerebral promedio de 7%. Esto sucede incluso a pesar de grandes avances como son los apoyos ventilatorios, las acciones oportunas, el uso de bombas extracorpóreas, y el desarrollo continuo de procedimientos de microfiltración; todo esto entendiendo los procesos inflamatorios como derivados y asociados a fenómenos de orden inmunológico, hematológico, e infectológico (*Kouchoukos et al, 2003*).

El 7% mencionado, derivado de procesos inflamatorios, es reportado como daño cerebral irreversible; y un 8% más se reporta como reversible, en tiempo que va de seis meses a un año después del evento, y que se traduce en anoxia-isquemia, y que es abordado de manera no invasiva, pero altamente costosa mediante un protocolo que incluye: estudios de laboratorio (gasometría); gabinete (ultrasonido transfontanelar, Tomografía computada de cráneo, evaluación metabólica mediante espectroscopía (*Brandao y Cortés, 2004*); así como herramientas de reciente uso, como son el SPECT con tecnecio 99 (medición de microcirculación), y CT-PET (marcaje en membranas mediante deoxiglucosa y fósforo 31). Sostener un

protocolo de abordaje como el mencionado difícilmente puede generar normatividad (incluso en institutos nacionales de salud) dado el costo en términos de infraestructura, técnicos y especialistas requeridos.

Por todo lo anterior, la proteína S100-B ha sido reportada como un indicador útil en la evaluación de la integridad cerebral. Jönson y cols. (2004) reportan su utilidad en la evaluación de déficit cognitivo post-cirugía cardíaca; asimismo, Delgado (2006) la menciona como marcador útil para detectar daño a la barrera hematoencefálica (*Rech et al, 2006*) y la describen como indicador de lesión neuronal después de paro cardíaco. También se han hecho intentos estratificadores en lesión craneal, empleando dicha proteína (*Raabe et al, 1998*), y se le ha vinculado a lesión cerebral, Alzheimer, esquizofrenia, síndrome de Down, y síndrome de Tourette, llegando a considerar la posibilidad de que se trata de la PCR del cerebro (*Sen y Belli, 2007*). También se pueden encontrar en la literatura modelos animales para estudiar el papel protector de la proteína S100B, asociándola a proteínas colinolíticas con efecto amnésico (*Gromov et al, 1990*) lo cual lleva a suponer que dicha proteína (identificado en la barrera hematoencefálica, en astrocitos) tiene un efecto inicial protector; y después de eventos anoxo-isquémicos e inflamatorios, su elevación provoca una quelación con alteración de la homeostasis del calcio intracelular, que promueve la apoptosis.

A lo largo de los años, y en diferentes patologías de los sistemas nervioso y cardiovascular, así como en el ámbito oncológico entre

otros, ha existido la inquietud por definir marcadores con el objetivo de proveer alertas respecto a la presencia, ausencia o complicación de fenómenos cuyo estudio de otra manera se vuelve hartamente complicado y costoso.

La proteína S100B puede ajustarse en el presupuesto de los países desarrollados así como en las naciones más pobres y se mide racionalmente con métodos de laboratorio sérico como la proteína C reactiva en los procesos inflamatorios. Jönson et al (2004) asociaron esta utilidad en las deficiencias cognitivas en pacientes operados de cirugía cardíaca (*Rech et al, 2006*), y sugieren que puede ser útil en la detección sérica de la disrupción de la barrera hematoencefálica.

La literatura actual no reporta claramente una correlación con los eventos clínicos neurológicos y los antecedentes personales. El objetivo de este estudio es realizar una adecuada correlación de los niveles en sangre de la proteína S100B con el riesgo neurológico en los pacientes pediátricos con cardiopatías congénitas que requieren de corrección con el uso de circulación extracorpórea.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A la fecha, no existen marcadores que, desde el punto de vista clínico, refleje el daño cerebral clínicamente silencioso en etapas muy iniciales en el desarrollo de eventos anoxo- isquémicos que ofrezcan la posibilidad no solo de detenerlo para evitar un mayor daño, sino que permita tomar decisiones acertadas para someter o no al paciente a una intervención quirúrgica.

