

**Tesis
Doctoral**

**Inflamación y daño endotelial en
cirugía coronaria**

**Inflammation and endothelial
damage in coronary surgery**

Diana M. Valencia Núñez

Córdoba, 2018

TITULO: *INFLAMACIÓN Y DAÑO ENDOTELIAL EN CIRUGÍA CORONARIA*

AUTOR: *Diana M. Valencia Núñez*

© Edita: UCOPress. 2019
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es

INFLAMACIÓN Y DAÑO ENDOTELIAL CIRUGÍA CORONARIA

INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DAMAGE IN CORONARY SURGERY

DIANA M. VALENCIA NÚÑEZ

CORDOBA, 2018



Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria



INFLAMACION Y DAÑO ENDOTELIAL EN CIRUGIA CORONARIA

INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DAMAGE IN CORONARY SURGERY

HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA DE CÓRDOBA/
IMIBIC

HERZZENTRUM LEIPZIG

Programa de Biomedicina

Línea de Investigación de Insuficiencia Renal Crónica.

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Memoria de Tesis presentada por D^a Diana M. Valencia Núñez.
Licenciada en Medicina y cirugía, para optar al grado de Doctor
con Mención Internacional.

Director: Julia Carracedo Añon

Córdoba, 2018



TÍTULO DE LA TESIS: INFLAMACION Y DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES INTERVENIDOS DE CIRUGIA CORONARIA

DOCTORANDO/A: DIANA MARISOL VALENCIA NÚÑEZ

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El trabajo de investigación que se presenta, es un estudio original que ha permitido avanzar en el conocimiento de los efectos de la cirugía para la revascularización coronaria sobre subpoblaciones de monocitos, especialmente los relacionados con riesgo cardiovascular, y sobre la inducción de daño y la capacidad de reparación endotelial.

La tesis presentada por la doctoranda incluye los resultados obtenidos durante su periodo de formación, parte de los cuales han sido publicados en la revista "*Heart and Vessels, 2017*". A nuestro criterio, el trabajo de tesis presentado cumple con la estructura y los indicios de calidad requeridos por la normativa vigente y muestra una correcta correspondencia entre los objetivos planteados y los resultados obtenidos.

Cabe destacar la formación técnica y científica alcanzada por la doctoranda en estos años. El período de tiempo que ha transcurrido para la ejecución del trabajo, le ha permitido adquirir conocimientos teóricos y metodológicos que la capacitan y confieren una preparación y madurez en investigación suficientes para desarrollar sus propias hipótesis y participar en la redacción y coordinación de nuevos proyectos y artículos científicos, iniciando una nueva etapa que continuará a la consecución del grado de doctor.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 16 de mayo de 2018

Firma del/de los director/es

Fdo.: Julia Carracedo Añón

**TÍTULO DE LA TESIS:**

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

DOCTORANDO/A:

Diana Valencia Núñez

ESCRITO RAZONADO DEL RESPONSABLE DE LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

(Ratificando el informe favorable del director. Sólo cuando el director no pertenezca a la Universidad de Córdoba).

Revisado el manuscrito, objeto de la Tesis de referencia, que me parece muy adecuado y pertinente para el tema de investigación que se ha desarrollado. En efecto sus conclusiones aportan valiosos y relevantes datos para conocer el proceso inflamatorio de estos enfermos y su impacto en el manejo clínico de los mismos.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral

Córdoba 12__ de _Junio__ de __2018

Firma del responsable de línea de investigación

Fdo.: __Prof. Pedro Aljama

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Ramírez Chamond y la Dra. Julia Carracedo Añón por la confianza puesta en mí, el apoyo constante, la paciencia y el optimismo que me han brindado en todos estos años a pesar de las dificultades.

Dr Ignacio Muñoz Carvajal por el apoyo y por la ayuda durante todo el proceso del trabajo, por .

Al Profesor Dr Friederich Mohr, al Profesor Dr Martin Misfeld, al Profesor Dr Michael Borger y al Dr David Holzhey por toda la ayuda para la presentación de este trabajo y permitirme formar parte del grupo de Herzzentrum Leipzig

Dr Pedro Alados Arboledas por haberme impulsado y ayudado en el inicio y desarrollo de este trabajo.

Al Dr Antonio Chacón y Dr Javier Moya por su amistad, apoyo y optimismo necesario para el desarrollo de éste trabajo.

A Noelia y muy especialmente a M. Carmen Romero por siempre estar para ayudarme en todo lo que necesitara y mucho más.

A mis compañeros de residencia Pasquale Maiorano, Juan Otero y María Teresa Conejero por su colaboración e implicación en esta investigación.

A mis compañeros del servicio del Hospital Reina Sofía, Dr Carlos Merino, Manuel Román, Miguel Ángel García-Jimenez, Jaime Casares, el grupo de perfusión Aurea Jurado, Bibian Ortega, José Luis Medina y José Cabezas , enfermería de quirófano Juana Garcia, Miguel Zamorano, María Ángeles de La Torre, María Luisa Baena, por su interés y ayuda constante.

A mis residentes, Daniela Hervás, Isabel Pernia, Javier Arias, Azahara Fernández y José Ma Turegano por su compañerismo y ánimo.

Al servicio de anestesiología especialmente M. Valle Blázquez, Agustina Jiménez, Carmen García, Antonio Galán y Miguel Osuna por su colaboración.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Al Dr Rafael Guerrero, Francisco Dios y Eva Torres y el grupo de enfermería de la Unidad de Cuidados Intensivos por su gran ayuda y optimismo para el desarrollo de este trabajo.

A las enfermeras de la planta de hospitalización por su amistad, optimismo y ayuda constante especialmente en los momentos difíciles.

Muchas gracias a Andrés Carmona y Ana Merino y a todos los técnicos de laboratorio de la Unidad de Inflamación e Insuficiencia Renal Crónica del IMIBIC en especial María José

Jimenez, por su tiempo, paciencia y por que sin ellos no hubiera sido posible realizar este trabajo

A mis padres(Amilcar y Rafaela) por su apoyo incondicional, por su ayuda para que todos los cambios se hagan mas llevaderos, su infinito amor y porque me lo dan todo, sin pedirme nada a cambio.

A mis hermanos (Angélica , Amilcar y Janeth) por su eterno apoyo y su animo en los momentos difíciles.

A Willy por toda su ayuda, paciencia, apoyo y confianza y a mis hijos (Mark, Stephan, Allyson) por todo el tiempo robado, porque con sus risas me alegran cada día y me dan fuerza para continuar.

LISTADO DE ABREVIATURAS:

- ✚ **ACE:** Enzima convertidora de angiotensina
- ✚ **ACT:** Tiempo de coagulación activado
- ✚ **BMI:** Body Mass Index
- ✚ **CABG :** Bypass aorto- coronario
- ✚ **CAD:** Enfermedad Coronaria.
- ✚ **CEC:** Circulación Extracorpórea.
- ✚ **CMIA:** Inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas.
- ✚ **cMSC:** Célula estromal mesenquimal cardiaca.
- ✚ **COPD.** Chronic obstructive pulmonary disease
- ✚ **CPB:** Bypass cardiopulmonar.
- ✚ **CPK :** creatina fosfoquinasa / Creatinphokinase
- ✚ **CPK MB :** Creatina fosfoquinasa sérica fracción MB .
- ✚ **CRP :** C- Reactive protein.
- ✚ **Dap.** Arteria descendente posterior proximal.
- ✚ **ECG:** Electrocardiograma.
- ✚ **ELFA:** Técnica de inmunofluorescencia.
- ✚ **EPCs:** Células progenitoras endoteliales
- ✚ **EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
- ✚ **ETE:** Ecocardiografía transesofágica.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

- ✚ **FC:** Frecuencia cardiaca
- ✚ **FITC:** Fluoresceína isotiocianato
- ✚ **HDL:** lipoproteínas de alta densidad
- ✚ **hiPSC:** Célula madre pluripotencial del humano
- ✚ **HTA:** Hipertensión arterial
- ✚ **HPB:** high blood pressure.
- ✚ **IFN- γ :** Interferón- γ
- ✚ **IL-1:** interleuquina-1.
- ✚ **IL-10:** interleuquina-10
- ✚ **IMC:** Índice de masa corporal.
- ✚ **IQR:** Rango intercuartil.
- ✚ **LDL-C:** lipoproteínas de baja densidad.
- ✚ **MFI :** Señales de fluorescencia.
- ✚ **MV:** Microvesícula
- ✚ **MVs:** Microvesículas Endoteliales.
- ✚ **NAC :** N- acetilcisteína
- ✚ **NO:** óxido nítrico
- ✚ **ONCAB:** Cirugía coronaria con circulación extracorpórea
- ✚ **PBMCs:** Células mononucleares en sangre periférica
- ✚ **PCI.** Intervención percutánea.
- ✚ **PCR:** Proteína C Reactiva
- ✚ **PCT:** Procalcitonina.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

- ✚ **PE:** Ficoeritrina
- ✚ **PerCP:** Peridina clorofilproteína
- ✚ **PMNs:** Células polimorfonucleares
- ✚ **PVC:** Presión venosa central
- ✚ **RIC:** Rango Intercuartil
- ✚ **SaO₂:** Saturación arterial de oxígeno
- ✚ **SC** Superficie Corporal
- ✚ **SD:** Desviación estandar
- ✚ **SIRS :** Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
- ✚ **SPSS:** Programa estadístico
- ✚ **SS:** score SYNTAX.
- ✚ **STEMI.** ST-elevation myocardial infarction
- ✚ **T1:** Tiempo 1 previo a la intervención
- ✚ **T2:** Tiempo 2, 15 minutos después del desclampaje aórtico o en pacientes sin isquemia, 15 minutos después de realizar bypass a Arteria descendente anterior.
- ✚ **T3:** Tiempo 3 a las 4 horas post- intervención
- ✚ **T4:** Tiempo 4 a las 24 horas post- intervención
- ✚ **T5.** Tiempo 5 a las 48 horas post- intervención
- ✚ **T^a Periférica:** Temperatura periférica
- ✚ **TAD:** Tensión arterial diastólica
- ✚ **TAM:** Tensión Arterial media .
- ✚ **TAS:** Tensión arterial sistólica
- ✚ **TGF- β :** Factor de crecimiento – β

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

- ✚ **TNF- α** : Factor de necrosis tumoral $-\alpha$.
- ✚ **TnIc**: Troponina I cardiaca.
- ✚ **VALV**: Valvular
- ✚ **VCAM-1**: molécula de adhesión celular vascular -1
- ✚ **VV**: Vasos



INDICE

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Índice

Introducción

1. Enfermedad Coronaria y Cirugía de Revascularización Miocárdica.	
1.1. Enfermedad coronaria aterosclerótica	29
1.2 Isquemia- reperfusión y protección miocárdica	30
1.2.1 Isquemia del miocardio	31
1.2.2 Lesión por reperfusión.	32
1.2.3 Protección miocárdica.	34
1.2.4 Técnicas de protección miocárdica	35
1.3. Revascularización miocárdica quirúrgica	36
1.3.1 Escala de estratificación de riesgo	41
1.4 Reemplazo de válvula cardiaca	43
2. Endotelio vascular.	
2.1 Endotelio en la inflamación	45
2.1.1. Aterosclerosis	46

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

2.1.2.	Marcadores bioquímicos inflamatorios	48
2.1.3	Marcadores bioquímicos en diagnóstico de IAM	51
3.	Inflamación como mecanismo del daño endotelial	
3.1	Monocitos y subpoblaciones de Monocitos	54
3.2	Marcadores de daño endotelial	56
3.3	Marcadores de regeneración endotelial	58
	Justificación	61
	Objetivos	65
	Objectives	69
	Materiales y métodos	
1.	Sujetos de estudio	73
1.1	Selección de pacientes	75
1.2	Diseño del estudio y obtención de muestras	77
1.3	Parámetros clínicos	80
1.4	Anestesia y técnica quirúrgica	90

2.	Métodos	96
2.1	Aparatos, materiales de quirófano	96
2.2	Aparatos, materiales de laboratorio y reactivos	96
2.3	Determinación de parámetros de laboratorios	97
2.4	Determinación de subpoblación de monocitos en Sangre periférica	99
2.5	Determinación de células progenitoras Endoteliales (EPCs)	102
2.6	Determinación de <i>MVs</i> (<i>CD31 / anexina V</i>) en plasma.	102
3.	Variables estudiadas	103
3.1	Variables hemodinámicas	103
3.2	Variables de laboratorio	103
3.3	Subpoblaciones de monocitos	104
3.4	Determinación de células endoteliales	104
3.5	Determinación de micropartículas	104

4.	Análisis Estadístico	105
4.1.	Estudio transversal descriptivo	105
4.2.	Estudio longitudinal prospectivo	105

Resultados

1.	Características de los pacientes	109
2.	Marcadores bioquímicos	112
3.	Monocitos	116
3.1.1	Correlación entre población de monocitos	123
3.1.2	Correlaciones bivariadas monocitos con Marcadores Bioquímicos.	125
4.	Cambios en EPCs en los pacientes sometidos a cirugía coronaria.	125
5.	Concentración de MVs en los pacientes con cirugía Coronaria	128
6.	Correlación entre EPCs y MVs en los diferentes tiempos	131
7.	Correlaciones bivariadas EPCs y MVs con marcadores Bioquímicos	131

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Results

1. Patient characteristics	135
2. Biochemical markers	138
3. Monocytes	142
3.1.1 Correlation between monocyte populations	150
3.1.2 Bivariate Correlations of biochemical markers monocytes	151
4. Endothelial Progenitor Cells (VEGFR2 / CD133 / CD34) in patients undergoing coronary artery surgery.	152
5. Endothelial microvesicles (MVs) CD31 / Annexin V in patients undergoing coronary artery surgery.	155
6. Correlation between EPCs and MVs in different times.	158
7. Correlate Bivariate EPCs MV with biochemical markers.	159
Discusión	161
Discussion	179

Conclusiones	195
Conclusions	199
Bibliografía	205
Anexos	
Anexo 1. Consentimiento informado del paciente protocolo de pacientes	237
Anexo 2. Consentimiento informado Cirugía Revascularización coronaria	241
Anexo 3. Consentimiento informado Cirugía Valvular	249
Anexo 4. Hoja de recogida de datos	257
Apéndices sobre la actividad científica relacionada con la tesis doctoral- publicaciones.	
Anexo 5: Artículo 1	259
Anexo 6. Artículos escritos durante estudio de Doctorado.	267
Anexo 7: Premios de estudios realizados durante estudio de Doctorado.	273
Anexo 8. Informe de estancia en Herzzentrum Leipzig – Alemania	275

INTRODUCCION

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Introducción

1. ENFERMEDAD CORONARIA Y CIRUGIA DE REVASCULARIZACION MIOCARDICA.

1.1 ENFERMEDAD CORONARIA ATEROESCLEROTICA

La enfermedad de arteria coronaria aterosclerótica es el tipo más común de enfermedad cardiovascular y una de las principales causas de muerte en países industrializados¹. Es una enfermedad de la intima de las arterias, crónica, progresiva y multifocal y está limitada a los vasos epicárdicos de grande y mediano calibre; la obstrucción distal severa los vasos de pequeño calibre tiende a ocurrir en corazones con enfermedad severa proximal o en pacientes diabéticos.

Los factores de riesgo coronario son condiciones que incrementan la susceptibilidad de la persona a la morbilidad y mortalidad por aterosclerosis en las arterias coronarias, lo más conocidos son: La dislipemia (hipercolesterolemia en especial con lipoproteínas de baja densidad (LDL) e hipertrigliceridemia), un bajo nivel de lipoproteínas de alta densidad (HDL), la hipertensión arterial (sistólica y diastólica), el tabaquismo, la diabetes mellitus y la resistencia a la insulina, el sedentarismo, la obesidad (índice de masa corporal ≥ 35), el estrés emocional, el

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

hipoestrogenismo en mujeres, el nivel alto de homocisteína, nivel de fibrinógeno y la lipoproteína A.

La irrigación del corazón está a cargo de las dos primeras ramas de la aorta, las arterias coronarias que nacen de los senos de Valsalva, inmediatamente por encima del plano valvular aórtico, esta localización permite que en condiciones normales no exista limitación para la transmisión del flujo y la presión generada por el ventrículo izquierdo. La circulación coronaria es la encargada de generar la presión arterial necesaria para perfundir la circulación sistémica al mismo tiempo que la fase sistólica del ciclo cardíaco impide su propia perfusión, por esta estrecha conexión entre la contracción del miocardio, el flujo coronario y el aporte de oxígeno, el equilibrio entre la demanda y el aporte de oxígeno es un elemento primordial para la función normal del corazón. Cuando se afecta el flujo sanguíneo coronario se altera esta relación y este desequilibrio provoca hipotensión que a su vez, aumenta la isquemia miocárdica².

La revascularización coronaria es uno de los tratamientos más importantes en pacientes con enfermedad coronaria severa, y la realización de bypass coronario en pacientes presenta beneficios muy importantes, mejorando la calidad y las expectativas de vida³.

1.2. ISQUEMIA- REPERFUSION Y PROTECCION MIOCARDICA

La protección miocárdica en cirugía cardíaca intenta mantener la viabilidad de los miocitos durante el tiempo en que la aorta permanece clampada y el corazón parado, disminuyendo el daño que se produce con la reperfusión, restaurando los procesos bioquímicos y energéticos que se han reducido en ese periodo. El miocardio es totalmente dependiente del metabolismo aeróbico y necesita la suficiente energía para mantener sus estructuras y una actividad continua

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

contráctil. La isquemia se produce cuando la demanda de oxígeno en el músculo cardíaco supera el aporte.

La necesidad de proteger al miocardio del daño perioperatorio isquémico se planteó por primera vez en 1954 cuando John Gibbon⁴ realizó el primer cierre de comunicación interauricular con circulación extracorpórea, iniciando la era del bypass cardíaco. La introducción de la circulación extracorpórea (CEC), permitió inicialmente la reparación de simples defectos cardíacos y posteriormente de defectos más complejos. Durante la historia de la cirugía cardíaca encontramos diversos métodos de protección del corazón, desde la oclusión aórtica intermitente, hasta periodos más largos de clampaje aórtico para aislar el corazón de la circulación sistémica, con parada cardíaca electroquímica y enfriamiento eficiente del miocardio. Sin embargo las principales mejoras en las estrategias del cuidado del miocardio en la última década ha permitido que para muchos pacientes, el riesgo operatorio en la cirugía cardíaca sea bajo⁵, a pesar de que cada vez más, los cirujanos se enfrentan a pacientes de alto riesgo sometidos a formas complejas de cirugía.

1.2.1 ISQUEMIA DEL MIOCARDIO:

Las células miocárdicas están formadas por una membrana celular, denominada sarcolema y en las mitocondrias contenidas en su interior, es donde tienen lugar los procesos respiratorios y de obtención de energía de la célula. El corazón que es un órgano eminentemente aeróbico, libera energía almacenada, que utiliza para el trabajo mecánico⁶

La isquemia es consecuencia de la disminución de perfusión tisular por oclusión de arteria coronaria, y se produce por un desequilibrio entre la demanda miocárdica y el aporte vascular. No solo existe déficit de oxígeno, sustratos ó energía sino que también hay una incapacidad para extraer metabolitos tóxicos como lactato y Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

metabolitos tóxicos. Durante una isquemia ya sea local o global hay en una misma área distintos grados de lesión; esto produce a nivel celular una serie de cambios que llevan a la disminución de la fosfato creatina y se detiene el metabolismo aeróbico y se inicia el metabolismo anaeróbico⁷, lo que condiciona la acumulación de productos del metabolismo anóxico como lactato y radicales libres que son tóxicos para la célula. En esta situación aparecen defectos funcionales a nivel de contractibilidad del miocardio y cambios electrocardiográficos asociados a estos defectos. Si el daño se hace permanente y carece de adecuada circulación colateral lleva a la muerte celular⁸.

1.2.2 LESION POR REPERFUSION

Son los eventos que ocurren durante restablecimiento de la circulación de un tejido (miocardio) previamente isquémico (Coronaria previamente ocluida), y se suman a los daños ocasionados durante el tiempo de isquemia aunque por sí misma la reperfusión puede causar lesión⁹. Esto se debe a la incapacidad del corazón de utilizar de manera adecuada el oxígeno y el calcio que se encuentran ausentes durante la isquemia, y que durante la restauración del flujo sanguíneo puede ocurrir una nueva liberación de radicales libres de oxígeno con un flujo anormal de calcio; la acumulación intracelular de estos componentes puede producir alteración en el metabolismo celular y condicionar un daño miocárdico funcional y estructural. Algunas células del miocárdico sufren más daño una vez el flujo se ha restablecido. Esto se manifiesta en el postoperatorio de cirugía coronaria con arritmias ventriculares y disfunción contráctil por miocardio aturdido¹⁶. **Fig 1 y 2**

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

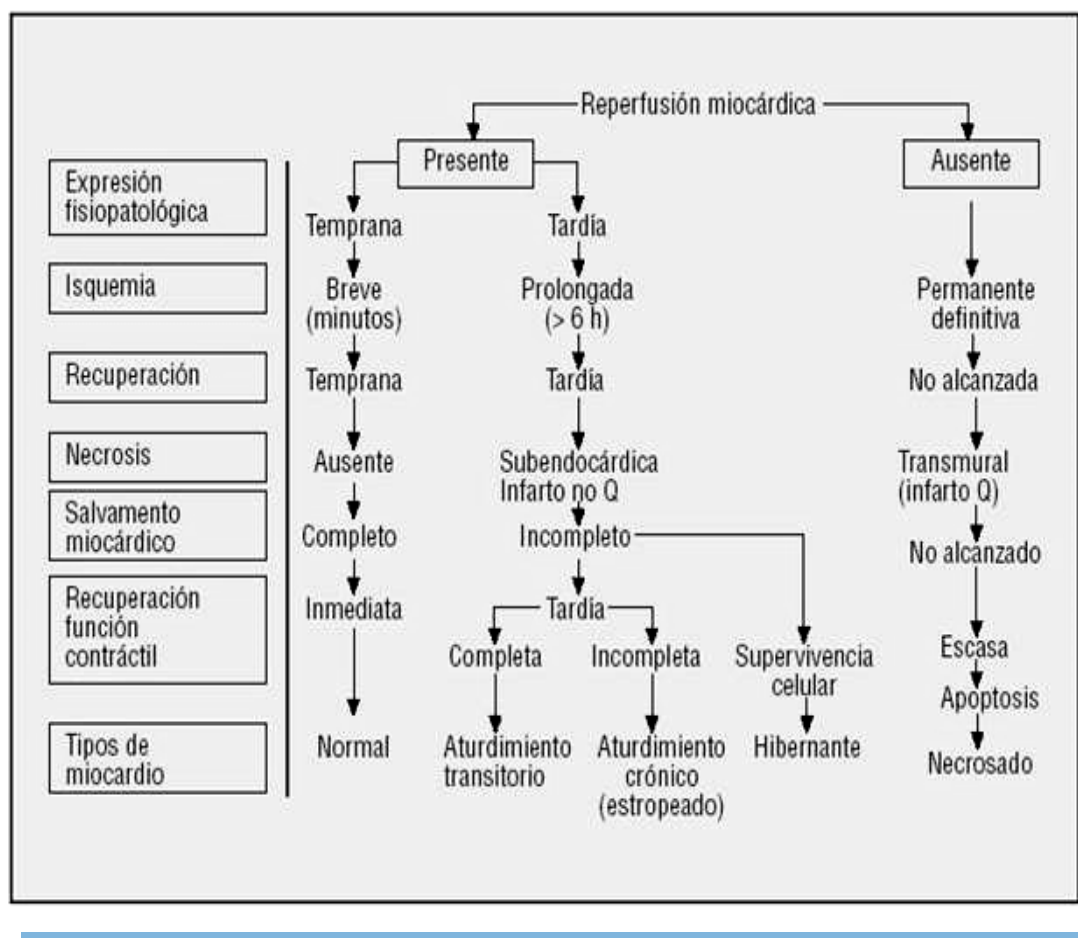


Fig 1. Reperusión miocárdica. Fases. Rev. Esp Cardiol.2004;57 (Supl 1):9-21. Vol 57 Num. Supl.1

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

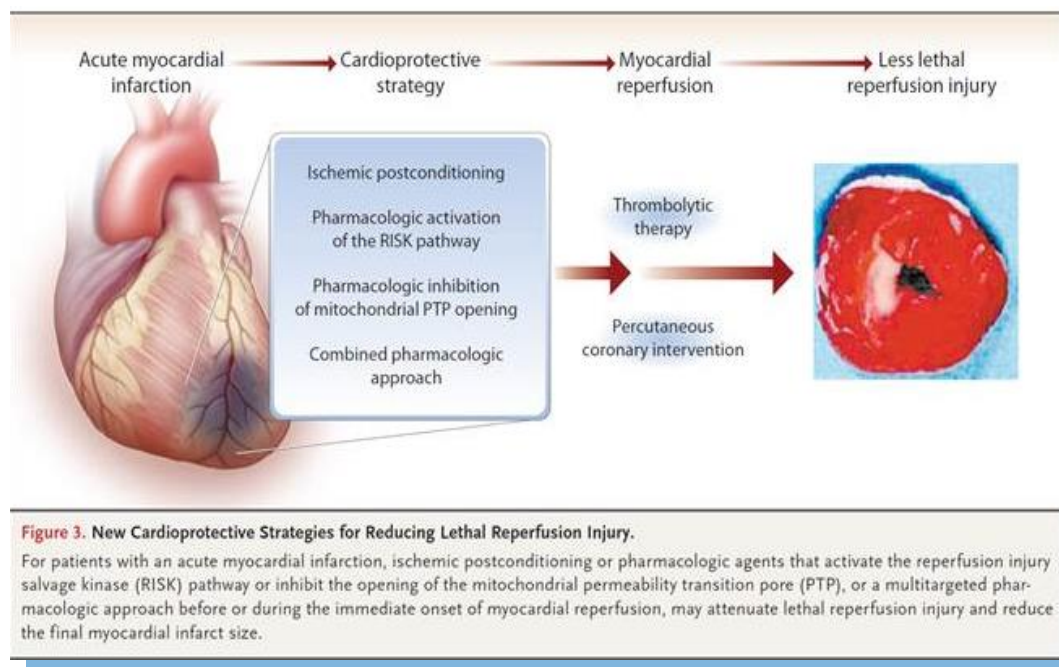


Fig. 2 .Estrategias de cardioprotección en lesión por reperfusión.J. Clin 2013;123:92-100

1.2.3 PROTECCION MIOCARDICA:

La isquemia y posterior reperfusión del miocardio de los pacientes sometidos a cirugía cardíaca puede producir daño reversible o irreversible, dependiendo de la severidad y duración de la agresión isquémica inicial. Por este motivo, es importante realizar una adecuada protección miocárdica perioperatoria con un manejo dirigido a prevenir o disminuir el daño inducido por la isquemia reperfusión. “Hay que tener en cuenta que el corazón latiendo ó fibrilando consume de 8- 10 veces más de oxígeno que cuando está en asistolia” ¹⁰ .

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

1.2.4 TECNICAS DE PROTECCION MIOCARDICA^{11,12,13}.

Los objetivos de la cirugía cardíaca son conseguir un adecuado resultado anatómico y funcional evitando al tiempo el daño miocárdico intraoperatorio; para minimizar este daño se utilizan las técnicas de protección miocárdica para mantener la viabilidad de los miocitos durante el tiempo de isquemia y evitar el daño por reperfusión, ya que una inadecuada protección del corazón conduce a situaciones de bajo gasto y mayor morbimortalidad de los pacientes.

La protección miocárdica aeróbica fue descrita inicialmente en 1991 por Lichtenstein¹⁴; sin embargo, previamente a lo largo de los años han sido estudiadas y aplicadas las distintas técnicas de protección miocárdica, comenzando por la introducción de cardioplejia cristaloides en 1976 y posteriormente la hemática fría en 1978. Inicialmente la protección miocárdica se basaba en 2 puntos mantener el corazón lo más frío posible y se comenzaba una batalla contrareloj, cuanto menos tiempo de clampaje mucho mejor. Sin embargo con el tiempo se ha observado que la lesión del miocardio es más dependiente de la forma de protección del corazón que del tiempo de pinzamiento aórtico.

La protección del miocardio tiene 3 tiempos:

1- Primer tiempo: Preparación del corazón antes de la isquemia. Fortaleciendo el metabolismo del corazón antes de la isquemia con un manejo adecuado de la glucemia, de la hemodinamia, manteniendo buena tensión arterial y frecuencia cardíaca, además de realizar una buena hidratación del paciente. Todo ello está enfocado a evitar mayor consumo de oxígeno por el miocardio.

2- Segundo tiempo: Durante la isquemia. Lo más utilizado es la parada cardíaca química reversible en diástole, inducida por una solución de cardioplejia. Con esto se intenta reducir las necesidades metabólicas miocárdicas y aportar sustratos. La asistolia diastólica inducida químicamente, simultáneamente a la hipotermia a 20°,

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

reduce las demandas miocárdicas de oxígeno (MVO₂) casi en un 95% respecto a un corazón normotérmico y latiendo.

La cardioplejia puede administrarse directamente por vía anterógrada en la raíz de aorta, por ostium coronarios ó injertos y retrograda por el seno coronario; en dosis única o múltiple y puede ser de 2 tipos: cristaloiide y hemática.

Cristaloiide: Administrada a 4°C para conseguir una temperatura de 10-15°C.

Hemática: Sangre más solución cristaloiide en proporción diferente 4:1 – 8:1. Es la más utilizada, tiene muchas ventajas: menor hemodilución, proporciona oxígeno al miocardio, los hidroelectrolitos y el ph son mas fisiológicos, tiene capacidad osmótica para disminuir el edema celular posee antioxidantes endógenos¹⁵.

Administrando una cardioplejia fría a 4-10°C se consigue un enfriamiento miocárdico de aproximadamente 15°C con hipotermia sistémica y enfriamiento local.

3- Tercer Tiempo. Después de la isquemia. Minimizar el daño por reperfusión, con administración de cardioplejia caliente, manejando la presión de reperfusión tras desclampaje, mantener la presión arterial, evitar la distensión ventricular, realizar una desfibrilación precoz y una correcta extracción del aire intracardiaco.

La administración de cardioplejia caliente durante la reperfusión ayuda a la activación de metabolismo celular.

1.3. REVASCULARIZACION MIOCARDICA QUIRURGICA

La primera derivación aortocoronaria experimental fue realizada por Carrel en 1910¹⁶, pero fue en 1967 cuando Favaloro realiza su primer injerto aorto-coronario, posteriormente en 1968 *Flemmang, Johnson y Lepley* (Milwaukee) colocan los primeros puentes secuenciales, logrando los primeros puentes bilaterales de arteria mamaria interna derecha e izquierda entre 1968 y 1972. Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

^{17,18,19}. A lo largo de los años 90 empezó a desarrollarse la angioplastia coronaria (cardiología intervencionista) como tratamiento de la cardiopatía isquémica y la cirugía tiene que competir con este abordaje terapéutico menos agresivo que la técnica quirúrgica.²⁰ Fig 3 y Fig 4.

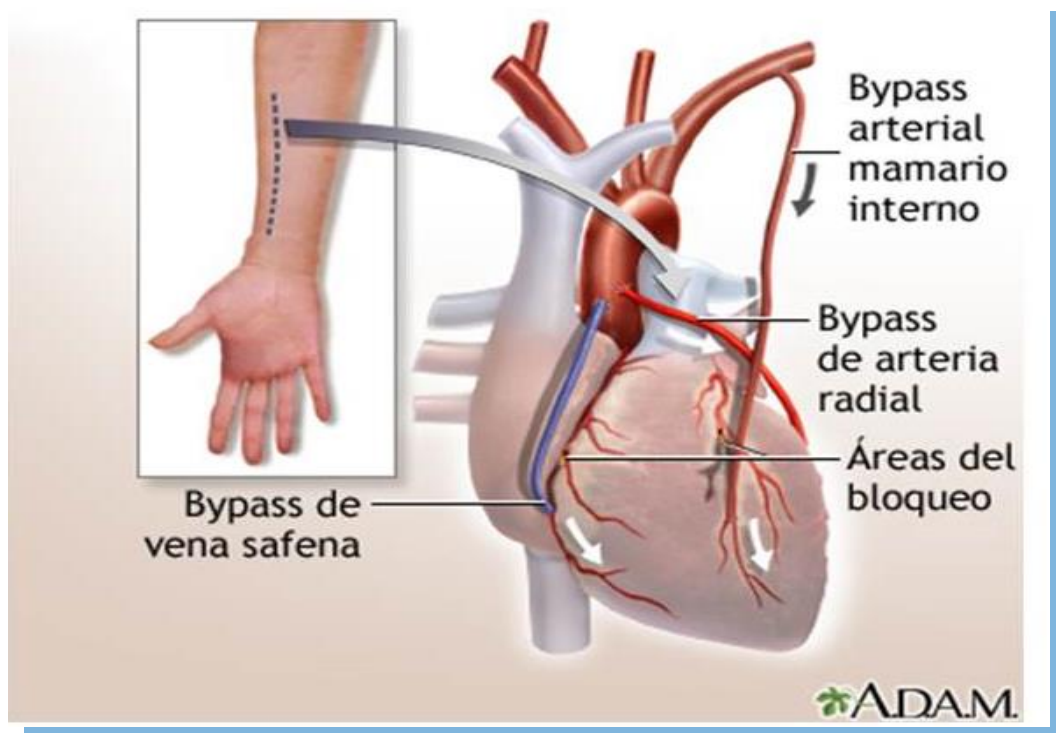


Fig. 3 Representación esquemática de Bypass coronario. ADAM Atlas de anatomía Humana.1997.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

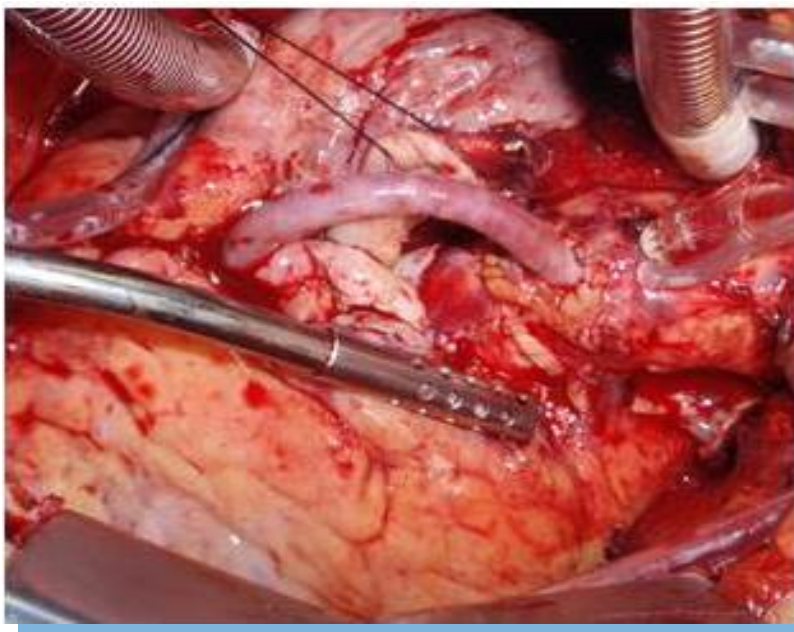


Fig 4. Bypass Aortocoronario.

La cirugía coronaria Comprende dos tipos:

- a) la destinada a mejorar el flujo coronario de territorios irrigados por arterias con estenosis significativas funcionalmente (cirugía de revascularización miocárdica), y
- b) la que tiene como objetivo la reparación de estructuras cardíacas dañadas por los episodios isquémicos (cirugía de las complicaciones agudas del infarto de miocardio y de la miocardiopatía isquémica).

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

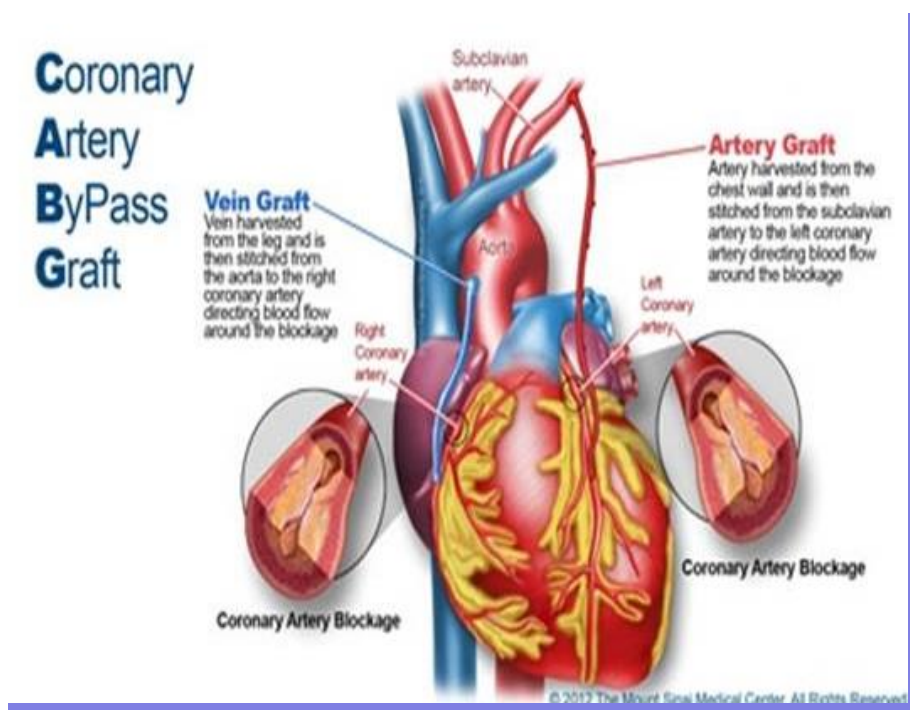


Fig 5. Representación esquemática Bypass coronario. 2012.MontSinai MedicalCenter.

La cirugía en la cardiopatía isquémica es uno de los procedimientos que más se realizan en los servicios de cirugía cardíaca en el mundo, esta ha demostrado su capacidad para mejorar la sintomatología, la calidad de vida y el pronóstico de determinados grupos de pacientes ^{1,2}. Existen una serie de condiciones en los pacientes que han demostrado que la cirugía es idónea, y se encuentran recogidas en las guías de revascularización coronaria²¹ (Tabla 1).

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Tabla 1. Indicaciones de Revascularización según guías de Sociedad Europea de Cardiología.

	Guía 2010		Guía 2014	
	Favorece CABG	Favorece PCI	Favorece CABG	Favorece PCI
1 o 2 VV sin DAp	IIbC	IC	1 ó 2 VV sin DAp	IIbC IC
1 ó 2 VV con DAp	IA	IIaB	1 V + DAp	IA
TCI aislado o con 1 vaso, ostial	IA	IIaB	TCI SS ≤22	IB
TCI aislado o con un vaso, distal o bifurcación	IA	IIbB	TCI SS 22-32	IB IIaB
TCI + 2VV/3VV + SS ≤32	IA	IIbB	TCI SS >32	IB
TCI + 2VV/3VV + SS >32	IA	IIIB		
3 VV + SS ≤22	IA	IIaB	3 VV + SS ≤22	IA
3 VV + SS >22	IA	IIIA	3 VV + SS >22	IA

DAp: Descendente anterior proximal. VV Vasos. SS SYNTAX Score. Cardioteca. com

En resumen, los pacientes quienes en la angiografía presentan uno de los siguientes hallazgos, tienen indicación de revascularización quirúrgica, especialmente si son diabéticos:

1. Estenosis de tronco de la arteria coronaria izquierda.
2. Estenosis proximal de 3 arterias coronarias principales (sobre todo si una afectada es la arteria descendente anterior).
3. Estenosis proximal de la arteria descendente anterior sin posibilidad de realizar angioplastia coronaria.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

4. Pacientes con síntomas graves, prueba de esfuerzo temprana positiva y función ventricular izquierda disminuida.

1.3.1 ESCALA DE ESTRATIFICACION DE RIESGO:

Se han desarrollado numerosos métodos de estratificación del riesgo, basados en la complejidad anatómica o en riesgo clínico que se han demostrado útiles en la toma de decisiones.

EuroSCORE: Predice la mortalidad quirúrgica, se fundamenta en bases antiguas y se ha demostrado que sobreestima el riesgo de mortalidad, por lo que no es recomendable emplearlo.²²

EuroSCORE II: Es la escala utilizada en nuestro trabajo, es un modelo actualizado de EuroSCORE, de base de datos más actuales, refleja más adecuadamente la práctica quirúrgica actual. Ha demostrado su utilidad en los pacientes de CABG, predice mejor la mortalidad que EuroSCORE ²³.

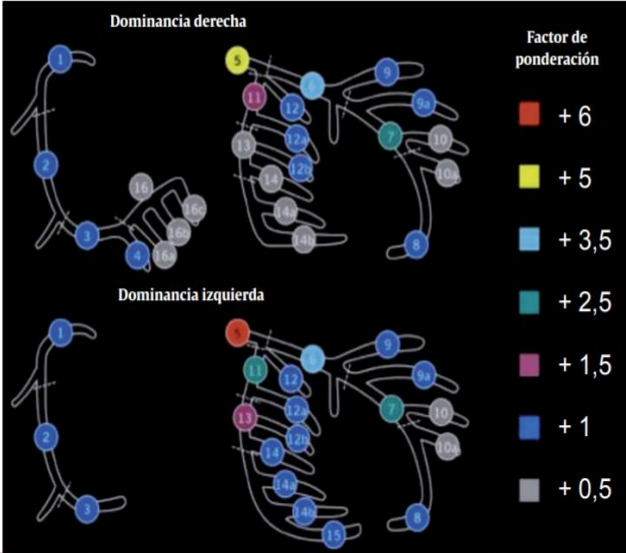
Modelo de Sociedad de Cirujans Torácicos (STS) : Modelo de predicción de riesgo . Predice la mortalidad intrahospitalaria o a los 30 días. Tiene un modelo específico para pacientes de cirugía coronarios y otro para pacientes de cirugía coronaria y valvular²⁴²⁵.

Modelo SYNTAX: Clasifica la complejidad de las lesiones coronarias en pacientes con enfermedad de tronco común izquierdo o con enfermedad de tres vasos, es predictor independiente de eventos cardíacos y cerebrovasculares graves (MACCE) a largo plazo para pacientes tratados con ICP pero no con CABG.

Modelo SYNTAX II: Combinación de factores de riesgo tanto anatómicos como clínicos y permite predecir la mortalidad a largo plazo de pacientes con enfermedad arterial coronaria compleja y de tronco común izquierdo^{3,26}. Tabla 2

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Tabla 2. Guía para cálculo de la puntuación de SYNTAX

Pasos	Variable evaluada	Descripción
Paso 1	Dominancia	La importancia de los segmentos coronarios varía según la dominancia arterial coronaria (derecha o izquierda). La codominancia no es una opción en el método SYNTAX
Paso 2	Segmento coronario	El segmento coronario enfermo afecta directamente a la puntuación, ya que a cada segmento se le asigna una puntuación dependiendo de su localización, desde 0,5 (p. ej., rama posterolateral) a 6 puntos (p. ej., tronco común izquierdo en caso de dominancia izquierda)
		
Paso 3	Diámetro de estenosis	Los puntos de cada segmento coronario enfermo se multiplican por 2 en caso de estenosis del 50-99% y por 5 en caso de oclusión total En caso de oclusión total, se añaden puntos adicionales según: <ul style="list-style-type: none"> - Duración > 3 meses o desconocida +1 - Morfología roma (sin muñón) +1 - Colaterales periadventiciales +1 - Primer segmento visible distalmente +1 por segmento no visible - Rama lateral en el lugar de la oclusión +1 si el diámetro es < 1,5 mm +0 si el diámetro es ≥ 1,5 mm +1 con diámetro < 1,5 mm o ≥ 1,5 mm +0 si el diámetro es ≥ 1,5 mm (p. ej., lesión en bifurcación)
Paso 4	Lesión en trifurcación	La presencia de lesión trifurcada añade puntos según el número de segmentos enfermos: <ul style="list-style-type: none"> - 1 segmento +3 - 2 segmentos +4 - 3 segmentos +5 - 4 segmentos +6
Paso 5	Lesión en bifurcación	La presencia de lesión en bifurcación añade puntos por el tipo de bifurcación según la clasificación de Medina ²⁹ : <ul style="list-style-type: none"> - Medina 1,0,0 o 0,1,0 o 1,1,0: añade 1 punto - Medina 1,1,1 o 0,0,1 o 1,0,1: añade 2 puntos Además, la presencia de un ángulo de bifurcación < 70° añade 1 punto
Paso 6	Lesión aorto-ostial	La presencia de lesión en segmentos aorto-ostiales añade 1 punto
Paso 7	Gran tortuosidad	La presencia de gran tortuosidad proximal al segmento enfermo añade 2 puntos
Paso 8	Longitud de la lesión	Una longitud de lesión > 20 mm añade 1 punto
Paso 9	Calcificación	La presencia de calcificación intensa añade 2 puntos
Paso 10	Trombos	La presencia de trombos añade 1 punto
Paso 11	Enfermedad difusa/vasos pequeños	La presencia de segmentos con enfermedad difusa o segmentos estrechos (cuando el 75% de la longitud del segmento distal a la lesión tiene un diámetro < 2 mm) añade 1 punto por cada segmento

1.3 CIRUGIA VALVULAR

Las enfermedades valvulares son alteraciones en la estructura valvular. La inflamación, el engrosamiento, la rigidez, la rotura, la mala coaptación y la calcificación de las valvas determinan que el orificio o área valvular disminuya y/o que el cierre sea incompleto. En 1912 Theodore Tuffier realizó a primera operación para el tratamiento de enfermedad valvular en un hombre joven con estenosis aortica, en 1960 Harken realizo el primer implante valvular exitoso²⁷.