JUSTIFICACION

La experiencia con individuos en edad pediátrica que padecen uno o más eventos anoxo-isquémicos generan trastornos migratorios neuronales secundarios en la corteza. Esto último nos obliga a buscar indicadores confiables de daño a la barrera hematoencefálica (astrocitos) y a la migración, como la proteína S100B, que pudieran ser detectados durante el o los momentos críticos, particularmente en aquellos eventos clínicamente silenciosos únicamente detectables por exámenes de laboratorio y gabinete, biopsias o anatomía patológica, y que permitan poder tomar decisiones de orden clínico y quirúrgicos pertinentes.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si es posible que el daño cerebral inicial provocado por eventos anoxo-isquémicos pueda ser detectado mediante la determinación de las concentraciones de la proteína S100B en el suero de los pacientes pediátricos con cardiopatía congénita sometidos a cirugía con bomba de circulación extracorpórea en forma más temprana.

HIPOTESIS NULA

La proteína S100B no tiene capacidad predictiva de los eventos anoxo-isquémicos clínicamente silenciosos (iniciales).

HIPOTESIS ALTERNA

La proteína S100B tiene capacidad predictiva de los eventos anoxo-isquémicos clínicamente silenciosos (iniciales).

MÉTODO

Diseño del estudio.

Diseñamos un estudio prospectivo que mida la concentración sérica de la proteína S100B en la población pediátrica con cardiopatía congénita que requieren de corrección quirúrgica con el uso de circulación extracorpórea en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Todos los pacientes enrolados al estudio contaron con autorización de los padres para la muestra sanguínea. La muestra sanguínea se obtuvo en 4 diferentes momentos durante la evolución:

T0 (preoperatorio)

T1 (6 horas postquirúrgicas)

T2 (24 horas postquirúrgicas)

T3 (56 horas postquirúrgicas).

Incluimos pacientes pediátricos con cardiopatías congénitas (desde neonatos a los 18 años de vida), programados para cirugía correctiva con circulación extracorpórea. Los criterios de exclusión fueron: cirugía de urgencia, reintervenciones, ausencia de muestras sanguíneas completas, falta de consentimiento de los padres.

Registramos historia clínica completa incluyendo historia perinatal, neurodesarrollo, eventos cardiológicos, neurológicos o sindromáticos. Adicionalmente, se realizó un seguimiento de la evolución perioperatoria

completa hasta el egreso hospitalario, con énfasis principal en la morbilidad neurológica y/o mortalidad.

Definimos *morbilidad neurológica* operatoria a lo siguiente: 1) evento neurológico clínico mayor (evento vascular cerebral trombótico o hemorrágico, signos de focalización, crisis convulsivas), 2) Evento neurológico clínico menor (isquemia cerebral transitoria, eventos de desorientación), 3) Paro cardiorrespiratorio, 4) Inestabilidad hemodinámica (>6 horas), 5) Sepsis, and 6) Patrones mixtos. La *mortalidad operatoria* se define como aquella que ocurre dentro de los primeros 30 días de la cirugía o durante el egreso hospitalario.

Los pacientes se dividieron en dos grupos: Grupo A) grupo problema; grupo B) grupo control. El grupo A presentó uno o más eventos de morbilidad neurológica operatoria, y el Grupo B no presentó ninguno de los anteriores.

Medición por laboratorio de la concentración sanguínea de la proteína S100B.

Se tomó una muestra de sangre (2.5mL) de cada paciente y se registró la hora de la toma. Las muestras se obtuvieron de todos los pacientes del estudio en el periodo preanestésico (T0) y en los distintos momentos después de su intervención quirúrgica (6 horas (T1), 24 horas (T2) y 56 horas (T3). Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente y se congela el suero a -70°C hasta ser analizado. La

concentración de S100B se determina por duplicado en cada paciente y cada control.

Las concentraciones de S100B se miden por medio de un análisis cuantitativo con ensayo con inmunofluorescencia ligada a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), empleando un equipo comercial disponible (BioVendor Laboratorni, Modrice, Republica Checa), el cual utiliza microplacas con pozos pre-cubiertos con anticuerpo anti-S100B de vaca.

Las muestras, los controles y los estándares se colocaron en los pozos correspondientes de la placa, seguido por la adición del anticuerpo detector de S100B. Finalmente, se agrega el sustrato enzimático. Se mide absorbencia a 450 nm.