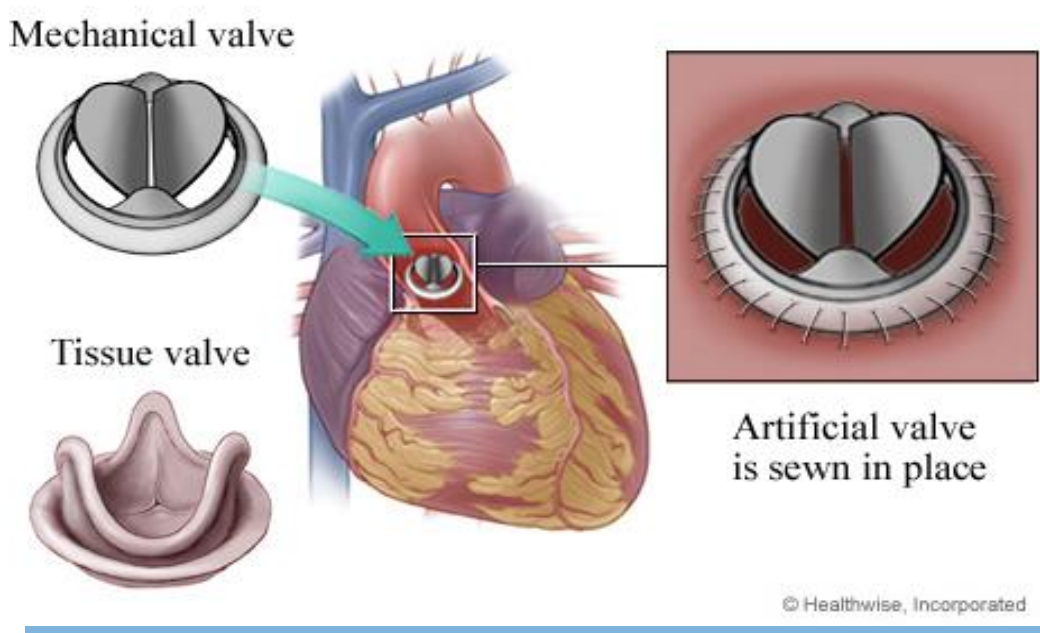


Fig 6. Representación de válvulas cardíacas

El diagnóstico y tratamiento de los pacientes con enfermedades valvulares cardíacas ha sufrido importantes cambios gracias al avance en los diferentes métodos de valoración ventricular no invasivos, mejores prótesis, técnicas de reconstrucción, y tratamientos como la penicilina, que ha ayudado a la disminución de a la enfermedad reumática. La estenosis aortica es la anomalía Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

valvular más frecuente que se presenta principalmente como estenosis aórtica calcificada en adultos de edad avanzada (5% más de 65 años).

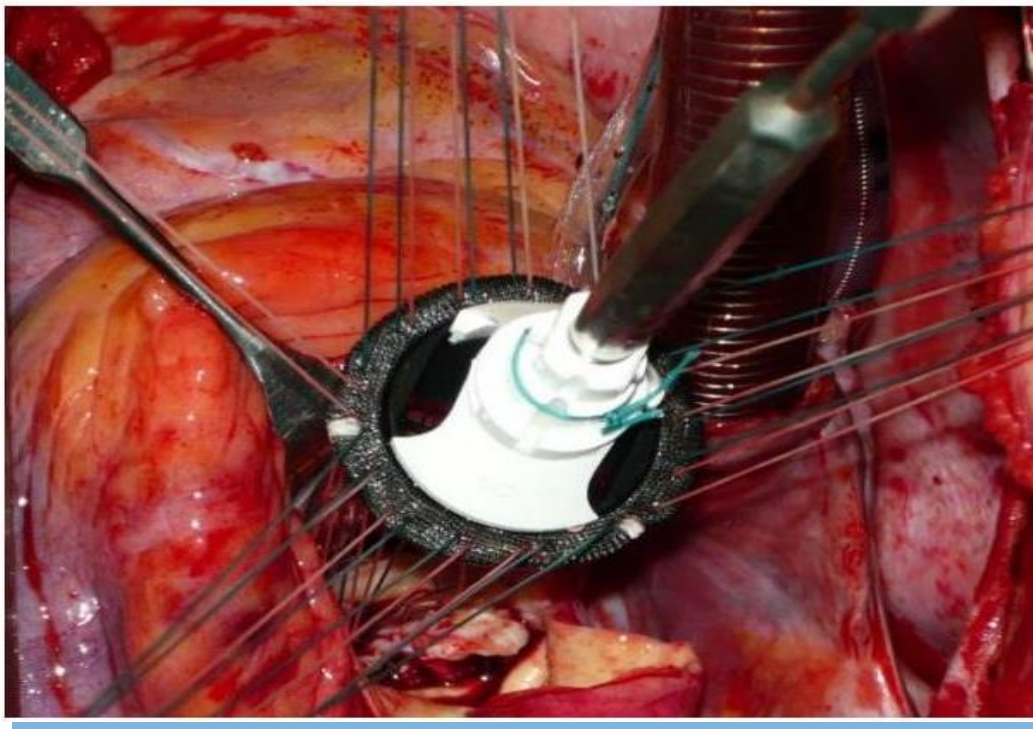


Fig 7. Sustitución Valvular Aórtica

La clasificación de gravedad de las lesiones de las valvulas estan basadas en un examen fisico completo, que debe ser correlacionado con una Ecocardiograma Transtorácico integral.

La indicación de la intervención en los pacientes con enfermedad valvular depende de diferentes factores: la presencia o ausencia de síntomas, la gravedad de la valvulopatía, la respuesta del ventrículo izquierdo y/o derecho con el volumen o presión de sobrecarga causada por la valvulopatía, el efecto sobre la circulación pulmonar o sistémica y un cambio en el ritmo cardiaco²⁸.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

2. ENDOTELIO VASCULAR:

El endotelio es la capa de revestimiento celular de todos los vasos sanguíneos arteriales y venosos, del interior del corazón, linfáticos y cuerpos cavernosos. Forma una barrera estructural entre el espacio vascular y los tejidos. Ya no se considera una estructura inerte, debido a los hallazgos realizados por los premio nobel de Fisiología y Medicina en 1998 Robert Furchgott, Ferid Murad y Louis Ignarro, que dieron a conocer algunos mecanismos bioquímicos de la función del endotelio vascular en la regulación del tono vasomotor como respuesta a la acetilcolina²⁹. Actualmente se sabe que el endotelio juega un papel muy importante en el control de la función y de la estructura vascular por su producción del óxido nítrico (NO)³⁰. Además, es el encargado de regular el crecimiento del tejido a su alrededor: en su estado basal, previene la proliferación del musculo liso al secretar TGF- β (factor de crecimiento transformante $-\beta$) y expresión de moléculas parecidas al "heparán". En definitiva, un endotelio sano desempeña un papel activo en la regulación fisiológica del tono vascular, la migración del musculo liso vascular, resistencia a la trombosis inhibiendo la adhesión de las plaquetas y los leucocitos a la superficie vascular y manteniendo un equilibrio de la actividad profibrinolítica y protrombótica³¹. En contraste, un endotelio activado promueve la coagulación, la endotoxina bacteriana, la liberación de citokinas inflamatorias (IL-1) y las proteínas glucosiladas, presencia de que son factores que pueden activar el endotelio y promover la actividad procoagulante³².

2.1 ENDOTELIO EN LA INFLAMACION

El proceso inflamatorio se caracteriza por el movimiento de células y fluidos desde la sangre hacia los tejidos extravasculares en un intento de localizar el estímulo nocivo, produciendo una reacción en el tejido conectivo vascularizado. En este Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

proceso participan mediadores de factores quimiotácticos (citocinas, quimocinas) producidas localmente por el tejido dañado³³.

2.1.1. ATEROESCLEROSIS:

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria que puede afectar a cualquiera de las arterias del cuerpo principalmente las arterias coronarias, arterias carotidas, arterias de miembros inferiores y arterias renales, manifestándose de diferente manera según el área afectada y el grado de estenosis que tengan .

Las lesiones de la aterosclerosis se asocian con una serie de respuestas moleculares y celulares muy específicas características de una enfermedad inflamatoria³². La inflamación se encuentra presente en todas las fases de la aterosclerosis; los leucocitos de la sangre no se adhieren en un endotelio normal. Desde la etapa inicial de la aterosclerosis cuando la monocapa endotelial se inflama y se incrementa la expresión de las moléculas de adhesión, que se unen a ligandos afines en los leucocitos; hasta etapas avanzadas, cuando la placa se rompe y el factor tisular inducido por la señal inflamatoria desencadena el trombo, que causa las complicaciones más graves de la aterosclerosis (Infartos agudos, accidentes cerebro vasculares, isquemias crónicas reagudizadas)³⁴.

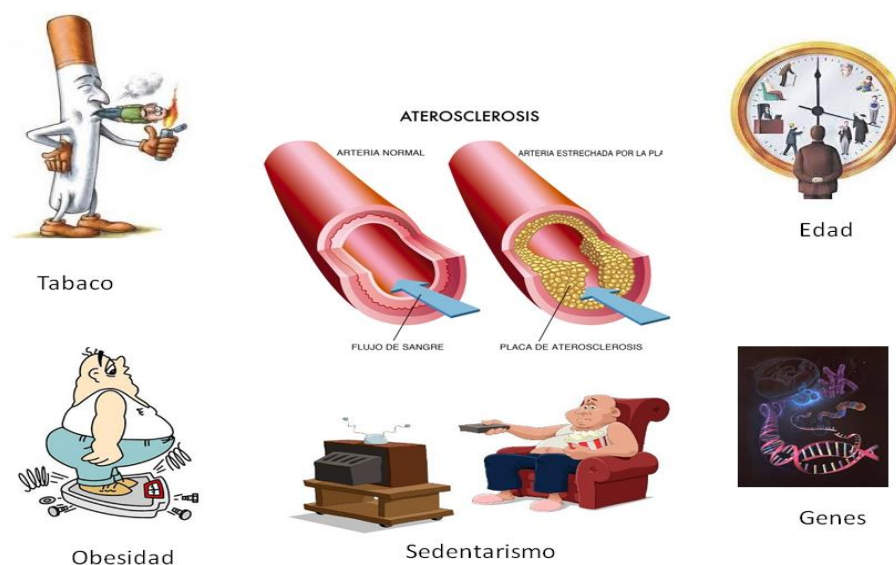


Fig 8. Factores de riesgo en aterosclerosis.

Se ha demostrado que las enfermedades inflamatorias crónicas autoinmunes como la artritis reumatoide³⁵, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, espondiloartropatías seronegativas³⁶, enfermedad inflamatoria intestinal³⁷, se asocian con aterosclerosis acelerada y tienen mayor morbimortalidad cuando se comparan con la población normal³⁸.

La disfunción endotelial constituye el paso inicial y básico en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis, y de sus complicaciones clínicas; las condiciones comunes que predisponen a la aterosclerosis, como la hipercolesterolemia, la hipertensión, la diabetes, y el tabaquismo, se asocian con disfunción endotelial que conlleva a un fenotipo proinflamatorio y protrombótico del endotelio³⁴.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

2.1.2 MARCADORES BIOQUIMICOS INFLAMATORIOS

PROTEINA C REACTIVA:

La proteína C (PCR) reactiva es un reactante de fase aguda y un marcador no específico de la inflamación. Es liberado por el hígado después de la estimulación predominante de IL-6 y otras citoquinas³⁹, se liga directamente a la fosfocolina de los microorganismos y aumenta hasta 50.000 veces en estados inflamatorios agudos con una secreción que se inicia de 4 a 6 h después de la estimulación con un pico a las 36 h⁴⁰. Fue descubierta en 1930 por William S. Tillett y Thomas Francis, Jr, quienes encontraron un nuevo antígeno de la bacteria del *Streptococcus pneumoniae* y la llamaron Fracción C, observando su reacción con el suero de pacientes afectados por neumonía⁴¹. Inicialmente se creía que esta proteína estaba relacionada directamente con la infección incluso sus niveles se encontraban directamente relacionados con la gravedad de esta. Sin embargo varios estudios han demostrado que no es así ; ya que esta proteína se encuentra elevada también en la inflamación de causa no infecciosa como cirugía, trauma y enfermedades reumáticas ^{42, 43}

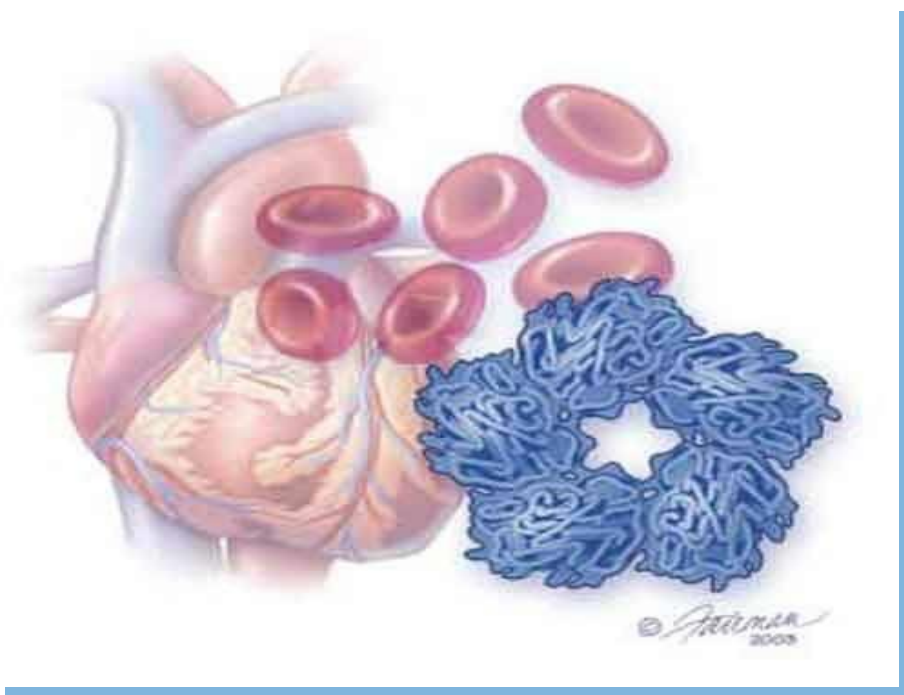


Fig 9. Imagen gráfica PCR.

<http://www.blogmedicina.com/wp-content/uploads/2012/08/crp.jpg>.

Varios estudios sugieren que la proteína C reactiva, además de ser un marcador de la inflamación, también puede contribuir directamente a la disfunción endotelial.⁴⁴ La PCR facilita la adhesión de monocitos y la trans migración en el vaso, que es el primer paso crítico en el proceso aterosclerótico⁴⁵. Además hay estudios que han demostrado una asociación entre la PCR, la inhibición de la óxido nítrico sintasa endotelial y una vasoreactividad alterada^{46, 47}, y en las células musculares lisas vasculares en respuesta a la aterosclerosis ya que se une al colesterol de baja densidad (LDL-C) y en las placas de lípidos⁴⁸.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Cuando existe un proceso inflamatorio, la PCT se eleva hasta 5000 veces en las primeras 2-4 horas posteriores a la infección, con una vida media de 22 a 26 horas, y persiste hasta la recuperación, aproximadamente 36 horas si el estímulo desaparece⁵⁴. Las concentraciones de PCT aumentan levemente por encima del rango normal en un tercio de los pacientes con cirugía menor y aséptica, en más de la mitad de los pacientes después de la cirugía cardíaca y torácica, y en casi el 100% de los pacientes después de la cirugía del intestino.

Después de la cirugía cardíaca sin complicaciones, los niveles de PCT aumentan hasta alcanzar un nivel máximo dentro de las 24 horas después de la intervención, y vuelven a niveles normales una semana después de la cirugía. El grado de elevación PCT depende del curso intraoperatorio y el tipo de procedimiento quirúrgico, pero es improbable que exceda del 5 ng / ml. Los pacientes con un postoperatorio complicado, con infección o síndromes sépticos, muestran niveles más altos del PCT que los pacientes con un curso sin complicaciones. La PCT podría ser útil para diferenciar un rechazo agudo del injerto de corazón y / o pulmón transplantado con una infección micótica ó bacteriana, pero no en el caso de la infección viral⁵⁵.

2.1.3 MARCADORES BIOQUIMICOS EN DIAGNOSTICO DE IAM

TROPONINA I

La troponina es una proteína globular de gran peso molecular presente en músculo estriado y cardíaco. Colabora en el acoplamiento actina-miosina que se produce durante la contracción muscular. Comprende tres subunidades denominadas troponina T, troponina I y troponina C. Las troponinas I y T presentes en el músculo cardíaco presentan unas características peculiares, Ambas presentan una sensibilidad y especificidad similares y muy elevadas para la detección de la lesión Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

miocárdica⁵⁶, aunque se ha descrito una mayor sensibilidad para la Troponina I cardíaca (TnI) en la detección de una mínima lesión miocárdica en la angina inestable⁵⁷.

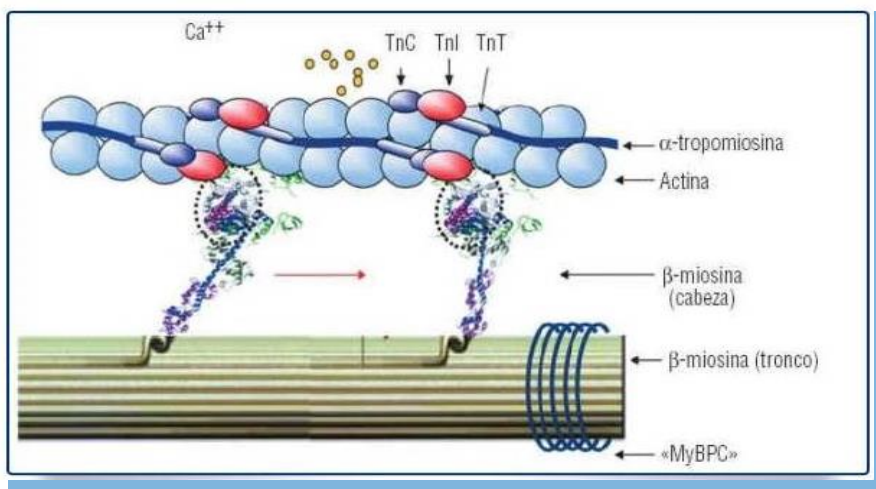


Fig 11. Imagen gráfica Troponin I. Rev. Esp Cardiol 2004; 57 (Suplem 1) 22.

Una elevación de la TnIc por encima de 0,4 ng/ml en pacientes que han presentado dolor torácico típico se correlaciona con una alta probabilidad de cardiopatía isquémica, aunque el ECG y el resto de enzimas no tengan alteración⁵⁸.

CPK.

La CK total es una enzima con distribución en casi todos los tejidos, cataliza una reacción de transferencia de energía, como la fosforilación de la creatina a creatina fosfato. Se localiza preferentemente en la musculatura estriada, depende de la masa muscular y está más elevada en hombres que en mujeres. Ha sido el marcador biológico más utilizado para el diagnóstico de las alteraciones miocárdicas y del musculo-esquelético.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

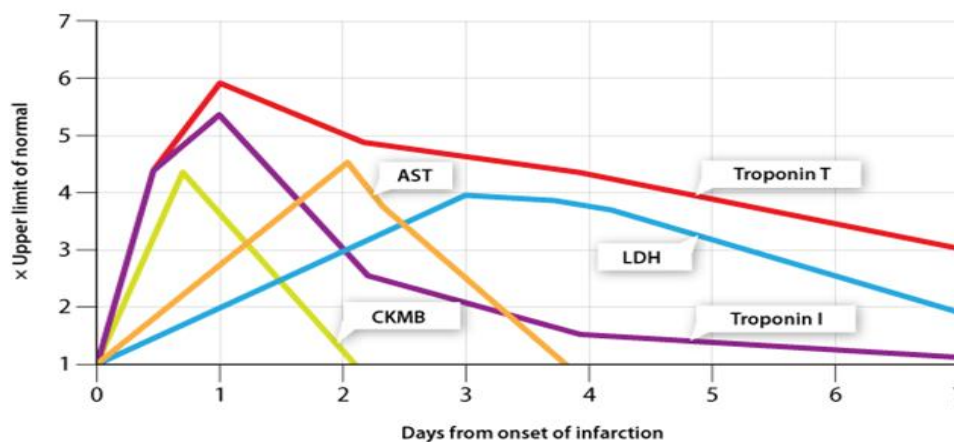


Fig 12. Cinética de las enzimas cardiacas. Evolución después de evento coronario agudo. *The role of troponin testing* www.bpac.org.nz

3. INFLAMACION COMO MECANISMO DEL DAÑO ENDOTELIAL.

Los pacientes que han sido sometidos a procedimientos quirúrgicos pueden inducir diferentes grados de inflamación de los tejidos con liberación de citoquinas⁵⁹. En el caso de la cirugía cardíaca y con uso de circulación extracorpórea (CEC) se produce a una activación más pronunciada de estas y de células inflamatorias como monocitos, en comparación con otros procedimientos quirúrgicos⁶⁰.

Los monocitos juegan un papel muy importante en la aterogénesis, la acumulación de monocitos en la pared vascular es un paso muy importante en el comienzo y en la progresión de la aterosclerosis. Estudios in vitro y en animales sugieren un papel selectivo de las distintas subpoblaciones de monocitos en el desarrollo de la misma⁶¹, y estudios en humanos con insuficiencia renal crónica y enfermedad coronaria, el número de dichas subpoblaciones de monocitos puede llegar a predecir eventos cardiovasculares^{62,63}.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

3.1 MONOCITOS Y SUBPOBLACIONES DE MONOCITOS.

Los monocitos humanos se definieron inicialmente por su morfología y citoquímica y posteriormente por citometría de flujo, basándose en las propiedades de dispersión de la luz láser para el recuento, y clasificando así, las células por su expresión de antígenos en la superficie celular CD14 y CD16⁶⁴.

En personas sanas, la mayoría de los monocitos son fuertemente positivos CD14 y CD 16 negativos (CD14++CD16- ó Mon 1, clásicos) y solamente el 10 % de todos los monocitos en sangre periférica son CD16 positivos (CD16+)⁵.

Múltiples estudios demuestran la gran “plasticidad” de los monocitos con capacidad para diferenciarse en varios fenotipos celulares como respuesta a su entorno⁶⁵; en 1989 Passlick y colaboradores reportaron que los monocitos en el humano se dividen en 2 subpoblaciones de acuerdo al patrón de expresión en la superficie del receptor de polisacáridos CD14 y el receptor Fc-γ CD16⁶⁶; y en el año 2003, Ancuta y cols reportaron que los monocitos CD16+ estaban divididos en 2 subgrupos fenotípicamente distintos: los monocitos CD14++ CD16+ y los monocitos CD14+ CD16++. Posteriormente en el año 2008 se realizó un consenso para unificar la clasificación de los monocitos y células dendríticas en humanos y en ratones. Esta nueva clasificación de monocitos con base en la expresión de la molécula del CD14 y del receptor CD16, que define los monocitos clásicos ó CD14++ CD16-, intermedios ó CD14++CD16+ y no clásicos ó CD14+CD16+ es la nomenclatura que se utiliza actualmente⁶⁷.

Los monocitos CD16+ (CD14++ CD16+ y CD14 CD16++) son considerados monocitos proinflamatorios, porque producen citocinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral (TNF- α) e Interleukina-1 (IL-1)⁶⁸ y pocas citocinas anti-inflamatorias como interleukina 10 (IL-10), comparándolos con los CD16 negativos (CD14++ CD16-)⁶⁹; además se encuentran incrementados en enfermedades inflamatorias e infecciosas como HIV⁷⁰ y pueden contribuir a la Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

injurias vasculares y de tejidos⁶⁸. Además, se ha visto que los pacientes con enfermedad coronaria presentan niveles más altos con respecto a los sujetos sanos^{4,5}.

Los monocitos CD14+ y CD16+ además de asociarse a niveles elevados de TNF- α , se asocia también a elevados niveles de lípidos aterogénicos LDL y se correlacionan negativamente con los niveles de HDL⁶⁷. En personas que presentan una patología asociada al desarrollo de inflamación crónica, el porcentaje de estos monocitos se eleva de forma significativa, esto ha llevado a proponer que además de biomarcadores del proceso de inflamación crónica, estas células pueden jugar un papel clave en el desarrollo y perpetuación tanto de este proceso inflamatorio y/o de patologías asociadas a la inflamación crónica, como la enfermedad cardiovascular⁷¹, sepsis⁷², infección por VIH⁷³, enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide⁷⁴, enfermedad de Kawasaki^{75,76} y en pacientes con aterosclerosis⁷⁷.

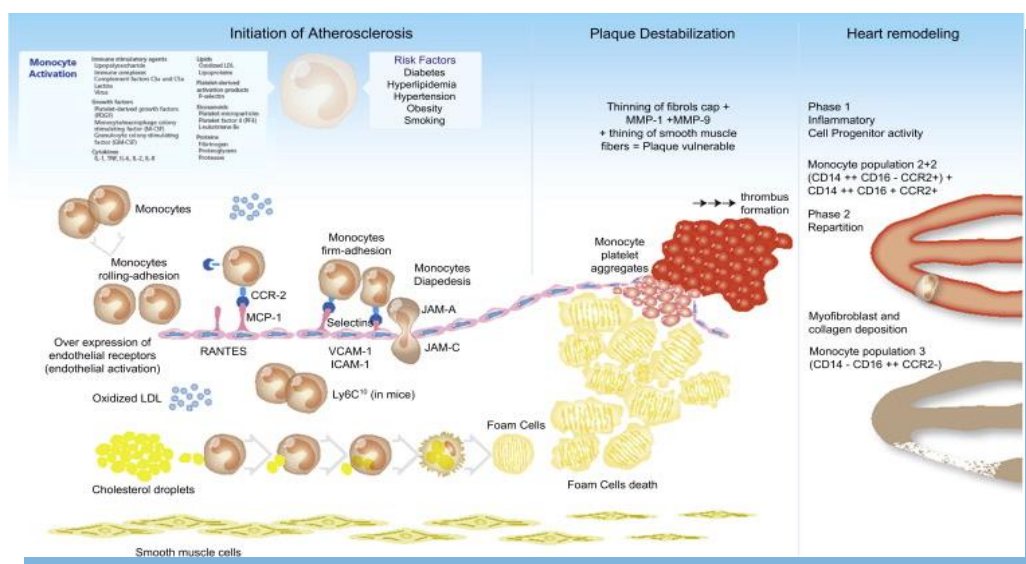


Fig 13. Rol de los monocitos en la aterosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(17):1541-1551

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

En el año 2003 Schlitt y cols estudiaron a 200 pacientes encontrando que las personas con enfermedad coronaria crónica presentan mayor número de CD14+ CD16+ que los pacientes controles⁷⁸; posteriormente en el año 2007 Nahrendorf⁷⁹ en un estudio realizado en ratones y Tsujioka en un estudio en humanos⁸⁰ demostraron que durante el infarto hay una respuesta monocitaria que tiene 2 fases: la primera entre los 2- 3 primeros días post- infarto, periodo de la remodelación ventricular izquierda donde hay un predominio de los monocitos Ly-6C^{hi} en ratones y CD16⁻ en humanos con elevada actividad fagocítica y proteolítica; y la segunda entre los 4 y 7 días post-infarto donde predominan los monocitos Ly-6C^{lo} en ratones y de CD16 + en humanos que inicialmente promueven los procesos de reparación, tales como la angiogénesis y la deposición de matriz extracelular que son las características clásicas de la formación de tejido de granulación, permaneciendo elevados durante la inflamación crónica.

En el caso de los monocitos CD14⁺⁺CD16⁺, sus niveles elevados están asociados a un alto índice de eventos cardiovasculares y a una mayor mortalidad de causa cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal crónica sin diálisis⁸¹.

2.3 MARCADORES DE DAÑO ENDOTELIAL:

MICROVESICULAS ENDOTELIALES:

Las Microvesículas endoteliales (MVs) son pequeñas partículas de (<1,5 m) derivadas de las células. Constan de una membrana derivada de las células y contienen proteínas de membrana y material citosólico extraídos de las células que las originan⁸². Aumentan en respuesta a la activación celular o la apoptosis⁸³, y pueden desempeñar un papel fundamental tanto en la lesión de los tejidos como en la reparación endotelial y la remodelación vascular^{84,85}. Las MVs endoteliales se caracterizan por expresar diferentes moléculas como CD31+, anexinaV+, Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

CD144+ y/o CD62e+ que reflejan su origen endotelial y pueden servir como un nuevo biomarcador que facilita la estratificación de la enfermedad vascular⁸⁶. A nivel funcional, se ha demostrado que las MVs pueden tener un efecto procoagulante, lo cual las implica directamente en el proceso aterosclerótico⁸⁷ y son componentes importantes en la red de comunicación intercelular, pueden transferir de la célula donante componentes derivados de membrana y del citoplasma en la forma de mRNA, micro RNA (miRNA), lípidos bioactivos, proteínas y materiales genéticos, que influyen en el destino de la célula y su comportamiento⁸⁸ en la Figura 13 se observa una representación esquemática donde la célula madre pluripotencial del humano (hiPSC) transfiere receptores de membrana, proteínas, mRNA y microARN por medio de MV a la célula mesenquimal cardíaca, después de esta transferencia hay un aumento de proliferación, de la propiedad de diferenciación y del metabolismo con la disminución simultánea de la apoptosis⁸⁹.

Algunas intervenciones como la administración de suplementos de aceite de pescado⁹⁰, las estatinas⁹¹, agentes anti-TNF⁹² y suplementos de Vitamina C pueden afectar la formación de MVs y reducir el número de las MVs circulantes.

Las MVs se consideran un marcador de lesión de las células endoteliales y su relación con la lesión endotelial, alteraciones del tono vascular, y el envejecimiento vascular⁹³ hace de las MVs una nueva diana para el diagnóstico y quizás, para el desarrollo de nuevas terapias.

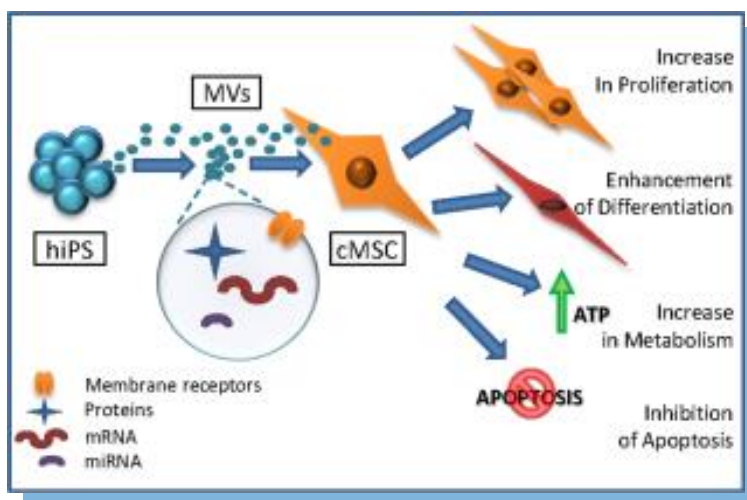


Fig 14. Acción de microvesículas endoteliales. *Stem cells* Volume 33, Issue 9, pages 2748-2761. cMSC: Célula estromal mesenquimal cardiaca, hiPSC: Célula madre pluripotencial del humano, MV: Microvesicula

2.4 MARCADORES DE REGENERACION ENDOTELIAL:

CELULAS PROGENITORAS DEL ENDOTELIO (EPC):

Las células progenitoras endoteliales (EPCs) son células mononucleares de origen mesodérmico se encuentran en la medula osea, sangre del cordón umbilical y sangre periférica, se movilizan de la medula osea al lugar de neovascularización para diferenciarse en células endoteliales y formar nuevos vasos^{94,95} Estas EPCs inducen la proliferación, migración y adhesión y se diferencian en células endoteliales funcionales para mantener la integridad vascular⁹⁶; en este momento las células progenitoras tienen un papel muy importante en la reparación endotelial, ya que las células endoteliales maduras tienen una capacidad regenerativa limitada. Hay numerosos factores que participan en la migración de las EPCs como el factor de crecimiento endotelial (VEGF), la interleucina – 8 y el óxido nítrico (NO).

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Además, las células progenitoras no sólo pueden reparar el endotelio sino que también pueden ser reclutadas a células progenitoras que se diferencian hacia un fenotipo de células musculares lisas y que sustituyen el tejido necrótico vascular a este nivel⁹⁷. La disfunción de las EPCs supone un evento crítico en la iniciación del desarrollo de la placa aterosclerótica. Por esto se ha sugerido como marcador biológico de eventos cardiovasculares pero no con la mortalidad de otras causas⁹⁸. Diversos estudios aseguran que existe un menor número de EPCs en los pacientes con enfermedad coronaria. Esta disminución parece estar relacionada no sólo con los factores de riesgo clásicos, sino que tiene una relación directa con la obstrucción coronaria⁹⁹. Tienen un importante valor diagnóstico y terapéutico, por ejemplo EPC transferidos migra a lugares donde hay lesiones vasculares para revascularizar tejidos isquémicos¹⁰⁰ y sus efectos terapéuticos se han demostrado en pacientes con isquemia o enfermedad por neovascularización y en poblaciones EPC autólogas representando un paso muy importante en la revascularización terapéutica^{101,102}

JUSTIFICACION

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Justificación

La cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (CEC) se acompaña de una respuesta inflamatoria, caracterizada por vasodilatación y por disminución de la resistencia vascular sistémica, que es iniciada por el contacto de la sangre con el circuito extracorpóreo, y está influenciada por el desarrollo de isquemia y daño por reperfusión con posterior liberación de endotoxinas¹⁰³. La extensión y duración de la respuesta depende de numerosos factores, entre los que se incluyen los fármacos utilizados, el tiempo de isquemia y de circulación extracorpórea, y los procesos mecánicos y físicos intrínsecos al proceso de perfusión.

La enfermedad de arteria coronaria aterosclerótica es el tipo más común de enfermedad cardiovascular y una de las principales causas de muerte en países industrializados. En el desarrollo de la aterogénesis, la acumulación de monocitos en la pared vascular es un paso muy importante para el comienzo en la progresión de la aterosclerosis¹⁰⁴, y en personas con insuficiencia renal crónica y en la enfermedad coronaria, se ha demostrado que, el recuento de la población de monocitos no clásicos (CD14++CD16+) puede llegar a predecir eventos inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

cardiovasculares. Sin embargo, no conocemos aun si, al revascularizar un miocardio hibernado, la cirugía influye o no en el numero de monocitos CD14⁺⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺ (monocitos proinflamatorios) y CD14⁺⁺CD16⁺ (monocitos relacionados con riesgo cardiovascular) y si esto llega a ser pronostico para el paciente.

Asi mismo las Microvesiculas Endoteliales (MVs), particulas son consideradas en la actualidad como un nuevo marcador de lesión endotelial por su relación con la apoptosis y la activacion a nivel celular; y las células progenitoras endoteliales (EPCs), son células encargadas de reparación vascular, el estudio de estas dos moléculas podría dar nuevas opciones terapéuticas para una enfermedad tan emergente como es la aterosclerosis.



OBJETIVOS

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Objetivos

En este trabajo se incluyen pacientes programados para revascularización coronaria con el fin de observar la influencia de la cirugía coronaria sobre el número de subpoblaciones de monocitos, especialmente los relacionados con riesgo cardiovascular, y posteriormente, el efecto de esta cirugía en la relación entre el daño y la capacidad de reparación endotelial a través de los siguientes objetivos.

1. Determinar con una muestra de sangre periférica en 5 tiempos: previo a la cirugía, en el momento de la intervención y a las 4, 24 y 48 horas postoperatorias, para observar que influencia tiene, la cirugía coronaria sobre el número de los monocitos CD14++CD16-, CD14+CD16+ y CD14++CD16+, estos últimos relacionados con riesgo cardiovascular.
2. Analizar el comportamiento de parámetros hemodinámicos y marcadores bioquímicos en los mismos 5 Tiempos en estos pacientes.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

3. Evaluar si hay algún efecto en el uso de Circulación extracorpórea en los parámetros inflamatorios, el daño y la reparación endotelial estudiados en los pacientes intervenidos de revascularización coronaria.
4. Observar los cambios que hay en las 3 subpoblaciones de monocitos entre pacientes coronarios y pacientes valvulares durante los 5 tiempos y posteriormente compararlos con controles sanos.
5. Determinar la capacidad de los pacientes con enfermedad coronaria para reparar el endotelio cuantificando las EPCs.
6. Valorar la respuesta del endotelio ante el estrés quirúrgico y la revascularización coronaria en relación con los parámetros EPCs y MVs en 5 tiempos desde el momento previo a la revascularización quirúrgica hasta 48 horas después, y comparar dichos valores con los pacientes sanos.



OBJECTIVES

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Objectives

In this study we have included patients scheduled for coronary artery bypass in order to observe the influence of coronary surgery on the number of subpopulations of monocytes, especially those associated with cardiovascular risk. Subsequently, we study the effect of this surgery on the relationship between endothelial damage and repair capacity through the following objectives:

1. Assessment of peripheral blood samples drawn at 5 times: prior to surgery, at the time of surgery and at 4, 24 and 48 hours postoperatively. We also aim to determine the influence of coronary surgery on the number of CD14 ++ CD16- monocytes, CD14+CD16+ and CD14++CD16+ monocytes, the latter two being related to cardiovascular risk.
2. To analyze the behavior of hemodynamic parameters and biochemical markers in the same 5 times in these patients .

3. To observe the changes that exist in the three subpopulations of monocytes between coronary patients and patients with valvular disease during the same 5 periods of time and then to compare them to healthy control groups.
4. To determine the ability of coronary patients to repair the endothelium by quantifying endothelial progenitor cells (EPCs).
5. To assess the endothelial response to surgical stress and coronary revascularization in relation to EPCs and MVs parameters within the 5 times, from pre-surgical revascularization up to 48 hours afterwards, and compare these values with those of healthy subjects.
6. To assess whether the use of extracorporeal circulation has any effect on inflammatory parameters, endothelial damage and repair studied in patients undergoing coronary artery bypass.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Materiales y métodos

1. Sujetos de estudio.

Selección de pacientes

El estudio se realizó con 3 grupos de pacientes. El primer grupo de pacientes estaba diagnosticado de enfermedad coronaria aislada; un segundo grupo, formado por pacientes intervenidos de patología valvular sin enfermedad coronaria, y un tercer grupo formado por sujetos sanos sin factores de riesgo cardiovascular.

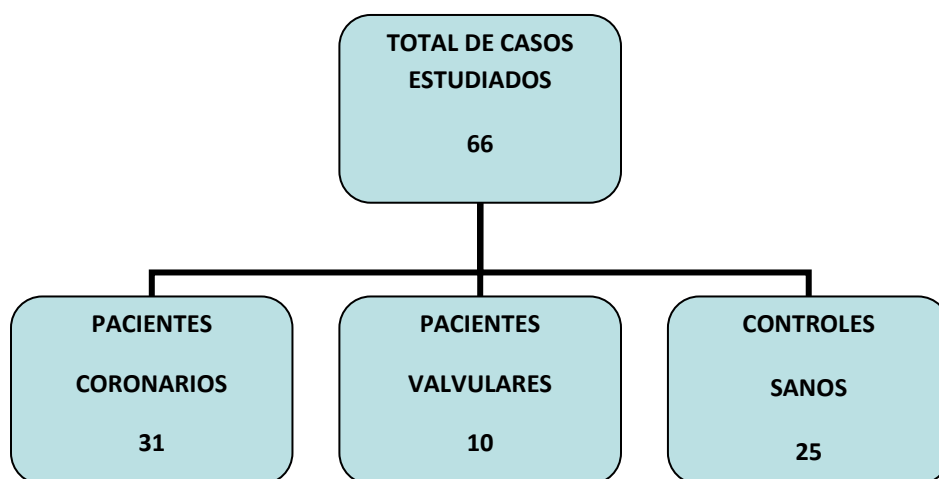
Para el primer grupo, se seleccionaron 31 pacientes que son ingresados para revascularización coronaria entre mayo del 2009 y mayo del 2010, previo diagnóstico con cateterismo cardiaco e indicación conjunta del servicio de Cardiología y Cirugía cardiovascular del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba; se excluyeron pacientes que requerían cirugía valvular o de aorta en el mismo procedimiento. Las intervenciones fueron realizadas por 4 cirujanos de nuestro hospital con amplia experiencia en cirugía cardíaca, y el objetivo de la cirugía coronaria era la revascularización completa usando arteria mamaria interna izquierda o derecha, arteria radial o vena safena interna según cada caso. Los 10 pacientes del segundo grupo, fueron intervenidos mediante una técnica de reemplazo valvular simple; descartándose previamente con el cateterismo diagnóstico la existencia de lesiones coronarias. Los sujetos del tercer grupo fueron reclutados entre los trabajadores sanos de nuestro entorno, previa explicación del estudio y la firma de consentimiento informado.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

El día previo a la intervención, los pacientes fueron informados de la participación del estudio y se incluyeron únicamente aquellos que firmaron el consentimiento informado de este (Anexo 1); y además, fueron informados de la intervención que se les iba a realizar (revascularización coronaria) , firmando posteriormente el correspondiente documento (Anexo 2: cirugía coronaria, Anexo 3: cirugía valvular).

En la historia clínica de ingreso para cirugía, se completa hoja de recogida inicial de datos (Anexo 4): Tomando: sexo, edad, peso y talla para cálculo del Índice de masa corporal (IMC), antecedentes como hipertensión, diabetes, dislipemia, fumador o no , vasculopatía periférica, Infarto agudo de miocardio previo, Insuficiencia renal crónica diagnosticada, vasculopatía periférica diagnosticada, medicación previa (tratamientos con Inhibidores de angiotensina, aspirina, dinitrato de isosorbide).

Los controles sanos fueron tomados de personas sanas sin riesgo cardiovascular que voluntariamente y con previa firma de consentimiento informado entraron a formar parte del estudio.



Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

1.2 Diseño del estudio y obtención de muestras

En el quirófano tras inducción anestésica e intubación orotraqueal, se inició la toma de muestras de sangre periférica que finalizó a las 48 horas tras la cirugía. Según el caso y por decisión del cirujano, en el caso de los pacientes coronarios se realiza la intervención con circulación extracorpórea (CEC) o sin ésta. Todos los pacientes valvulares fueron intervenidos con CEC e isquemia.

Tanto a los pacientes coronarios como a los valvulares se les extrajo 10 ml de sangre periférica que se depositó en 2 tubos de 5 ml con heparina lito.

Las muestras fueron tomadas bajo condiciones estándares en 5 tiempos (T) (Figura 12):

T1 (previo a intervención), T2 (15 minutos después de desclampaje aórtico o, en el caso de pacientes intervenidos sin isquemia, 15 minutos después de realizar bypass de arteria descendente anterior, T3 (a las 4 horas), T4 (a las 24 horas) y T5 (a las 48) después de finalizar la intervención quirúrgica / isquemia.