Las concentraciones de S100B en las muestras de suero se determinaron empleando una curva estándar generada por la absorbencia del disolvente serial estándar. El límite del equipo de detección fue de 15 pg/ml. El análisis se corrió de acuerdo a las especificaciones de manufactura y el control de calidad dentro de las precisiones recomendadas para cada prueba.

Se midió Proteína C reactiva (PCR) de alta sensibilidad en el suero de todos los pacientes y controles empleando un análisis con láser nefelométrico (Sistema de Inmunoquímica Image, Beckman Coulter). El límite de detección fue de 0.06 mg/L.

Análisis estadístico.

Los datos fueron presentados como promedio y desviación estándar. Si los datos no contaban con distribución normal y/o fueron de nivel ordinal, se empleo la prueba de Kruscal-Wallis H seguida de la prueba Mann-Whitney U. En instancias de una comparación simple de promedios, la prueba de T-student para muestras independientes o la prueba Mann-Whitney U fueron realizadas. Las curvas ROC se construyeron para el T0 para S100B y PCR para determinar la especificidad y sensibilidad en cada caso así como el área bajo la curva ROC (ABC). Una ABC >0.5 significó que la muestra es informativa en el sentido que es mayor al clasificar objetos de una forma aleatorizada.

RESULTADOS

Incluimos a 30 pacientes en nuestro estudio, divididos en dos grupos: el grupo control (Grupo A) y el grupo problema (Grupo B), con 19 y 11 pacientes respectivamente.

La **Tabla 1** muestra los datos cuantitativos y la **Table 2** los datos cualitativos de ambos grupos. Debe hacerse notar que, excepto por la historia patológica y a clase funcional clínica (NYHA o la modificación de Ross de la NYHA), no hay diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, que indica que son completamente comparables.

La **Tabla 3** muestra la media y la mediana de los niveles séricos de S100B en ambos grupos de estudio en los distintos momentos de medición: T0 (prequirúrgico), T1 (56 horas postquirúrgicas), T2 (24 horas postquirúrgicas) y T3 (56 horas postquirúrgicas). Debido a la alta variabilidad en las concentraciones en la escala de pg/ml, la desviación estándar y el valor de moda no son posibles de obtener. Podemos ver que el valor promedio de los niveles séricos de S100B del grupo A fue de 309.2, 363.86, 500.11 y 280.36pg/ml para T0, T1, T2 y T3, respectivamente. El Grupo B mostró concentraciones séricas de S100 B de 486.77, 444.21, 820.13 y 418.98pg/ml, respectivamente.

Debe recalarse que los valores de media y mediana para ambos grupos fue el mismo. Aunque la tendencia de la curva para los valores de mediana fueron similares en ambos grupos, el Grupo B mostró mayor

concentración de S100B que el Grupo A en los 4 momentos de las mediciones (*Figura 1*).

La *Tabla 4* muestra una comparación estadística entre ambos grupos en los 4 momentos de medición (T0 a T4). Podemos observar que las concentraciones séricas de S100B mayores a 400pg/ml para T0 son estadísticamente significativas entre los grupos A y B ($p=0.0419$).

La *Tabla 5* muestra que el valor basal de S100B para T0 en el Grupo B es de 379pg/dl, y cuando se aumenta a 725pg/ml en el grupo A, la significancia aumenta 6 veces. La misma diferencia estadística se observa al hacer la comparación de ambos grupos con concentraciones séricas de S100B mayores a 1500pg/ml para T1 ($p=0.0504$) y mayores a 400pg/ml para T3 ($p=0.0225$). No hay diferencia significativa para ambos grupos en cualquier valor en T2.

Estos resultados nos llevan a enfatizar en T0, ya que es el momento más temprano, y su valor es el mejor para medir el riesgo cerebral anoxo-isquémico prequirúrgico. La *Tabla 6* muestra la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos para todos los valores con significancia estadística para ambos grupos de estudio. Es importante notar que la conducta predictiva se establece para T0 al indicarnos sensibilidad de 55% y especificidad de 84%, aportando un valor predictivo positivo de 75% y negativo de 76%.

Comparativamente el comportamiento de la curva de mediana para los valores séricos de la proteína C reactiva (PCR) (*Figura 2*) son distintos a los

observados para la proteína S100B. Podemos apreciar una clara tendencia de elevación de las concentraciones de PCR más lenta que para S100B, sin diferencia significativa entre los grupos de estudio en los mismos momentos de medición.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los datos expuestos, podemos claramente notar que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo problema en cuanto en su historia patológica neurológica y la clase funcional preoperatoria valorada por NYHA y su modificación por Ross para cardiopatías congénitas. Esto nos indica que a pesar de contar con condiciones asintomáticas o subclínicas, los pacientes en el grupo problema contaron con más factores de daño neurológico ligados con su evolución previa a la cirugía.

La historia neurológica y los factores cardiovasculares previamente descritos, producen cierto grado de daño neurológico, probablemente a nivel de la barrera hematoencefálica, que puede evidenciarse con los valores promedio de las concentraciones séricas de S100B antes del procedimiento quirúrgico, que como se planteó previamente, se elevan cuando existe daño anoxo-isquémico a este nivel.

Si bien, como se mencionó previamente, la proteína en estudio también se encuentra en los cardiomiocitos, y la afección cardiovascular puede elevar su concentración sérica por sí misma, encontramos significancia con los niveles séricos y la evolución clínica, lo cual puede explicarse por eventos de hipoperfusión generalizada por disfunción miocárdica, secundariamente condicionando hipoxia de la barrera hematoencefálica. Observamos este comportamiento ante el deterioro de la

clase funcional. Sabemos que a mayores concentraciones de la proteína S100B, mayor el efecto citotóxico de la misma, por lo que podemos concluir que el daño inmunológico de la barrera hematoencefálica producido por este mecanismo aumenta el riesgo de morbilidad neurológica.

Evidenciado por los resultados, la mayor diferencia significativa entre los valores séricos de la proteína S100B del grupo problema y el grupo control, la encontramos con un valor de 379pg/ml en nuestra población. Proponemos que este valor sérico en T0 es el valor de referencia que se encuentra directamente relacionado con la morbilidad neurológica, y se convierta en un marcador sérico previo a la cirugía. Podría interpretarse como un factor de riesgo para la morbilidad neurológica en los pacientes pediátricos con cardiopatías congénitas que requieren de procedimiento quirúrgico con bomba de circulación extracorpórea.

Adicionalmente, observamos también que la concentración de S100B en T0 de 725pg/ml aumenta 6 veces el riesgo de daño neurológico operatorio. Esto puede sugerirnos la posibilidad de daño exponencial, dándose por entendido que a mayor concentración, mayor el efecto citotóxico, y por tanto mayor daño a la barrera hematoencefálica. Hacen falta más estudios que determinen una relación cuantitativa entre los niveles séricos y la frecuencia de eventos neurológicos que presenten los pacientes, y poder así confirmar la hipótesis de una relación directamente proporcional y exponencial entre ambos.

La proteína C reactiva considerada un reactante de fase aguda, se eleva ante eventos inflamatorios de diversa índole, incluyendo eventos reumatológicos, infecciosos y/o oncológicos. Sin embargo, en este caso no se muestra diferencia significativa entre ambos grupos y tampoco ante los niveles séricos de S100B, en relación a los eventos de hipoxia y falla ventricular. Esto pudiera sugerirnos un probable efecto citotóxico no inflamatorio de la barrera hematoencefálica por parte de la proteína S100B, razón por la cual el paciente se mantiene asintomático previo al evento quirúrgico. Este daño se manifiesta posterior a la cirugía, cuando se presenta el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica secundaria a la bomba extracorpórea, y entonces se condicionen los síntomas neurológicos previamente descritos.

Con el fin de confirmar la sospecha del daño citotóxico no inflamatorio, probablemente mediado por apoptosis, se requieren de mayores estudios que nos determinen la existencia o ausencia de inflamación localizada de la barrera hematoencefálica, lo cual pudiera realizarse por medio de estudios de imagen (resonancia magnética nuclear, SPECT, entre otros) e inclusive biopsia de tejido neuronal. Sin embargo, con la evidencia aquí presentada, proponemos una teoría sobre la fisiopatología del daño neurológico mediado por la proteína S100B no inflamatorio y probablemente mediado por apoptosis.