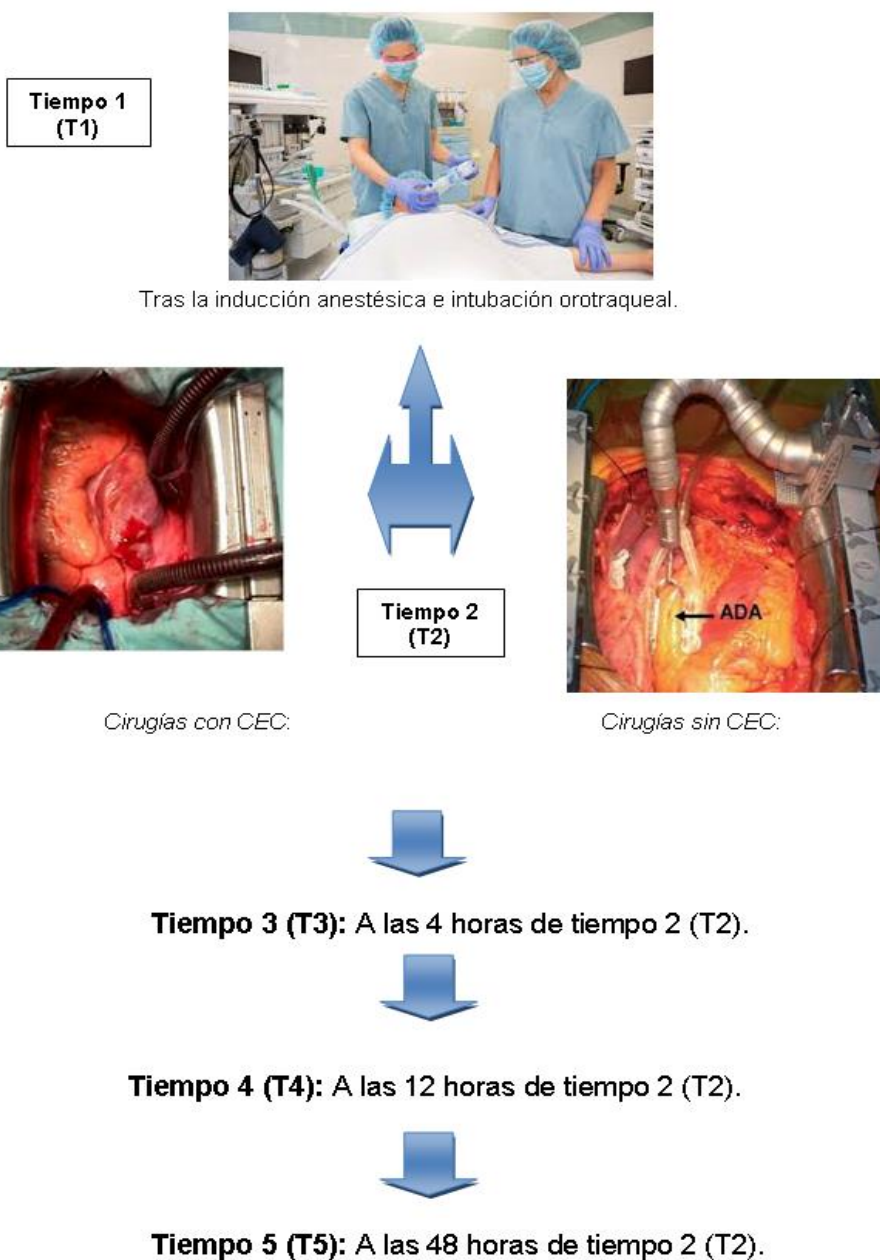


Fig 15. Tiempos de las Muestras tomadas.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Uno de los tubos de sangre se trasladó al laboratorio de investigación de nuestro hospital (IMIBIC) para su procesamiento, aislamiento de células y determinación de las subpoblaciones monocitarias, MVs y EPCs. El segundo tubo se llevó al laboratorio central de nuestro hospital para la determinación de los parámetros bioquímicos: creatinkinasa (CPK, normal: 30-200U/L), Troponina I (0.00-0.50 ng/ml), procalcitonina (0.05-0.50 ng/ml) y Reacción en cadena de polimerasa (PCR, 0.0-5.0mg/L)(Figura 13).



Fig 16. Procedimiento de toma de muestras.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

A los controles sanos se les extrajo 1 tubo de sangre con las mismas características para aislamiento y determinación de subpoblaciones de monocitos. En los controles sanos, no se realizó determinación bioquímica de reactantes de fase aguda, ni marcadores de daño miocárdico al no tener factores de riesgo cardiovascular y estar asintomáticos.

1.3 Parámetros clínicos

Historia Clínica:

Se extrajeron los siguientes datos a partir de la historia clínica (Anexo 4):

Datos demográficos del paciente

Sexo: Femenino / Masculino.

Peso: En Kilogramos, se toma el peso tomado el día de ingreso de los pacientes que es el día previo a la intervención, y en los controles sanos el día de la toma de la muestra.

Edad: En años.

Talla: En Centímetros, Tomado el día de ingreso en los pacientes y el día de la toma de muestras en los controles.

Superficie Corporal (S.C): Tomado en m^2 , es el cálculo de la superficie del cuerpo. Se utiliza la medida de Dubois y Dubois¹⁰⁵, consiste en calcular el área en metros cuadrados, peso en kilogramos y altura en centímetros.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Normal	1.7 m ²
Media Mujeres	1.6 m ²
Media Varones	1.9 m ²

Índice de masa corporal (IMC): También llamado Índice de Quetelet, es un modelo antropométrico que relaciona el peso (Kg) con la altura del individuo al cuadrado (m²).

$$\text{IMC: } \text{Peso} / \text{altura}^2$$

Se realizó la clasificación de IMC según la OMS (Organización mundial de la salud) Tabla 3.

Tabla 3. Clasificación según OMS (Organización Mundial de la salud) de IMC (índice de masa Corporal).

Clasificación	IMC (kg/m ²)	
	Valores principales	Valores adicionales
Infrapeso	<18.50	<18.50
Delgadez severa	<16.00	<16.00
Delgadez moderada	16.00 - 16.99	16.00 - 16.99
Delgadez aceptable	17.00 - 18.49	17.00 - 18.49
Normal	18.50 - 24.99	18.50 - 22.99
		23.00 - 24.99
Sobrepeso	≥25.00	≥25.00
Preobeso	25.00 - 29.99	25.00 - 27.49
		27.50 - 29.99
Obeso	≥30.00	≥30.00
Obeso tipo I	30.00 - 34.99	30.00 - 32.49
		32.50 - 34.99
Obeso tipo II	35.00 - 39.99	35.00 - 37.49
		37.50 - 39.99
Obeso tipo III	≥40.00	≥40.00

Adaptado de WHO, 1995, 2000 y WHO 2004

EuroSCORE :

Se realiza la medición de EUROSCORE como estratificación de riesgo quirúrgico con la siguiente tabla 4^{106,107,108}

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Tabla 4. Euroscore

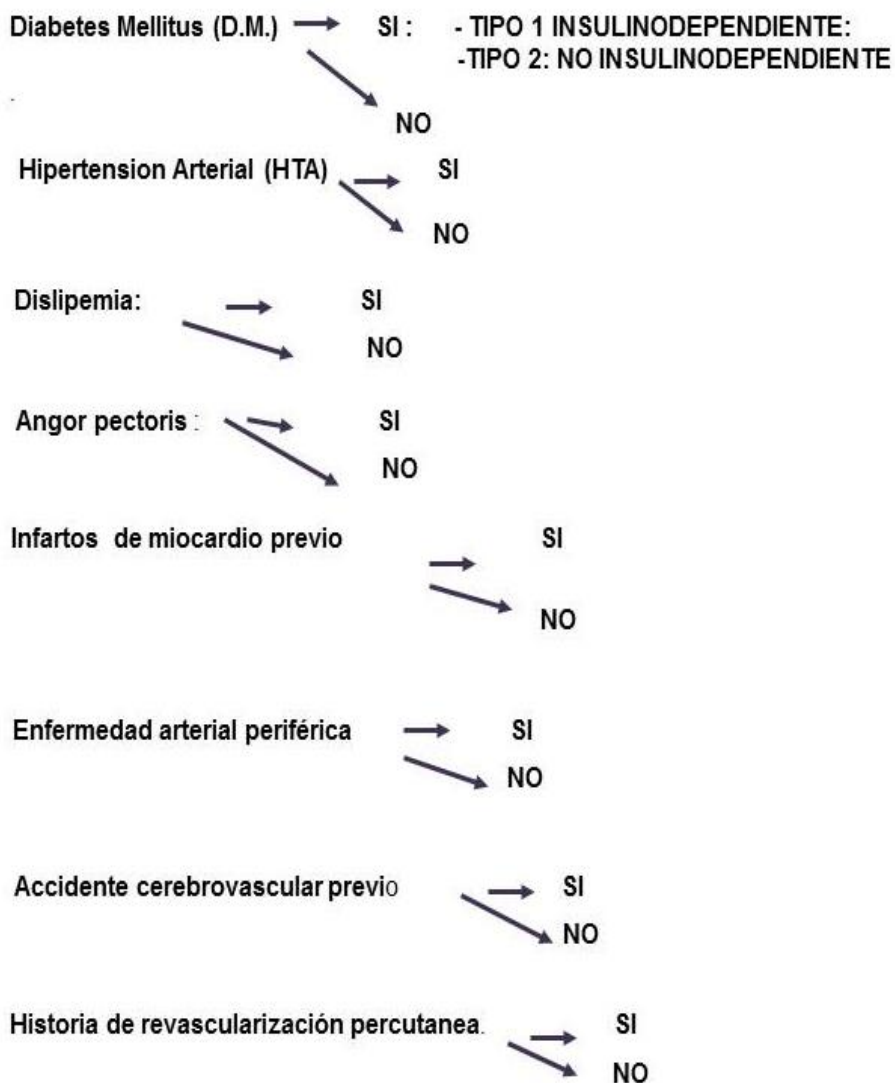
Variable (χ_i)	Peso aditivo	β
Edad	1 por cada 5 años > 60	0,0666354
Sexo femenino	1	0,3304052
Creatinina sérica > 200 $\mu\text{mol/l}$	2	0,6521653
Arteriopatía extracardiaca	2	0,6558917
EPOC	1	0,4931341
Disfunción neurológica	2	0,841626
Intervención cardiaca previa	3	1,002625
Endocarditis activa	3	1,101265
Estadio preoperatorio crítico	3	0,9058132
Angina inestable	2	0,5677075
FEVI < 30%	3	1,094443
FEVI 30%-50%	1	0,419643
Infarto de miocardio reciente	2	0,5460218
Presión sistólica AP > 60 mmHg	2	0,7676924
Intervención urgente	2	0,7127953
Rotura del septo interventricular	4	1,462009
Otra intervención realizada	2	0,5420364
Intervención sobre la aorta torácica	3	1,159787

AP: arteria pulmonar; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Rev EspCardiol. 2008;61:589-94. - Vol. 61 Núm.06 DOI: 10.1157/13123064.

Antecedentes:

Antecedentes de patología cardiovascular:



Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Pulmonares: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), Fumador o exfumador.

Tratamiento. Antihipertensivo, antigluceante y para dislipemia.

Pruebas complementarias preoperatorias

A todos los pacientes previamente a la intervención se les realiza:

Estudio analítico:

Hemograma completo con formula leucocitaria y recuento plaquetario.

Bioquímica consistente en la determinación de glucemia, urea, Creatinina y iones (sodio, potasio, calcio) y proteínas totales.

Pruebas de coagulación que incluye tiempo de ptotrombina, tiempo de trombina, tiempo de tromboplastina parcial activado y cuantificación de fibrinógeno, INR.

Electrocardiograma:

Se les realiza estudio electrocardiográfico estándar con 12 derivaciones : I,II,III,AVR,AVL,AVF,V1,V2,V3,V4,V5 y V6. . **Fig 15.**

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

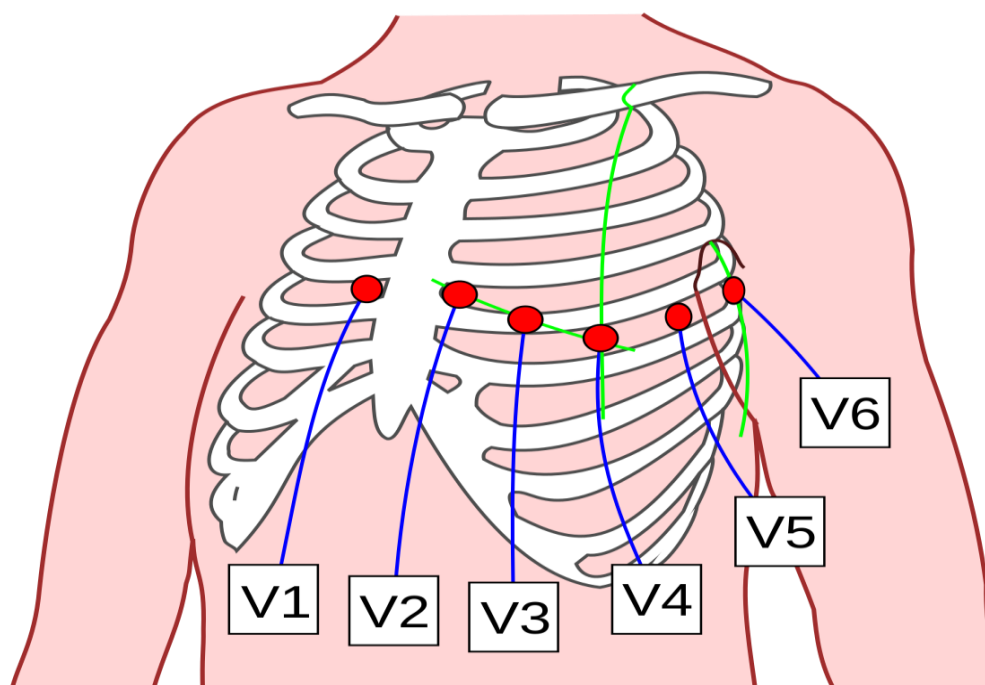
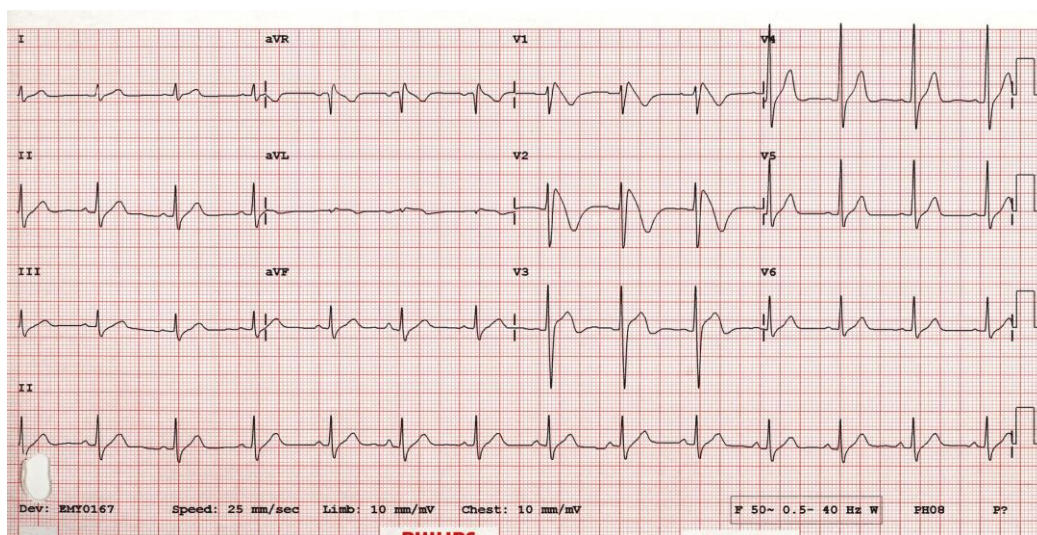


Fig 15. Electrocardiograma. Parte superior ejemplo y parte inferior derivaciones.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

✚ Radiografía de tórax :

Radiografía posteroanterior y lateral de tórax. **Fig16**

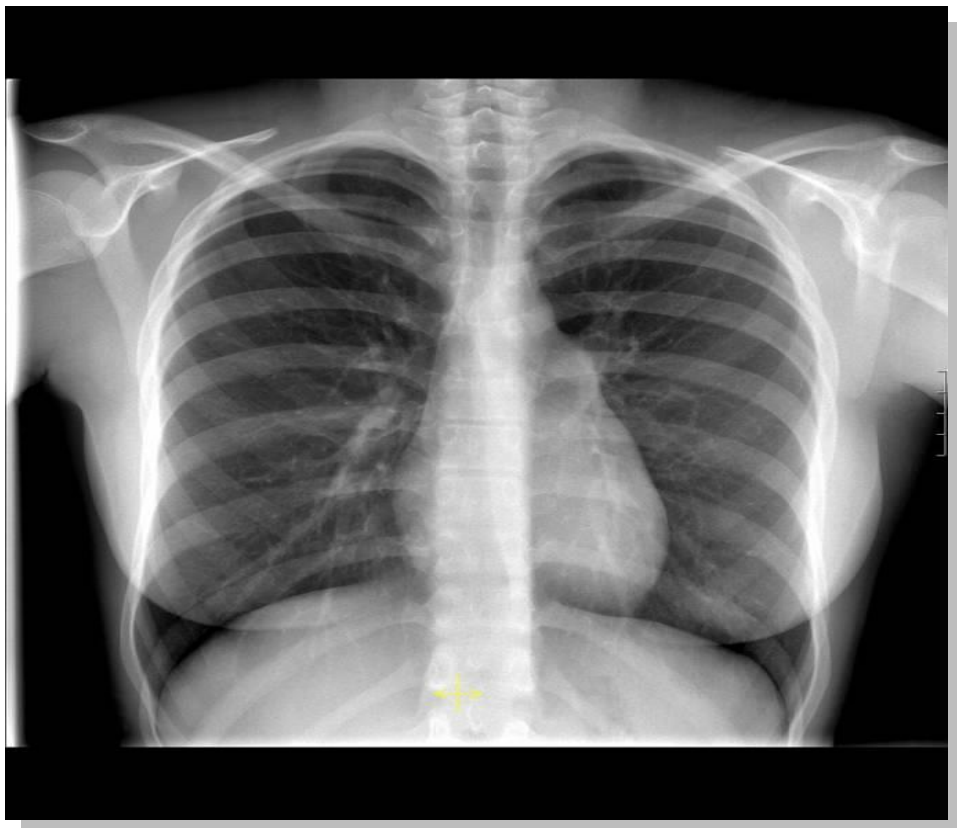


Fig 16.Radiografía de torax AP normal

✚ Ecocardiograma:

La ecocardiografía convencional (transtorácica) es un estudio por ultrasonidos que se realiza desde la pared torácica anterior (precordio), nos da información acerca de la anatomía y la función del corazón, valora la contractilidad del corazón, así como la presencia de enfermedad valvular importante.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

En algunos pacientes es necesario realizar eco transesofágica (ETE) para valorar correctamente las afecciones, ya que el esófago permite por su proximidad al corazón, el estudio de estructuras cardíacas posteriores.

La ecocardiografía transesofágica (ETE) en quirófano represento un gran avance en la monitorización cardiovascular, permite una visualización directa y rápida de la anatomía estructural del corazón y de los grandes vasos, así como diagnóstico de isquemia miocárdica, determinación de disturbios hemodinámicos agudos y posibilita al cirujano corregir las reparaciones inadecuadas, prevenir o tratar las complicaciones quirúrgicas antes que salga el paciente de quirófano, reduciendo la necesidad de nuevas operaciones y disminuyendo complicaciones en postoperatorio¹⁰⁹. **Fig 17**

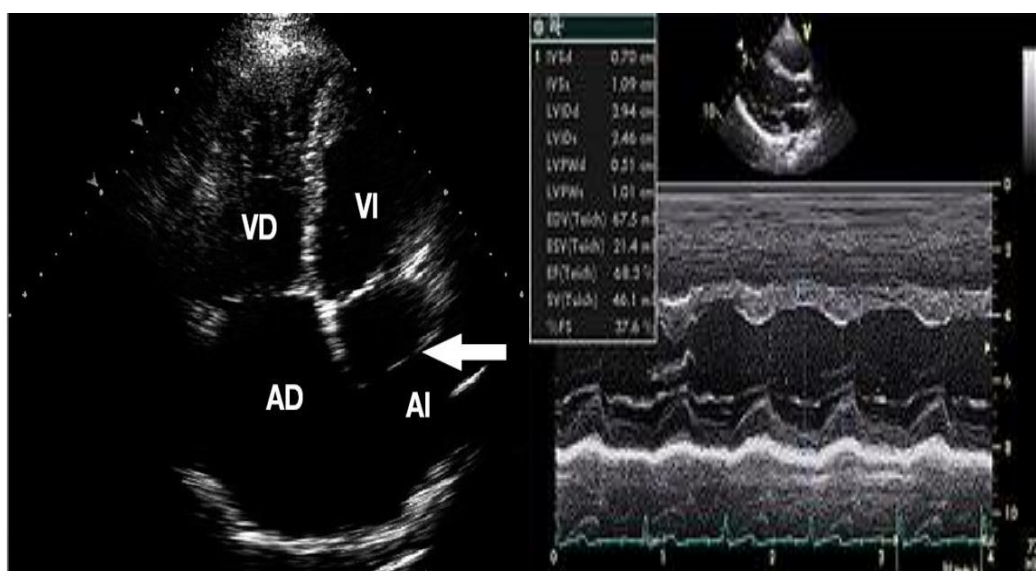


Fig 17. Ecocardiograma. Izq: 4 cámaras vista apical y derecho: corte en modo M.

🚦 **Estudio Angio hemodinámico (Cateterismo cardiaco diagnóstico) :**
Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

El cateterismo cardíaco continúa siendo el gold standard de la hemodinamia cardíaca. Permite la medición de las presiones de todas las cavidades, la cuantificación del gasto cardíaco, áreas valvulares y junto con a angiografía un conocimiento directo de las cavidades y arterias coronarias valora las estenosis y la posibilidad quirúrgica de estas lesiones.