En cuanto a la edad de los pacientes, observamos que el grupo problema tiene menor edad en promedio comparado con el grupo control,

lo cual a pesar de no mostrar significancia estadística puede también considerarse factor de riesgo para la morbilidad neurológica. Se aprecia una tendencia similar con la valoración prequirúrgica, tanto con la escala de RASCH-1 como Aristóteles; aquí se observa en valores absolutos que a mayor riesgo quirúrgico, mayor es la incidencia de morbilidad neurológica. Todas estas variables no muestran significancia estadística, sin embargo quizá al aumentar el tamaño de muestra poblacional pudiéramos mejorar la significancia estadística y potencialmente considerarlos factores de riesgo.

Nuestro estudio tiene una muestra poblacional pequeña; aumentar el número de sujetos pudiera aumentar los resultados significativos con el fin de establecer más factores de riesgo asociados con morbilidad neurológica. Todos los mencionados anteriormente, son factores clínicos. Sin embargo, en cuanto a pruebas de laboratorio accesibles para distintos hospitales, la determinación de proteína S100B se demuestra un parámetro confiable como predictor de daño neurológico en pacientes con cardiopatías congénitas sometidos a corrección quirúrgica con bomba de circulación extracorpórea. Es importante recalcar que ante los valores propuestos para el estudio, la concentración sérica de la proteína S100B muestra una sensibilidad del 55% y una especificidad de 84%, con valor predictivo positivo de 75% y negativo de 76% en relación a la morbilidad neurológica, cifras que convierten a la prueba en una prueba de mucha utilidad en la práctica médica y útil para la toma de decisiones terapéuticas.

CONCLUSIONES

En este estudio se evidencia una relación importante prequirúrgica de la concentración sérica de la proteína S100B con la incidencia de morbilidad neurológica. Proponemos también una teoría fisiopatológica del mecanismo de acción de la enolasa para producir daño de la barrera hematoencefálica por efecto citotóxico no inflamatorio.

La muestra poblacional nos arroja diferencias significativas ante la patología neurológica previa y el deterioro de la clase funcional. Sin embargo, contamos con una muestra poblacional pequeña, que pudiera ampliar y confirmar los hallazgos al aumentar el número de sujetos al estudio.

Se requiere de mayores estudios y mayor muestra poblacional para determinar si los hallazgos parciales de este estudio pudieran también correlacionarse de forma significativa con la morbilidad neurológica y los niveles séricos de proteína S100B, como son la edad del paciente y su valoración del riesgo quirúrgico (RASCH-1 y Aristóteles).

REFERENCIAS

1. Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *FrontBiosci*. 2002 May 1;7:d1356-68. Review.
2. Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc Res Tech*. 2003 Apr 15;60(6):540-51. Review.
3. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Oct 1;322(4):1111-22. Review.
4. Nishiyama H, Knopfel T, Endo S, Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Mar 19;99(6):4037-42. Epub 2002 Mar 12.
5. Davey GE, Murmann P, Heizmann CW. Intracellular Ca²⁺ and Zn²⁺ levels regulate the alternative cell density-dependent secretion of S100B in human glioblastoma cells. *J Biol Chem*. 2001 Aug 17;276(33):30819-26. Epub 2001 Jun 11.
6. Selinfreund RH, Barger SW, Welsh MJ, Van Eldik LJ. Antisense inhibition of glial S100beta production results in alterations in cell morphology, cytoskeletal organization, and cell proliferation. *J Cell Biol*. 1990 Nov;111(5 Pt 1):2021-8.
7. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-

- hand type with intracellular and extracellular functional roles. Int J Biochem Cell Biol. 2001 Jul;33(7):637-68. Review.
8. Huttunen HJ, Kuja-Panula J, Sorci G, Agneletti AL, Donato R, Rauvala H. Co-regulation of neurite outgrowth and cell survival by amphotericin B and S100 proteins through receptor for advanced glycation end products (RAGE) activation. J Biol Chem. 2000 Dec 22;275(51):40096-105.
9. Businaro R, Leone S, Fabrizi C, Sorci G, Donato R, Lauro GM, Fumagalli L. S100B protects LAN-5 neuroblastoma cells against Abeta amyloid-induced neurotoxicity via RAGE engagement at low doses but increases Abeta amyloid neurotoxicity at high doses. J Neurosci Res. 2006 Apr;83(5):897-906.
10. Griffin WS. Inflammation and neurodegenerative diseases. Am J Clin Nutr. 2006 Feb;83(2):470S-474S. Review.
11. Mrak RE, Griffin WS. Potential inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2005;8(4):369-75. Review.
12. Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y, Avila C, Kambham N, Bierhaus A, Nawroth P, Neurath MF, Slattery T, Beach D, McClary J, Nagashima M, Morser J, Stern D, Schmidt AM. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. 1999. *Cell* 97: 889-901
13. Selinfreund RH, Barger SW, Pledger WJ, Van Eldik LJ. Neurotrophic protein S100 beta stimulates glial cell proliferation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 May 1;88(9):3554-8

14. Koppal T, Lam AG, Guo L, Van Eldik LJ. S100B proteins that lack one or both cysteine residues can induce inflammatory responses in astrocytes and microglia. Neurochem Int. 2001 Nov-Dec;39(5-6):401-7.
15. Rosen H, Rosengren L, Herlitz J, Blomstrand C. Increased serum levels of the S-100 protein are associated with hypoxic brain damage after cardiac arrest. Stroke. 1998 Feb;29(2):473-7.
16. Rothoerl RD, Woertgen C, Brawanski A. S-100 serum levels and outcome after severe head injury. Acta Neurochir Suppl. 2000;76:97-100.
17. Buttner T, Weyers S, Postert T, Sprengelmeyer R, Kuhn W. S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infraction. Stroke. 1997 Oct;28(10):1961-5.
18. Kouchoukos Nicholas y Cols. Kirclin-Barrat-Boyes Cardiac Surgery. 2003. 3a Edición, Chruchill Livingstone.
19. Brandao L, Cortes R. Espectroscopia de prótons do encéfalo. Revinter: 2002. Brasil.
20. Jönson H, Johnsson P, Bäckstrom M, Alling C, Dautovic C, Blomquist S. Controversial significance of early S100B levels after cardiac surgery. BMC Neurol, 2004; 4(24).
21. Delgado P. Marcadores biológicos tras la hemorragia intracerebral y su relación con la evolución clínico-radiológica. Tesis doctoral de la Universidad Autónoma de Barcelona. España: 2006.
22. Rech T, Ríos S, Nagel F, Salles J, Scalco R. Suero de neuronas específicas de enolasa tan pronto predictor de los resultados después en el

- hospital de paro cardíaco: un estudio de cohortes. Critical Care, 2006; 10(5).
23. Raabe A, Menon D, Gupta S, Czosnyka M, Pickard J. Jugular venous and arterial concentrations of serum S-100B protein in patients with severe head injury: a pilot study. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1998; 65.
24. Sen J, Belli A. S100B in neuropathologic states: The CRP of the brain? J Neuroscience Research, 2007; 85(7).
25. Gromov L, Syrovatskaya L, Ovinova G. Functional role of the neurospecific S100B protein in the processes of memory. Neuroscience and Behavioral Physiology, 1990; 22(1).

TABLAS

Variable	Grupo Control (n=19)	Grupo Problema (n=11)	p
Edad <2 años (a)	5.2±4.9 a Media=3a, Moda=7 ^a	2.2±3.1 Media=1.3a, Moda=NC	0.1424
Peso <8.5kg	15.4±13.7kg Media=8.7kg, Moda=8kg	10.6±8.9kg Media=8.6kg, Moda=NC	1.000
Talla <70cm	92±28.6cm Media=78cm, Moda=70cm	81±39cm Media=79cm, Moda=NC	0.2379
ASC <0.4 m²	0.6±0.4 m ² Media=0.4m ² , Moda=NC	0.5±0.3 m ² Media=0.4m ² , Moda=NC	1.0000
RASCH-1 prequirúrgico >3	2.5±0.6 Media=3, Moda=3	3.2±0.6 Media=3, Moda=3	0.1395
Aristóteles Básico preoquirúrgico >9	7.9±1.4 Media=8.5, Moda=9	10±2 Media=10, Moda=8	0.1424
Aristóteles Completo preoquirúrgico >10	8.8±1.7 Media=9, Moda=10	11±2 Media=11, Moda=10	0.2595

Tabla 1. Datos cuantitativos para ambos grupos. ASC=Área de superficie corporal, NC=No calculable