Todos los pacientes fueron sometidos a estudio angiohemodinámico con ventriculografía izquierda y coronariografía. **Fig 18.**

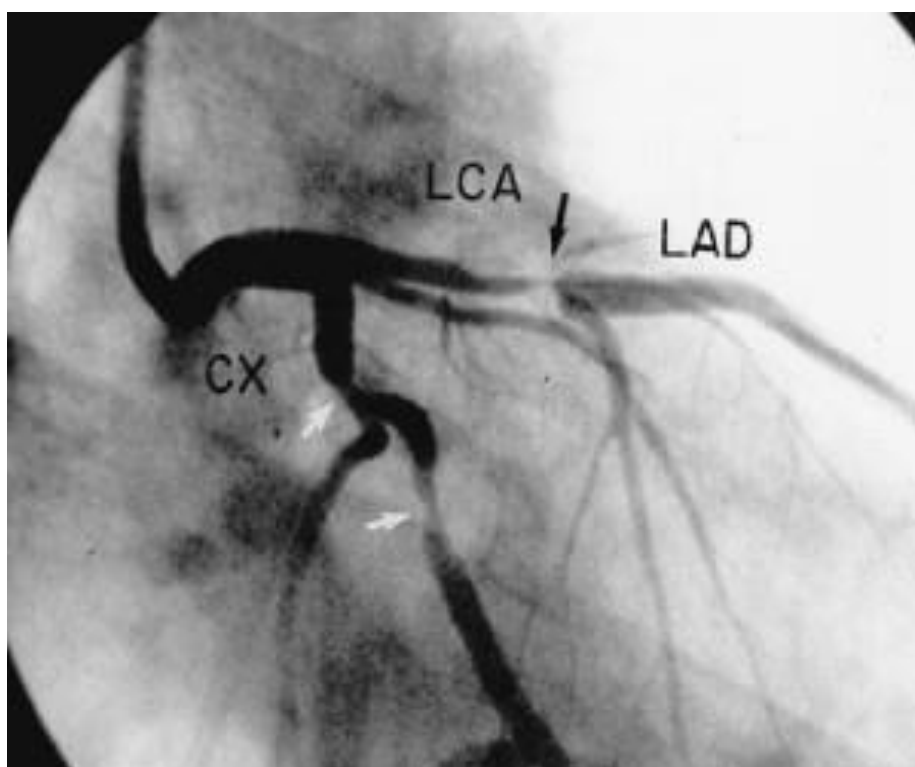


Fig 18: Coronariografía, muestra estenosis significativa en Decendente anterior.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

1.4 Anestesia y técnica quirúrgica:

Todos los pacientes recibieron una técnica anestésica estándar. Bajo anestesia general, se canalizó la arteria radial ó femoral para monitorización continua de la tensión arterial y un catéter venoso central de dos o tres vías mediante técnica de Seldinger en vena yugular interna o subclavia, para la administración de medicación y volumen; y para medir la Presión venosa central (PVC) se utilizó el transductor de presión al monitor Infinity® Delta Dräger. **Fig 19.**

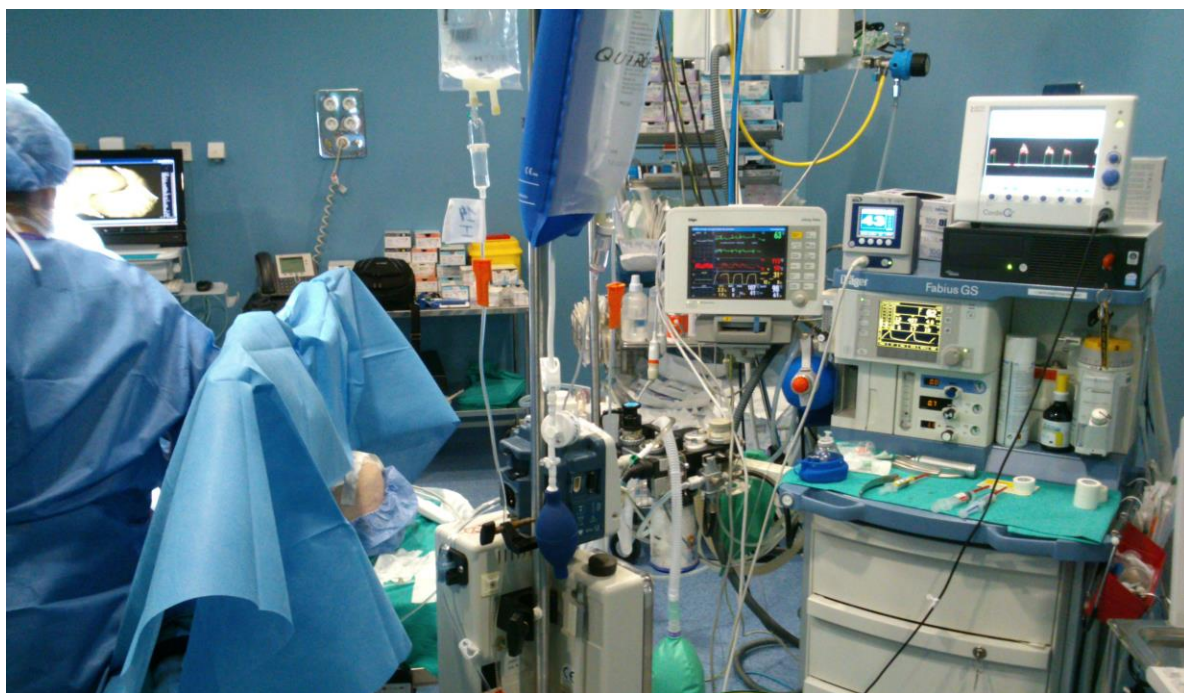


Fig 19. Monitorización continua del paciente.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

. Durante la intervención se realizó monitorización continua de los siguientes parámetros:

- ✚ Electrocardiograma
- ✚ Frecuencia cardiaca (FC).
- ✚ Tensión arterial sistólica (TAS)
- ✚ Tensión arterial diastólica (TAD)
- ✚ Tensión Arterial media (TAM)
- ✚ Presión venosa central (PVC)
- ✚ Saturación arterial de oxígeno (SaO₂)
- ✚ Frecuencia respiratoria
- ✚ Diuresis.
- ✚ Temperatura rectal y esofágica.
- ✚ Gases arteriales
- ✚ PTT

La ventilación mecánica en periodo de intervención se realizó con respirador Dräger Fabius® plus XL, adecuando a frecuencia, volumen corriente, tiempo inspiratorio y fracción inspirada de oxígeno al peso del paciente y a las gasometrías arteriales.

Durante el periodo intraoperatorio se realiza sistemáticamente gasometrías arteriales para control de iones y oxigenación estas fueron analizadas inmediatamente en Gasómetro GEM Premier 4000.

Tras esternotomía media en los pacientes coronarios se realizó inicialmente la disección de los injertos vasculares, arteria mamaria interna, vena safena interna y/o arteria radial del brazo no dominante, y posteriormente, se realizó heparinización con heparina sódica a una dosis de 3mg/kg para conseguir un tiempo de coagulación activado (ACT) superior a 480 segundos (Medtronic-Hemotec Hepcon system, Hemotec Inc., Englewood, colo., USA). Posteriormente en los pacientes coronarios en los cuales se utilizó circulación extracorpórea (CEC), y en los pacientes valvulares se realizó una canulación aórtica estándar con canulación venosa única para los enfermos coronarios y valvulares aórticos, y doble cava (superior e inferior) para los pacientes con intervenciones sobre válvula mitral.

Se entra en circulación extracorpórea se utiliza la maquina de circulación extracorporea Stöckert S5, Heart-lung machine, München, Germany. Con bomba centrifuga (Medtronic, Bio-Medicus Inc.,MN,USA) y oxigenador de membrana (Cobe CML-Excel membrane oxygenator, Cobe Laboratories Lakewood Colo.,USA dependiendo del flujo teórico del paciente tomado de su superficie corporal (S.C).

Fig 20.

Tras la isquemia, se infundió cardioplejia hemática fría de inducción rica en potasio (60 mEq/L) anterograda por raíz aórtica y/o retrograda con cánula en seno coronario, dicha solución cardiopléjica es compuesta 4 partes de sangre y 1

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

solución de cardioplejia, a través del sistema de administración de cardioplejia (Sorin Biomedical INC., Irvine, California, USA) . La administración de esta se realizó inicialmente vía anterograda a una presión de perfusión no superior a 250 mmhg y tras la administración de 600 cc se comenzó la infusión vía retrograda a una presión no superior a 45 mmhg, con recuerdo cada 20 minutos, y en caso de enfermos coronarios después de anastomosis proximal de cada injerto se infundieron dosis de 300 cc de cardioplejia de recuerdo baja en potasio 20 mEq/L, a través del mismo injerto o por vía retrograda.

En los pacientes coronarios con CEC, las anastomosis proximales y distales de los injertos se realizaron en isquemia para conseguir una revascularización completa. Al finalizar la intervención, se retira el clamp aórtico, consiguiendo latido espontáneo del corazón en la mayoría de los casos y en los casos que presentan fibrilación auricular se realiza desfibrilación utilizando palas internas con choque de 30- 50 julios.

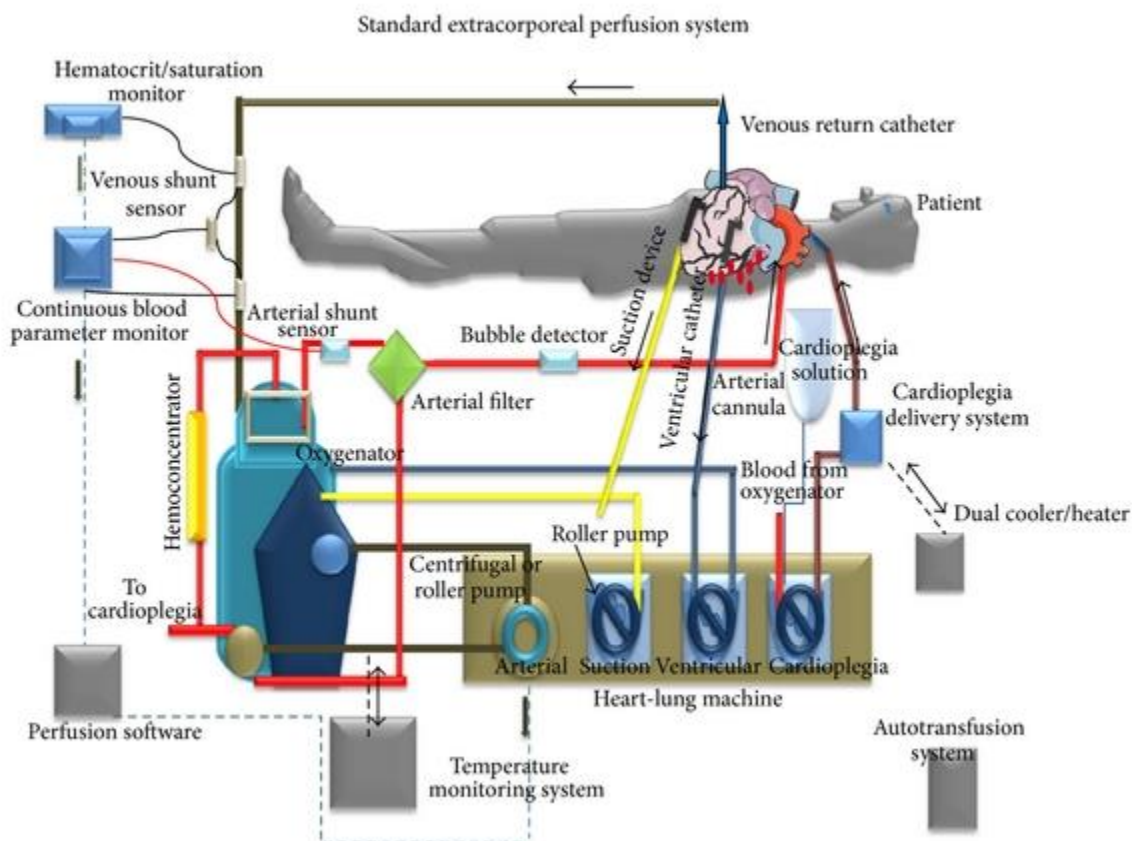


Fig 20. Circulación Extracorporea. Neusa Maria Heinzmann Bulow, Anesthesiology, vol. 2014, Article ID 905238.

La cirugía se realizó a una temperatura de 32°-34° con intercambiador de calor (Stockert Basic Heater- Cooler Unit, Munich, Alemania) y manta térmica.

En los pacientes sin circulación extracorporea la intervención se realizó en normotermia y tras la disección de injertos venosos y arteriales a utilizar, con

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

ayuda de estabilizador Octopus® y en algunos casos utilizando shunt intracoronario durante anaestomosis. **Fig 21.**

Tras la estabilización hemodinámica del paciente se procede a la salida paulatina de la circulación extracorpórea, utilizando inotrópicos necesarios y restableciéndose la ventilación mecánica.

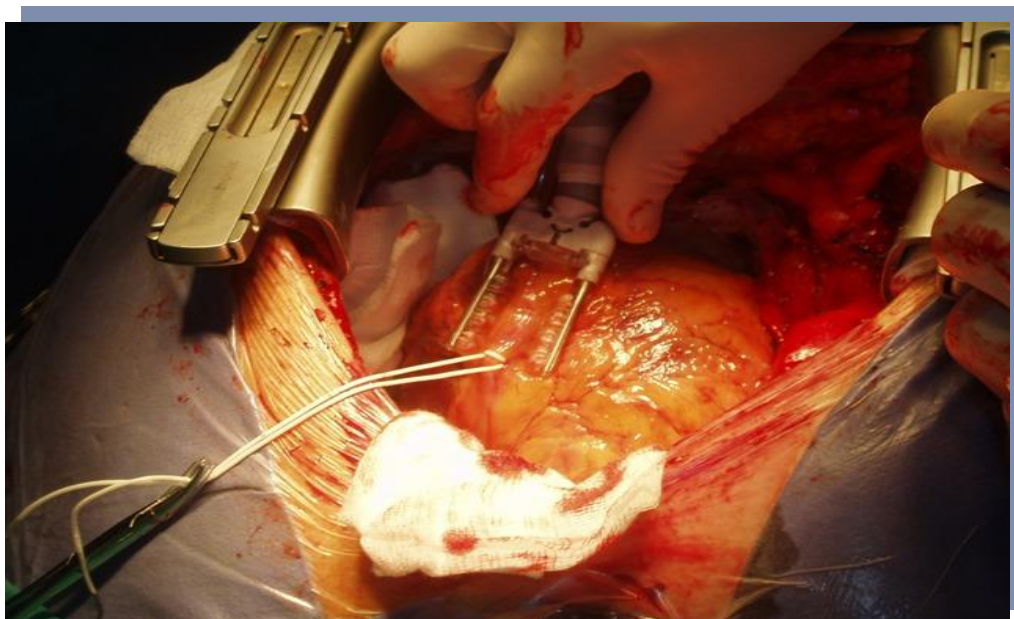


Fig 21. Bypass coronario. Uso de Octopus.

Se realiza reversión completa de la heparina utilizando sulfato de protamina, posteriormente decanulación aórtica y cava, hemostasia exhaustiva, se coloca cable de marcapasos temporal auricular en pacientes con ritmo sinusal y ventricular en todos los pacientes, cierre de esternón con alambres de acero y/o grapas de nytilol y finalmente traslado a la Unidad de Cuidados Intensivos.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

2. Métodos:

2.1 Aparatos, materiales de quirófano:

Los parámetros de monitorización hemodinámica fueron obtenidos por monitor Infinity® Delta Dräger.

Las muestras de gasometría arteriales fueron analizadas inmediatamente en Gasómetro GEM Premier 4000 (Bedford, Massachusetts, USA).

Respirador utilizado fue Dräger Fabius® plus XL.

Para el control de Tiempo de coagulación activado (ACT): Medtronic- Hemotec Hepcon system, Hemotec Inc., Englewood, colo.,USA).

Maquina de circulación extracorpórea : Stöckert S5, Heart-lung machine, München, Germany.

Sistema de cardioplejia (Sorin Biomedical INC., Irvine, California, USA) .

Bomba centrifuga (Medtronic, Bio-Medicus Inc.,MN,USA)

Oxigenador de membrana (Cobe CML-Excel membrane oxygenator, Cobe Laboratories Lakewood Colo.,USA

Intercambiador de calor (Stockert Basic Heater- Cooler Unit, Munich, Alemania).

Estabilizador miocárdico Octopus® Medtronic

2.2. Aparatos, materiales de laboratorio y reactivos

Centrifuga Megafuge 1.0 R (Heraeus, Sepatech).

Microscopio invertido Zeiss (Captair®).

Citómetro de flujo: FACSCalibur de Becton-Dickinson, San José California, USA,

Espectrofotómetro Power Wave XS microplate reader (Biotek, VT, USA)

Placa de contaje celular de Neubauer. Cristales cubreobjetos.

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Tubos FACS para citometría (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ. USA

Thermomixer 5436 (Eppendorf, Netheler, Alemania).

Congelador – 80°C modelo U-410 (New Brunswick)

Tubos Eppendorf de 1,5ml.

Guantes estériles, tubos universales estériles de 10ml, jeringas de 2, 5, 10 y 20 ml, agujas, pipetas Pasteur de 3ml, pipetas automáticas de 0,5-5, 5-50, 50-200 y 1000µl, gradillas.

Solución salina tamponada con fosfato (PBS, GIBCO BRL. Life Technologies®).

Agua destilada apirógena Vitulia.

Anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos: M5E2 frente a la molécula CD14 conjugada con *peridin chlorophyllprotein* (PerCP) y, el MAb 3G8 frente a la molécula CD16 conjugada con *fluorescein isothiocyanate* (FITC). Ambos de Becton Dickinson Flow Count Calibrator beads (Beckman Coulter, Marsella, Francia). Facs Lysing (Pharmingen, San Diego, CA).

2.3 Determinación de parámetros de laboratorios:

Creatinincinasa:

La determinación de la enzima creatinquinasa (CK) se puede realizar en suero o en plasma, En nuestro estudio se realiza del suero de la sangre tomada en cada uno de los 5 tiempos mediante procedimiento enzimático con el analizador Architect cSystems, de laboratorios Abbott, Alemania, mediante reacción que ocurren en presencia de NAC (N- acetilcisteina) utilizando kits específicos. Los Valores de referencia se expresan en U/L y responden a la gran variabilidad individual entre sujetos y son:

Hombres: Rango 30-200 U/L

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Mujeres: Rango 29-168 U/L

Troponina I

Se determinó mediante Kit de reactivos ARCHITECT STAT Troponina I que es un inmunoanálisis quimio luminiscente de micropartículas (Chemiluminescent Microparticle Immunoassay, CMIA) que en 2 pasos determina la presencia de Troponina I- cardíaca (c-TnI) en suero y plasma con el analizador óptico ARCHITECTi de laboratorios Abbott , Alemania. . Los valores se expresan en nanogramos por mililitro (ng/ml).

Proteína C Reactiva (PCR):

Se determinó mediante kit MULTIGENT CRP Vario [CRPVa] que es una determinación inmunoturbidimétrica cuantitativa de la proteína C-reativa en suero y plasma humanos con intervalos de valoración variable [CRP16, CRP32, CRP48] con el analizador ARCHITECT cSystems de laboratorios Abbott, Alemania. El rango para este kit con método estándar es de 0.02 -32.00 mg/dl (0.2 a 320 mg/dl). El valor de referencia es ≤ 0.5 mg/dl.

Procalcitonina:

Fue determinada mediante el kit VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT para la valoración de la procalcitonina humana en suero ó plasma (heparinato de litio) mediante el uso de técnica ELFA (enzyme-linked fluorescent immunoassay) con analizador Case C. Bio Merieux- Francia. Los valores normales:

Hombres: <0.05 ng/mL

Mujeres: >0.09 ng/mL..

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

2.4 Determinación de subpoblaciones de monocitos en sangre periférica

La determinación de las subpoblaciones de monocitos de sangre periférica se realizó utilizando citometría de flujo^{110,111}.

Para realizar el doble marcaje por fluorescencia, inmediatamente después de la extracción de sangre, se eliminan los glóbulos rojos utilizando el método de sangre total. Con este procedimiento se consigue obtener todos los leucocitos de sangre periférica, eliminando la posibilidad de perder algunas células por el uso alternativo de otros métodos que utilizan gradientes de densidad para la separación de células. Paralelamente se realiza el marcaje utilizando concentraciones saturadas de anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos específicos frente a las moléculas que definen el fenotipo de subpoblaciones de monocitos: CD14 y CD16. Se utilizaron 50 microl de sangre periférica total obtenida en tubos de heparina litio. La muestra fué incubada durante 30 minutos a 4°C con un mAbs frente a la molécula CD14 conjugada con *peridin chlorophyllprotein* (PerCP) y, simultáneamente con el MAbs frente a la molécula CD16 conjugada con *fluorescein isothiocyanate* (FITC).

El análisis cuantitativo se realizó en un citómetro de flujo FACSCalibur, adquiriendo 200.000 eventos por muestra. Los datos fueron analizados utilizando el software CellQuest (Becton Dickinson). El control negativo (valor cero) es el valor obtenido con los anticuerpos anti-isotipo y representa la fluorescencia no específica. Cada resultado (un valor único) fue la media de tres determinaciones independientes de la misma muestra.

Para el análisis de las muestras se realizó una región donde se incluyen todos los monocitos en función de sus características de tamaño (forward scatter, FCS) y complejidad celular (Side scatter, SSC), y a partir de esta región se cuantificaron

Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

las subpoblaciones en función de la intensidad del marcaje con los mAbs frente a las moléculas CD14 y CD16. El análisis representativo de los 3 subtipos de monocitos humanos estudiados se muestra en la siguiente figura (A) CD14⁺⁺CD16⁻; (B) CD14⁺⁺CD16⁺ and (C):CD14⁺CD16⁺⁺. Los rangos de MFI (canal medio de fluorescencia) de CD14 y CD16 son: CD14⁺: 200-700, CD14⁺⁺: 700-1000 y CD16⁻: 0-300 CD16⁺: 300-1000. Fig 22.

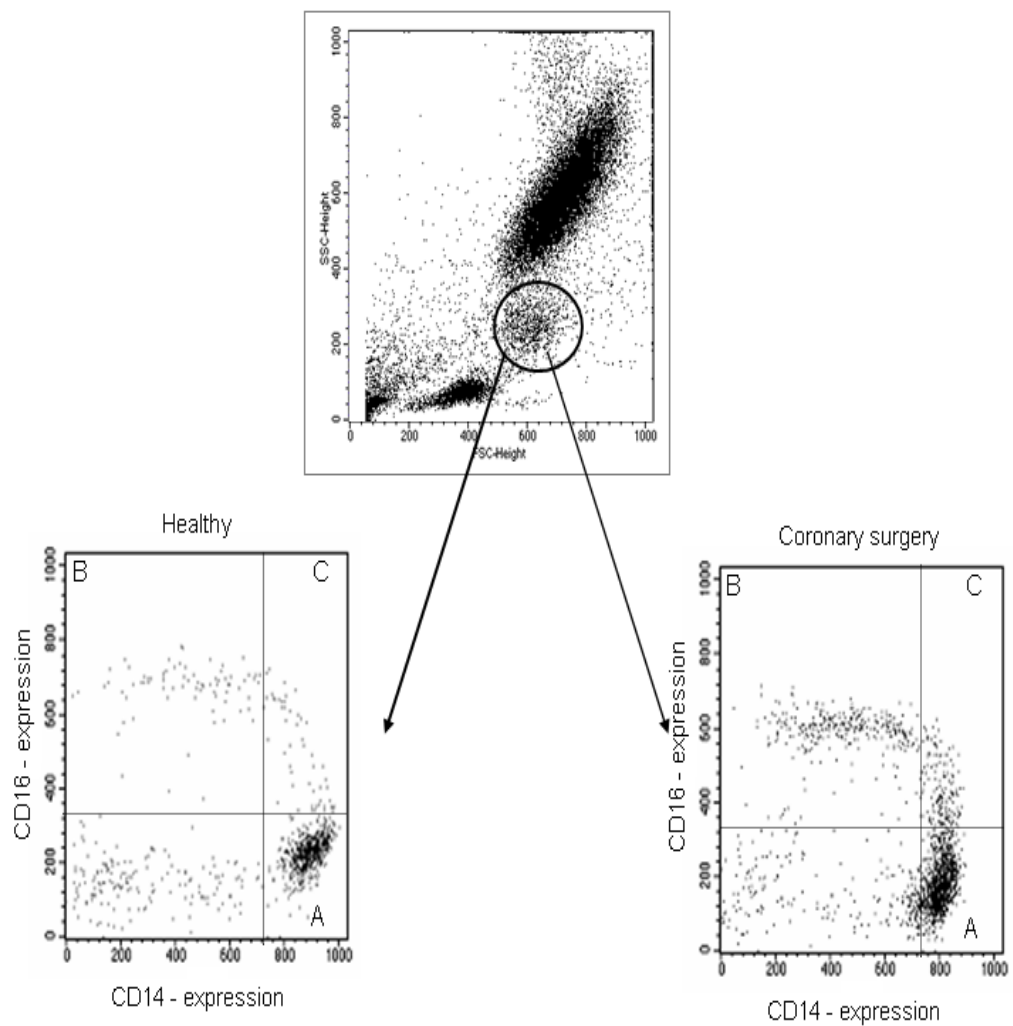


Figura 22. Los rangos de MFI (canal medio de fluorescencia) de CD14 y CD16 son: CD14+: 200-700, CD14++: 700-1000 y CD16-: 0-300 CD16+: 300-1000. Abajo izquierda: Controles Sanos y abajo derecha: Pacientes coronarios.