Variable	Grupo Control (n=19)	Grupo Problema (n=11)	p
Sexo masculino	6 (31.6%)	6 (54.5%)	0.2663
Historia quirúrgica o intervencionista	13 (73.7%)	6 (54.5%)	0.6956
Historia patológica	9 (47.4%)	11 (100%)	0.0201
Historia sindromática	5 (26.3%)	1 (9%)	0.3717
Déficit del neurodesarrollo	5 (26.3%)	2 (18.2%)	0.6859
Clase funcional prequirúrgica III o IV	3 (15.8%)	6 (54.5%)	0.0419
Cardiopatía congénita cianógena	7 (31.6%)	4 (36.4%)	1.000

Tabla 2. Datos cualitativos para ambos grupos de estudio

N°	Grupo	T0 - [] S100B (pg/ml)	T1 - [] S100B (pg/ml)	T2 - [] S100B (pg/ml)	T3 - [] S100B (pg/ml)
1	GRUPO A (Control)	129	NM	NM	NM
2		153	226	144	168
3		186	334	216	188
4		209	NM	NM	NM
5		222	204	168	233
6		222	439	360	NM
7		227	214	220	202
8		245	523	6683	76
9		275	364	1108	160
10		309	309	2631	634
11		313	774	516	325
12		316	343	299	326
13		364	198	498	280
14		377	1304	293	181
15		384	776	554	366
16		396	381	502	354
17		504	713	841	374
18		724	244	NM	299
19		1410	1014	2307	NM
Media		366.61	491.84	1083.67	277.75
Mediana		309.27	363.86	500.11	280.36
N°	Grupo	T0 - [] S100B (pg/ml)	T1 - [] S100B (pg/ml)	T2 - [] S100B (pg/ml)	T3 - [] S100B (pg/ml)
1	GRUPO B (Problema)	24	45	2642	38
2		179	342	174	138
3		379	444	723	501
4		395	4616	190	188
5		396	359	333	285
6		487	1040	762	455
7		701	292	NM	NM
8		747	324	894	383
9		861	671	878	779
10		1958	4660	2193	1402
11		6539	6823	4465	5798
Media		1151.53	1783.19	1325.41	996.77
Mediana		486.77	444.21	820.13	418.98

Tabla 3. Valores séricos de media y mediana de proteína S100B de T0 a T3 para ambos grupos de estudio NM= no medido

Tiempo	Concentración sérica de S100B	Número total (n), n (Grupo A), n (Grupo B)	Grupo A (Control)	Grupo B (Problema)	p (Prueba Bilateral Fisher exact)	Intervalo de confianza
T0	> 400 pg/ml	Total = 30, Grupo A = 19, Grupo B = 11	3	6	0.0419	95%
T1	> 1500 pg/ml	Total = 29, Grupo A = 17, Grupo B = 12	0	3	0.0504	95%
T2	> 1500 pg/ml	Total = 26, Grupo A = 16, Grupo B = 10	3	3	0.6433	95%
T3	> 400 pg/ml	Total = 25, Grupo A = 15, Grupo B = 10	1	5	0.0225	95%

Tabla 4. Comparación estadística entre ambos grupos de estudio

Tiempo	Concentración sérica de S100B	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
T0	> 400 pg/ml	55%	84%	75%	76%
T1	> 1500 pg/ml	27%	100%	38%	68%
T3	> 400 pg/ml	50%	93%	83%	74%

Tabla 6. Sensibilidad, Especificidad, valores predictivos positivos y negativos para los momentos estadísticamente significativos en ambos grupos de estudio