2.5 Determinación de células progenitoras endoteliales (EPCs)

Inmediatamente después de la extracción de sangre, 100 microl de sangre total se incubaron con anticuerpos monoclonales anti-CD133 marcado con phycoerythrin (PE) (AC133 PE, MACS Miltenyc Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), PE-cyanin 7-labeled anti-CD34 (no. 25-0349-42, eBioscience, San Diego, CA), and FITC-labeled anti-VEGF receptor 2 (VEGFR2; FAB357F, R&D Systems Europe, Abingdon, UK), durante 30 min en la oscuridad a 4 ° C o los controles de isotipo correspondientes. Los eritrocitos se lisaron con FACS Lysing solution (BD Biosciences) durante 10 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Las células fueron lavadas en PBS con 2% de human serum albumin antes de análisis de citometría de flujo (Beckman Coulter). El número de EPCs se definió como los eventos que fueron triples positivos para CD133, CD34, y VEGFR2.

2.6 Determinación de Microvesículas *MVs* (CD31 / anexina V) en plasma.

El plasma libre de plaquetas se obtuvo a partir de sangre total por centrifugación a 1500 g durante 10 min a temperatura ambiente seguido de una centrifugación adicional a 13.000 g durante 20 min, Los pellets resultantes se almacenaron a -80 ° C hasta su uso. El día del análisis se resuspendieron y se incubaron con anticuerpo monoclonal PE anti-CD31 (Caltag Laboratories, Burlingame, CA) seguido de una incubación con FITC-anexina V de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Bender MedSystems). El control negativo se obtuvo utilizando anticuerpos anti-isotipo. Un volumen igual de Flow Count Calibrator beads (Beckman Coulter, Marseilles, France) se añadió. El análisis se realizó en un Coulter Cytomic FC 500 citómetro de flujo (Beckman Coulter, Fullerton, CA) utilizando el software CXP (Beckman Coulter). Cada resultado (valor individual) era la media de tres determinaciones independientes de la misma muestra.

3. Variables estudiadas:

3.1 Variables hemodinámicas:

1	Frecuencia cardiaca (FC) lpm.: Número de veces que se contrae el corazón en un minuto.
2	Tensión arterial sistólica (TAS)(mmHg): corresponde al valor máximo de la tensión arterial en sístole
3	Tensión arterial diastólica (TAD) (mmHg): corresponde al valor mínimo de la tensión arterial cuando el corazón está en diástole o entre latidos cardíacos.
4	Tªperiférica (°C) Evaluar la eficiencia de la regulación térmica que se presenta en el cuerpo humano en función de los cambios en la temperatura ambiental y la intensidad de la actividad realizada. Durante la cirugía la temperatura es medida a nivel rectal y esofágica.
5	Diuresis (ml/kg/h): Cantidad de orina por peso en un tiempo determinado

3.2 Variables de laboratorio:

8	CK (U/L): Creatin quinasa
9	Troponina –I (ng/ml)
10	Procalcitonina
11	PCR

3.3 Subpoblaciones de monocitos:

12	Monocitos CD14-CD16++
13	Monocitos CD14+CD16+
14	Monocitos CD14++CD16+

3.4 Determinación de Células endoteliales:

15 EPCs positivos para CD133, CD34, y VEGFR2

3.5 Determinación de Microvesículas:

16 MVs CD31 / anexina V en plasma

4. Análisis Estadístico

Nuestro estudio consta de dos partes.

4.1. Estudio transversal descriptivo:

En el que comparamos los niveles basales (valores pre-quirúrgicos) y los valores postquirúrgicos (a las 48h) de los 3 subpoblaciones de monocitos (CD14++CD16-, CD14+CD16+ y CD14++CD16+) de los pacientes ingresados para revascularización coronaria y pacientes ingresados para recambio valvular simple comparándolos con los controles sanos.

En el que comparamos los niveles basales (valores pre-quirúrgicos) y los valores postquirúrgicos (a las 48h) de microvesículas endoteliales (MVs) y células progenitoras endoteliales (EPCs) de los pacientes ingresados para revascularización coronaria y pacientes ingresados para recambio valvular simple comparándolos con los controles sanos.

4.2. Estudio longitudinal prospectivo

Seguimiento en 5 tiempos desde la inducción anestésica hasta el postoperatorio a las 48 horas, en el que se determinaron las 3 subpoblaciones de monocitos.

Seguimiento en 5 tiempos de MVs y EPCs desde la inducción anestésica hasta el postoperatorio a las 48 horas.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa PASW Statistics 19 (SPSS19). Los datos se expresan como media \pm desviación estándar (DE) para datos distribuidos normalmente o mediana y rango intercuartil (RIC) cuando los datos no siguen una distribución normal. Las comparaciones de los valores promedio entre ambos grupos (sanos y enfermos) se realizaron con pruebas t de

Student ó U de Mann- Whitney en función de su ajuste o no de una distribución normal; los datos de seguimiento (T1, T2, T3, T4 y T5) se analizaron con ANOVA de medidas repetidas, ó test de Friedman cuando fue necesario. Las relaciones entre subpoblaciones de monocitos y los niveles séricos de CPK, troponina, PCR y procalcitonina se evaluaron mediante correlaciones bivariadas (coeficiente r de Pearson ó rho de Spearman, según la normalidad); valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

RESULTADOS

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

RESULTADOS

1. Características de los pacientes:

Los pacientes coronarios incluidos en el estudio fueron reclutados de los pacientes ingresados para revascularización coronaria en un periodo de tiempo comprendido entre mayo de 2009 y mayo del 2010. Para objetivar que los resultados no eran debidos a la cirugía cardíaca sino a la revascularización miocárdica, se incluyó un grupo de 10 pacientes para recambio valvular aislado y 25 controles sanos asintomáticos sin riesgo cardiovascular con electrocardiograma normal. Una vez aplicados los criterios de exclusión, se incluyeron un total de 66 sujetos a estudio.

Las características demográficas y clínicas de la muestra estudiada (31 pacientes coronarios, 10 con enfermedad valvular y 25 sujetos sanos) se muestran en la tabla 4.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los controles sanos y los pacientes coronarios con respecto a edad ($55,9 \pm 4,9$ vs $64,1 \pm 9,1$ respectivamente, $p < 0,05$); pero no hubo diferencias en la edad de los pacientes con enfermedad valvular con respecto a los pacientes coronarios y controles sanos. No se encontraron diferencias significativas en relación al género ($p=0,508$) o al índice de masa corporal (IMC) (28 kg/m^2 en todos los grupos). Entre los pacientes intervenidos de cirugía coronaria, dos de ellos fallecieron en el tercer día del postoperatorio, uno por disfunción multiorganica y otro paciente por sepsis

(6,45% mortalidad). No hubo ningún fallecimiento entre los pacientes con enfermedad valvular.

A todos los pacientes se les realizó ecocardiograma y coronariografía diagnóstica antes de la intervención. Todos los pacientes coronarios tomaban previamente IECAS, aspirina y dinitrato de isosorbide. El 30% de pacientes valvulares tomaban estatinas. El promedio de riesgo de EuroSCORE II en los pacientes coronarios intervenidos fue de $3,5 \pm 1,7$, mientras en los pacientes valvulares fue de $2,8 \pm 1,3$. Los pacientes coronarios presentaban alta prevalencia de factores de riesgo cardiovascular; más de la mitad eran diabéticos (51,6%), el 81,6% eran hipertensos y el 67,7% tenían dislipemia (67,7%); mientras que solo el 30 % de los pacientes valvulares tenían dislipemia y ninguno tenía ni diabetes ni hipertensión arterial.

La intervención quirúrgica se realizó con CEC (ONCAB) en la mayoría de los pacientes coronarios (71,9%), y en el 100% de los pacientes valvulares. En el 96,4 % de los pacientes coronarios se utilizó arteria mamaria interna con o sin otros injertos venosos o arteriales.

En el momento postoperatorio, 4 de los pacientes coronarios y ninguno en los pacientes valvulares necesitaron balón de contrapulsación. El promedio de estancia en Unidad de Cuidados Intensivos fue de 2,09 días para los pacientes coronarios y 1,5 días para los pacientes valvulares. Tabla 5.

	<u>CORONARIOS</u> N:31	<u>VALVULAR</u> n:10	<u>SANOS</u> n:25
Edad	64,1 ± 9,1	59,1 ± 11,7	55,9 ± 4,9
Hombres (n, n%)	25 (84,4%)	4 (40%)	19 (76%)
IMC (Kg/m²)	28,5 ± 5,16	28,4 ± 3,11	28,03 ± 1,9
EUROSCORE	3,5 ± 1.7	2,8 ± 1,3	n/a
<u>Preoperatorio</u>			
IAM previo	21 (67,7%) †	0	n/a
IRC	2 (6,4%) †	0	n/a
EPOC	5 (16,1%)	0	n/a
DIABETES	16 (51,6%)	0	n/a
Dislipidemia	21 (67,7%) †	6(60%)	n/a
HTA	25 (80,6%) †	6 (60%)	n/a
Enfermedad vascular periférica	5 (16,1%) †	0	n/a
<u>Intraoperatorio</u>			
CEC	22 (70,9%) †	10 (100%)	n/a
Tiempo CEC	109 min	104 min	n/a
Tiempo de isquemia	83,4 min	78 min	n/a
Numero de Bypass	2,39	n/a	n/a
Bypass mamaria	96,4%	n/a	n/a
<u>Postoperatorio</u>			
Días UCI	2.09	1.5	n/a
Mortalidad	2 (6,45%) †	0	n/a

Tabla 5. Características de los sujetos estudiadas.

* Nivel de significancia estadística por test Student y Chi-cuadrado. † p<0.05 Coronarios vs Controles sanos.

2. Marcadores bioquímicos:

Los parámetros bioquímicos utilizados en el estudio fueron: Proteína C Reactiva (PCR) y procalcitonina como marcadores inflamatorios; CPK creatininfosfoquinasa y troponina I como marcadores bioquímicos de la isquemia del miocardio.

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los parámetros bioquímicos de los pacientes en los 5 tiempos recogidos.

Tabla 6. Niveles de los marcadores bioquímicos de los pacientes en los 5 tiempos.

Pacientes coronarios						
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	p*
PCR (mg/L)	4,7 ± 1,4	3,7 ± 0,9	31,5 ± 7 † T1,2,4,5	126 ± 11 † T1,2,3,5	189 ± 16 † T1,2,3,4	<0,001
CPK (U/L)	86 ± 19 † T3,T4,T5	179±24 † T3,T4,T5	458 ± 65	711 ± 109	558 ± 76	<0,001
Trop. I ng/ml	0,12 ±0,06	0,6 ± 0,14	7,9 ± 4	2,8 ± 0,5	2,3 ± 0,6	0,268
Procal. ng/ml	0,01 ± 0,2	0,09 ± 0,06	1,0 ± 0,3	3,8 ± 2	7,1 ± 3	0,09
Pacientes con reemplazo valvular						
PCR (mg/L)	3,9±1,9	19,3±14	112,2±14,4 †T1,T2	156,3±28 †T1,T2,T5	92,3±22 †T1,T4	0,001
CPK (U/L)	42±7 †T3,T4,T5	86,5±23 †T3,T4	472,2±70	607,5±126	332±70	0,001
Trop. I ng/ml	0,01 ± 0,001	1,6 ± 0,7	7,0 ± 2 †T2	5,2 ± 1,4 †T1,T2	2,9 ± 0,8	0,004
Procal. ng/ml	-0,04 ±0,006	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1	2,8±1,9	1,5±1	0,206

T: Tiempo de toma de muestra. Trop: Troponina, Procal: procalcitonina

*Nivel de significancia estadística por ANOVA de medidas repetidas

†: p<0.05 en comparaciones post-hoc según el factor tiempo (T1, 2,3,4 y 5).

La PCR aumentó significativamente en los pacientes coronarios a partir de T3 alcanzando un pico máximo en T5 ($p < 0,001$); y los pacientes valvulares presentaron un pico en T4 que disminuyó en T5 de forma significativa ($p: 0,001$). La CPK en pacientes coronarios se incrementó en T2 y en T3, con punto máximo en T4, disminuyendo significativamente en T5 ($p < 0,001$); y en los pacientes valvulares se comportó de forma similar. La troponina I no presentó cambios significativos en los pacientes coronarios, sin embargo en los valvulares tiene su mayor aumento en T3, con descenso hasta T5 ($p < 0,004$). La procalcitonina no presentó diferencias significativas en pacientes coronarios ni en los valvulares ($p: 0,09$ y $p: 0,21$ respectivamente).

Al considerar la influencia del factor CEC en los pacientes, los valores bioquímicos de PCR, CPK, Procalcitonina y troponina I, no mostraron diferencias estadísticamente significativas a lo largo del tiempo, siendo similares en los pacientes intervenidos con y sin CEC (Fig. 23).

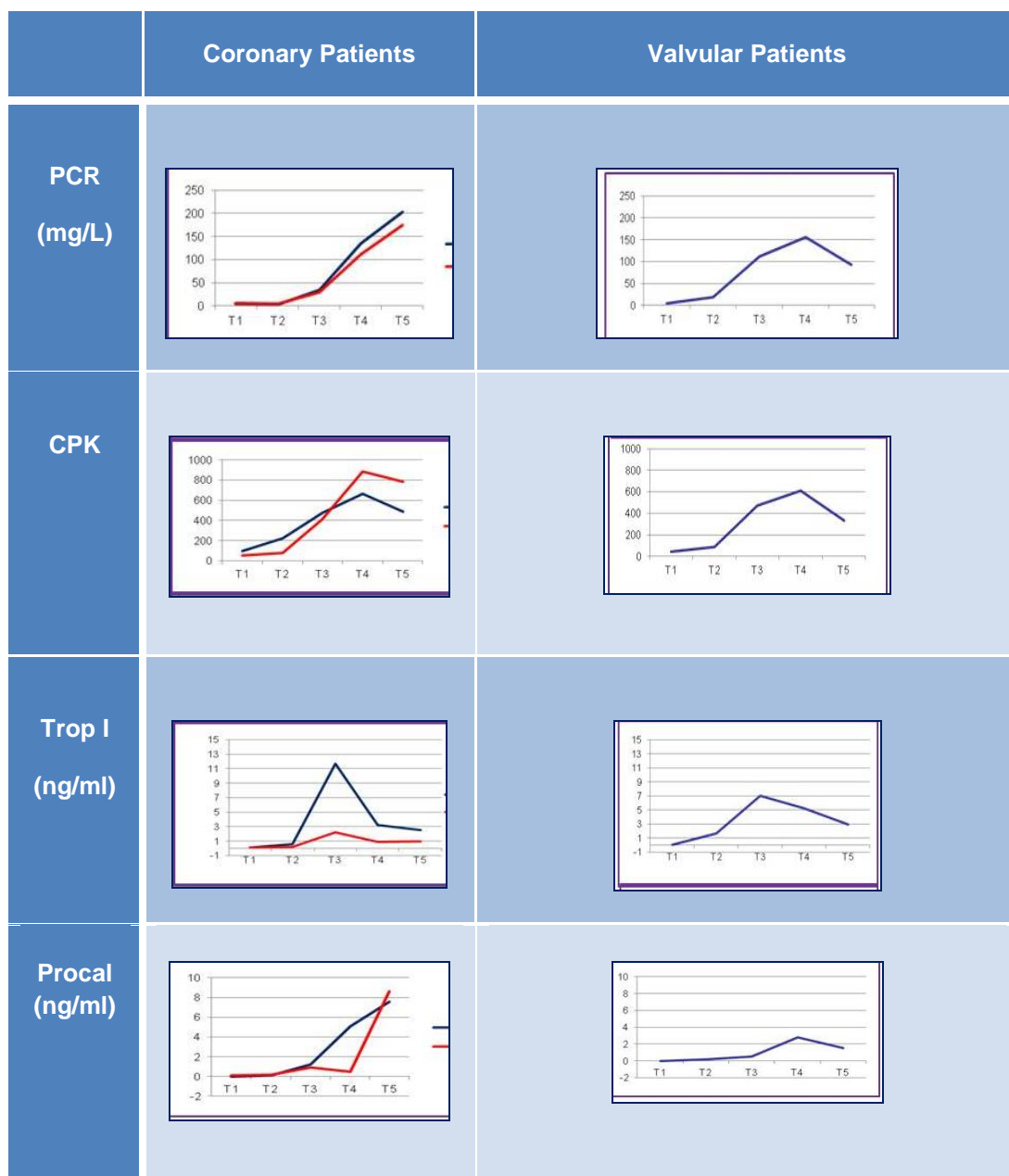


Fig. 23. Diferencias de parámetros bioquímicos coronarios con CEC (CPB) y sin CEC vs valvulares.

3. Monocitos:

La caracterización fenotípica de las subpoblaciones de monocitos en los 5 tiempos obtenidos de sangre periférica de los pacientes CABG y remplazo valvular se indican en la tabla 7.

En los pacientes sometidos a cirugía coronaria, los porcentajes de monocitos CD14++CD16-, tras un descenso inicial en T2, aumentaron significativamente en T3 y se mantuvieron sin cambios hasta el final en T5 ($p=0,013$); en los pacientes valvulares, se incrementan significativamente en T4 ($p<0.001$), y descienden en T5.

Los monocitos CD14+CD16+ (monocitos inflamatorios) descendieron ligeramente en T2 en los pacientes de cirugía coronaria, y este descenso continuó hasta T5 siendo estadísticamente significativo con respecto a los anteriores ($p= 0.017$), mientras que en pacientes valvulares presenta una disminución no significativa a partir de T3 ($p<0.09$). Los valores basales de CD14++CD16+ (monocitos de riesgo cardiovascular) en los pacientes coronarios fué significativamente mayor en relación con los valvulares ($p<0.05$), luego se mantienen hasta T3, con descenso significativo hasta T5 ($p<0.001$); mientras que en pacientes valvulares los monocitos CD14++CD16+ descendieron en T2 y se recuperaron a partir del T3 manteniéndose hasta T5. Con una tendencia no significativa **Fig. 24**.

Tabla 7. Valores de subtipos de monocitos en pacientes coronarios y valvulares en los 5 tiempos.

		T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	p*
CD14++CD16-	C	46,7±1,8	44,5±2	47,3±1,8 † T2	46,2±1,9	46,2±1,6	0,013
	V	43±3,9	30,2±4	43±2	51,8±3,6 † T1,2,3,5.	43±2	<0,001
CD14+CD16+	C	5,3±0,7	5,4±0,5	4,2±0,3	3,7±0,4	2,8±0,3 † T2,3	0,017
	V	7,3±1,3	7,8±1,3	4,8±0,7	3,9±0,4	3,3±0,4	0,09
CD14+++CD16+	C	18,1±1,1 † T5	18±0,8	18±1,2 † T5	14,9±1,3	12,4±1,7 † T2,3	<0,001
	V	4,8±1,2	2,4±0,7	4,3±1	5,5±0,7	4,1±0,5	0,163

C: Pacientes coronarios ; V: Pacientes valvulares.

T1: En Inducción anestésica; T2: Durante la cirugía después de desclampaje aórtico o al finalizar el bypass de la mamaria interna. T3: 4 horas post-cirugía. T4: 24 horas post cirugía. T5: 48 horas post cirugía.

*Nivel de significancia estadística por ANOVA de medidas repetidas

†: p<0.05 en comparaciones post-hoc según el factor tiempo (T1, T2, T3, T4 y T5).

Pacientes Coronarios

Pacientes Valvulares

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

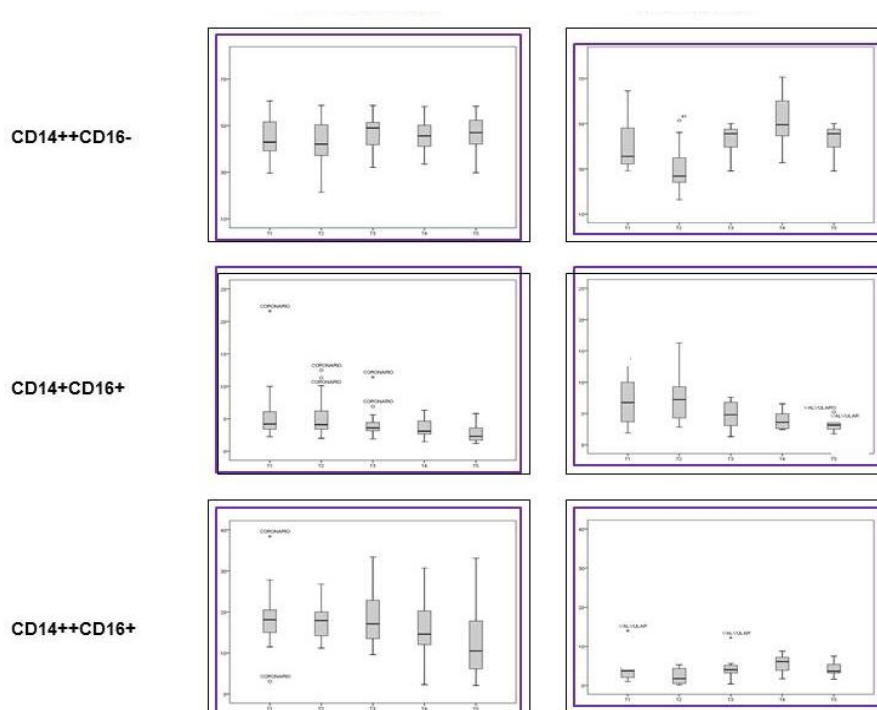


Fig. 24. Subpoblación de monocitos en coronarios Vs valvulares.