FIGURAS

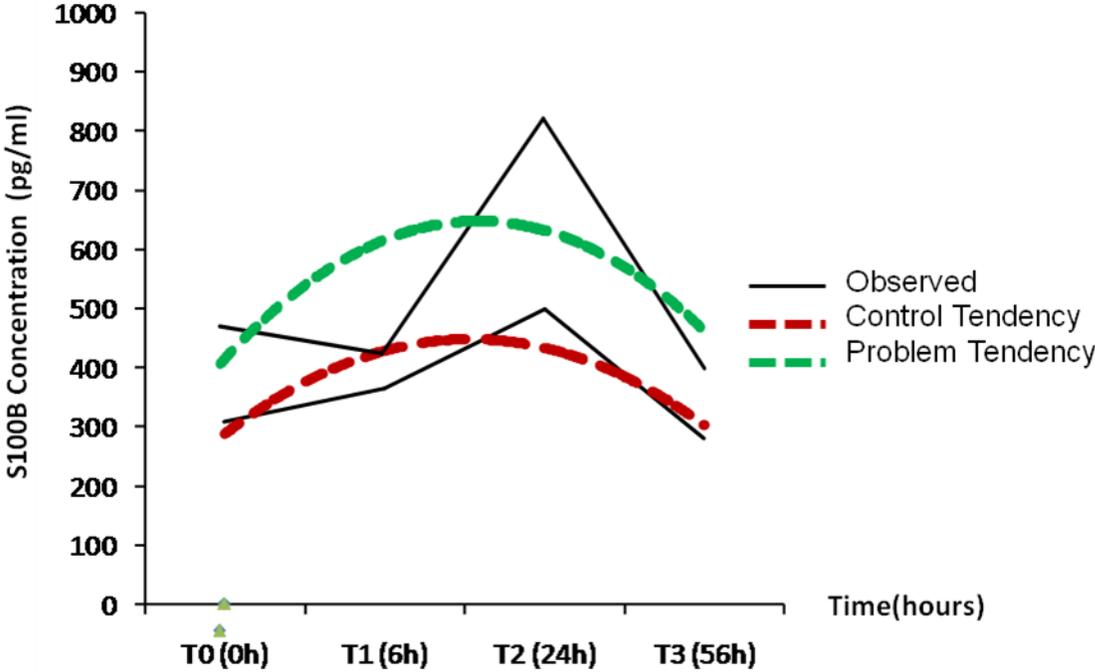


Figura 1. Comparación entre las curvas de tendencia de la mediana de los alores séricos de S100B para ambos grupos e estudio

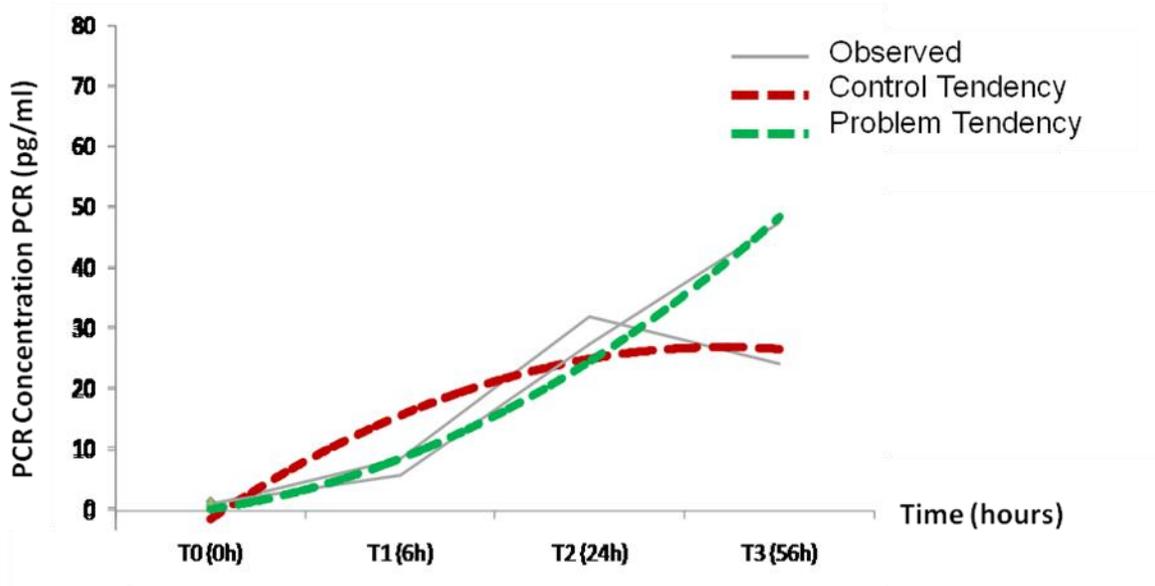


Figura 2. Comparación entre las tendencias de curva de mediana para valores séricos de PCR para ambos grupos de estudio