En la **Fig 25** se muestran los niveles promedio de monocitos en pacientes coronarios, comparados con pacientes valvulares y controles Sanos y observamos que los monocitos CD14++CD16- en los pacientes tuvieron un pico mínimo en intraoperatorio y pico máximo en el postoperatorio inmediato (las 4 horas), los monocitos CD14+CD16+ involucrados en la inflamación los controles sanos presentan niveles mucho menores comparados con los niveles basales de los pacientes con una disminución en el tiempo llegando a presentar niveles muy cercanos a los presentados por individuos sanos y al observar el ultimo grupo de monocitos CD14++CD16+ relacionados con riesgo cardiovascular los controles sanos y los pacientes valvulares tiene unos niveles mucho menores en relación con pacientes coronarios y con el tiempo los patients valvulares presentan leve variación sin embargo los pacientes coronarios a partir del postoperatorio presentan una reducción muy significativa .

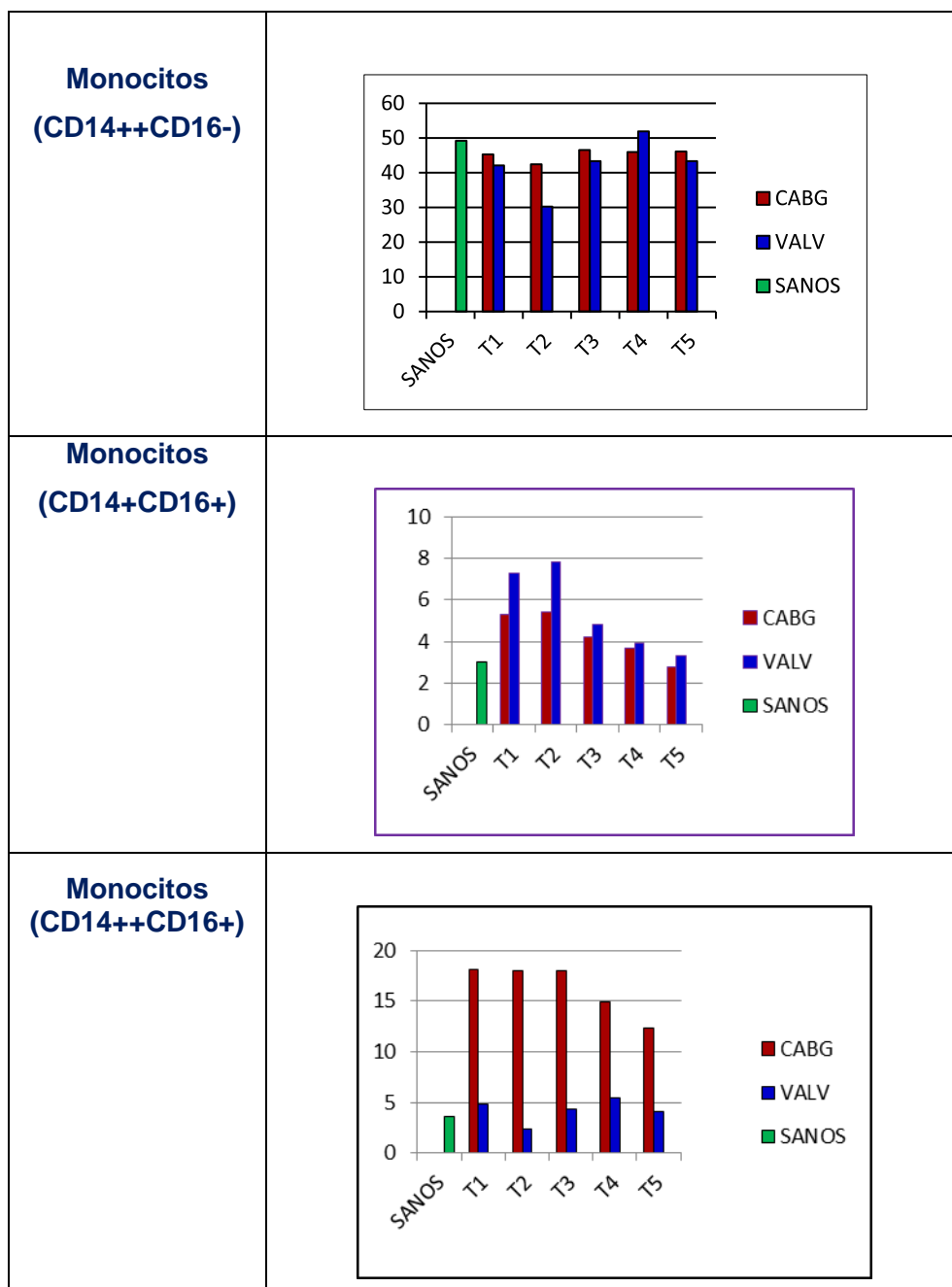


Fig. 25. Correlación de las 3 Subpoblaciones de monocitos en coronarios Vs valvulares y Vs sanos

La Tabla 8 muestra los niveles basales y finales de CD14++CD16- en los pacientes coronarios y valvulares fueron significativamente menores con respecto a los controles ($p < 0.05$); los porcentajes de monocitos basales y finales de CD14+CD16+ son significativamente mayores en coronarios con respecto a los sanos (5,3 vs 3,8; $p = 0.002$) y en pacientes valvulares a pesar de la gran diferencia con los pacientes sanos esta diferencia no es significativa (7,3 vs 3,8 respectivamente) mientras que al final del periodo evaluado disminuyeron en los 2 grupos de enfermos en los coronarios con diferencia estadísticamente significativa (2,8 vs 3,1 $p < 0.05$) mientras que en los enfermos valvulares esta diferencia no fue significativa con respecto a los controles (3,3 vs 3,1 sanos ; $p = 0,215$). Finalmente al observar los niveles de monocitos CD14++CD16+, los niveles basales de los pacientes están significativamente elevados con respecto a los controles (18,5 vs 3,8; $p < 0.01$). Sin embargo, los valores finales aunque descendieron respecto a los basales, permanecieron elevados respecto a los controles (12.6 vs 3.8; $p < 0.001$). La diferencia entre los niveles iniciales y finales de los pacientes valvulares no fueron significativas al relacionarlos con los pacientes sanos.

Tabla 8. Niveles de subtipos de monocitos en pacientes coronarios y valvulares vs controles sanos.

	Sanos	Pacientes	Pacientes (basal) †	Pacientes (final) ‡	P*
CD14++CD16-	54,7	Coronarios	46,7±1,8	46,2±1,6	†: 0,002 ‡: 0,001
		Valvulares	43±3,9	43±2	†: 0,001 ‡: 0,001
P			0,4	0,22	
CD14+CD16+	3,8	Coronarios	5,3±0,7	2,8±0,3	†:0,015 ‡:0,012
		Valvulares	7,3±1,3	3,3±0.4	†:0,331 ‡:0,215
P			0,2	0,3	
CD14++CD16+	3.1	Coronarios	18,1±1,1	12,4±1,7	†<0,001 ‡<0,001
		Valvulares	4,8±1,2	4,1±0.5	†<0,058 ‡<0,062
P			<0,001	0,05	

* Nivel de significancia por comparación de los valores (Controles Vs Coronarios y valvulares).

Comparación con los niveles basales (†) y niveles finales (‡).

Al considerar la influencia del factor CEC en los pacientes, no se encontraron diferencias significativas en las diferentes tipos de monocitos en los pacientes

coronarios intervenidos con y sin CEC (**Fig.26** izquierda). La figura derecha muestra la tendencia en pacientes valvulares, los monocitos inflamatorios y los de riesgo cardiovascular presentaron poca variación.

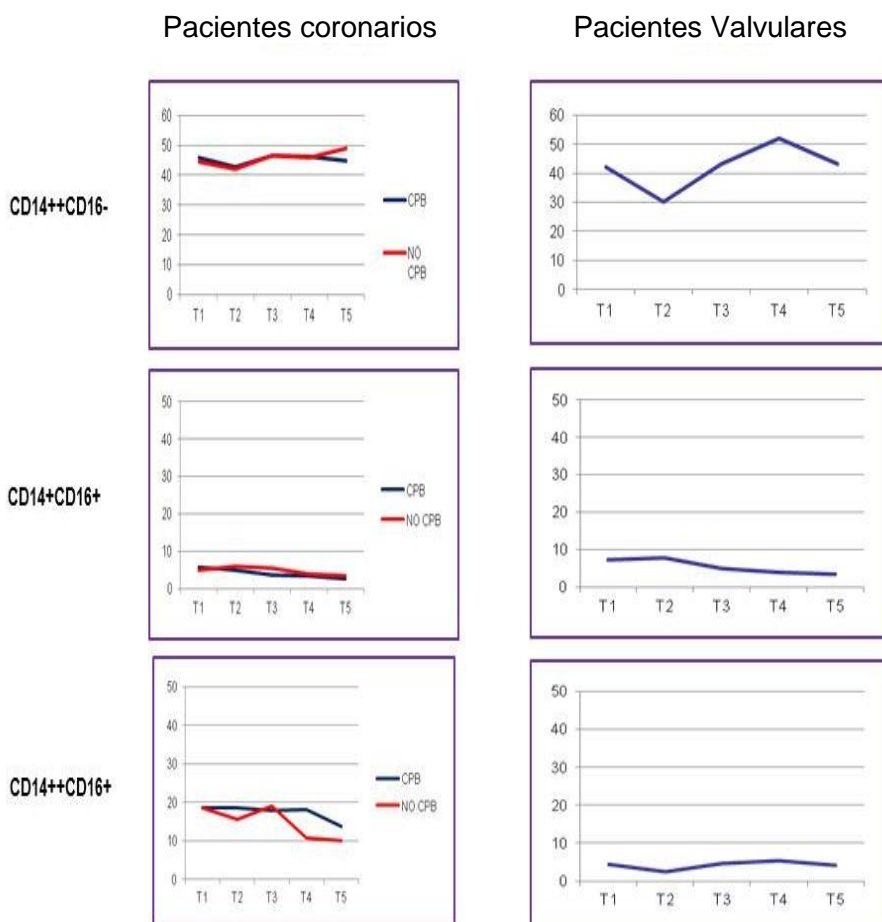


Fig. 26. Diferencias de los niveles de monocitos según uso (línea azul) o no de circulación extracorpórea (CEC) línea roja.

3.1.1 Correlación entre población de monocitos

En la **Fig. 27** se representan las correlaciones entre población de monocitos estadísticamente significativas entre poblaciones de monocitos en los pacientes coronarios:

1. En el tiempo T1, la población de monocitos CD14++CD16+ con CD14++CD16- tienen una correlación positiva entre sí con una ($r= 0,413$; $p= 0,021$) y entre los monocitos CD14+CD16+ y CD 14++CD16+ tienen una correlación negativa
2. Los monocitos CD14++CD16+ con CD14+CD16+ ($r= - 0,386$; $p= 0,032$) en el tiempo T1 tienen una correlación negativa entre sí.
3. En el tiempo 4 los monocitos CD14++CD16- con CD 14+CD16+ tiene correlación negativa con ($r= - 0,465$; $p= 0,010$) en tiempo 2.
4. Finalmente en el tiempo T4: La población de monocitos CD14++CD16+ con CD14++CD16- ($r= 0,399$; $p= 0,029$) su correlación es positiva.

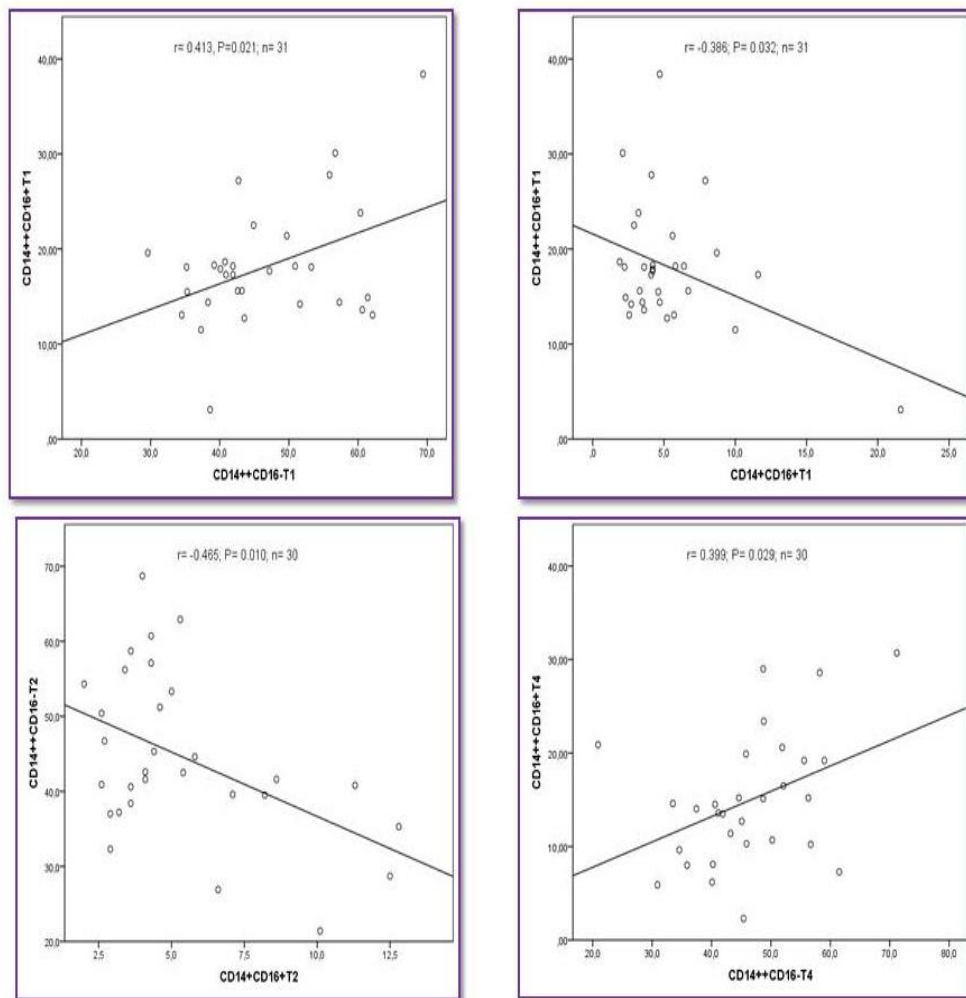


Fig 27 Correlación entre población de monocitos.

3.1.2 Correlaciones bivariadas monocitos con marcadores bioquímicos

Posteriormente se realizaron correlaciones bivariadas entre marcadores inflamatorios y bioquímicos teniendo en cuenta los diferentes tiempos y las asociaciones más relevantes. Estas fueron: En el tiempo T1 en los pacientes coronarios, CD14+CD16++ con Troponina I ($r=-0,357$; $p= 0,057$); en el tiempo T4, CD14++CD16- en los pacientes coronarios con PCR ($r= -0,322$; $p= 0,083$) y CD14+CD16++ en los pacientes coronarios con la procalcitonina ($r= 0,369$; $p= 0,049$).

4. Cambios en EPCs en los pacientes sometidos a cirugía coronaria

Al comparar los porcentajes de células progenitoras del endotelio EPCs (**Fig. 27**) en los enfermos sometidos a revascularización coronaria con respecto a los pacientes sanos observamos unos niveles iniciales significativamente más bajos $0,21 \pm 0,12$ % coronarios, $0,97 \pm 0,12$ % en controles $P<0,001$ (Tabla 9).

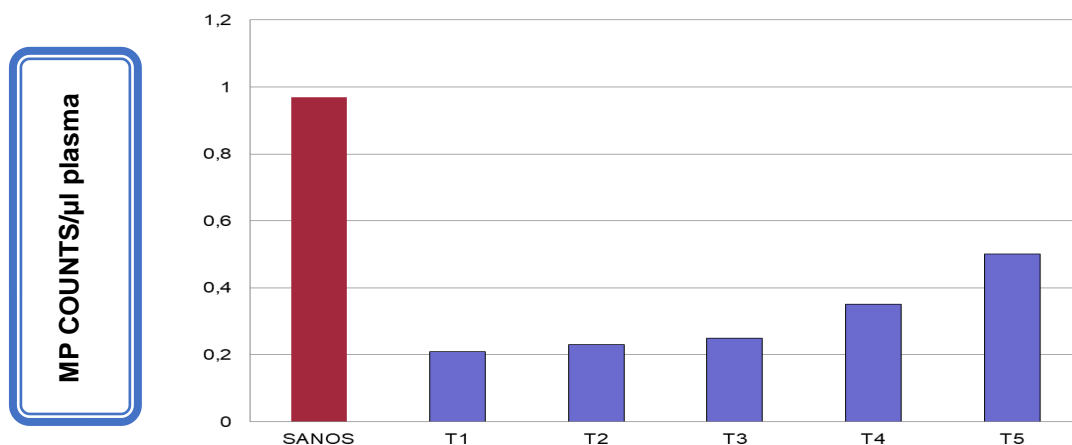


Fig 27. Células progenitoras endoteliales en pacientes coronarios Vs Sanos en los 5 tiempos.

La comparación entre los 5 tiempos de las células precursoras del endotelio (EPCs) (Fig 28), mostró que los porcentajes de EPCs ascienden de manera progresiva después de la cirugía hasta las 48 horas ($0,49 \pm 0,20$), alcanzando diferencias estadísticamente significativas entre el periodo intraoperatorio y postoperatorio inmediato (T2,T3, T4) y a las 48 horas postoperatorias (T5) ($p < 0,001$). Los porcentajes de EPCs en pacientes estudiados fueron inferiores a los observados en sujetos sanos durante todo el tiempo de estudio (Tabla 9).

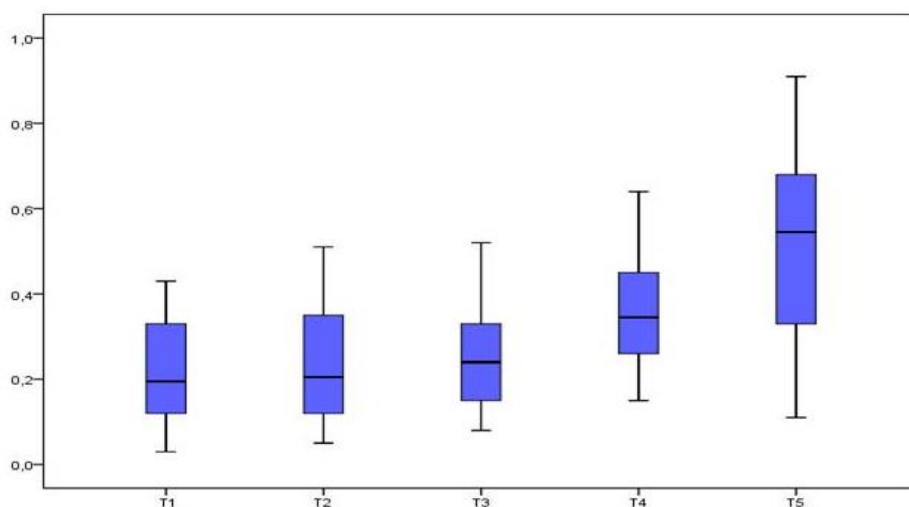


Fig 28. Células progenitoras de Endotelio (EPCs) VEGFR2 / CD133 / CD34 en 5 tiempos .

Tabla 9. Niveles de Células progenitoras endoteliales en pacientes coronarios Vs Controles sanos .

	Sanos	Pacientes (basal)	Pacientes (final)	P*
EPCs	0.97±0.1	0.21±0.02	0.5±0.04	P<0.001

EPCs: (VEGFR2/CD133/CD34): células progenitoras endoteliales

* Nivel de significancia por comparación de los valores (Controles Vs Coronarios)

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de las EPCs en los pacientes con enfermedad coronaria sometidos a CEC con respecto a los que no se utilizó CEC durante la cirugía (**Fig. 29**).

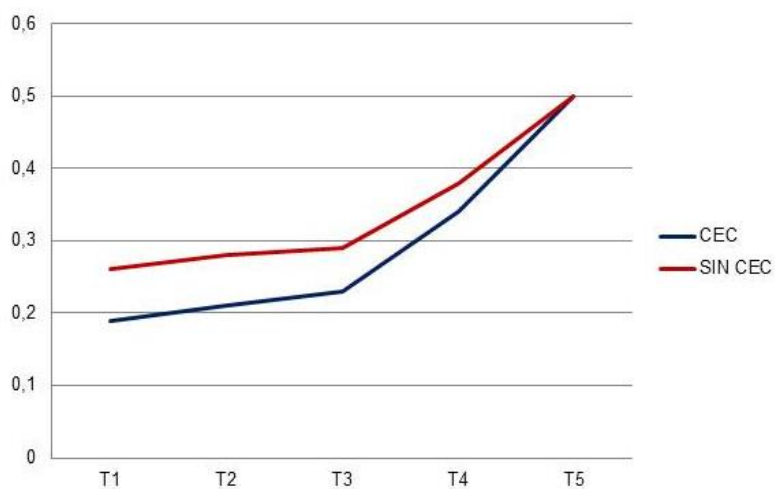


Fig 29 Células precursoras del Endotelio (EPCs) VEGFR2 / CD133 / CD34 en pacientes con CEC y sin CEC.

5. Concentración de Microvesículas endoteliales MVs (CD31 / Annexin V) en los pacientes con cirugía coronaria.

Los niveles preoperatorios de MVs en los pacientes coronarios estuvieron significativamente más elevados que en los sujetos sanos (175 ± 37 versus 53 ± 24 respectivamente; $p < 0,001$) (**Fig. 30**), y aunque disminuyeron a las 48 horas (161 ± 37) coronarios vs sanos; siempre se encontraron significativamente más elevados que en sujetos control ($p < 0,001$) (Tabla 10)

Tabla 10. Niveles de microvesículas endoteliales en pacientes coronarios Vs Controles sanos.

	CONTROLES SANOS	Pacientes (basal)	Pacientes (final)	P*
EMVs	53 ± 24	177.2 ± 6.8	161.5 ± 7.6	$P < 0.001$

EMVs : Microvesículas endoteliales (CD31/AnexinaV)

* Nivel de significancia por comparación de los valores (Controles Vs Coronarios)

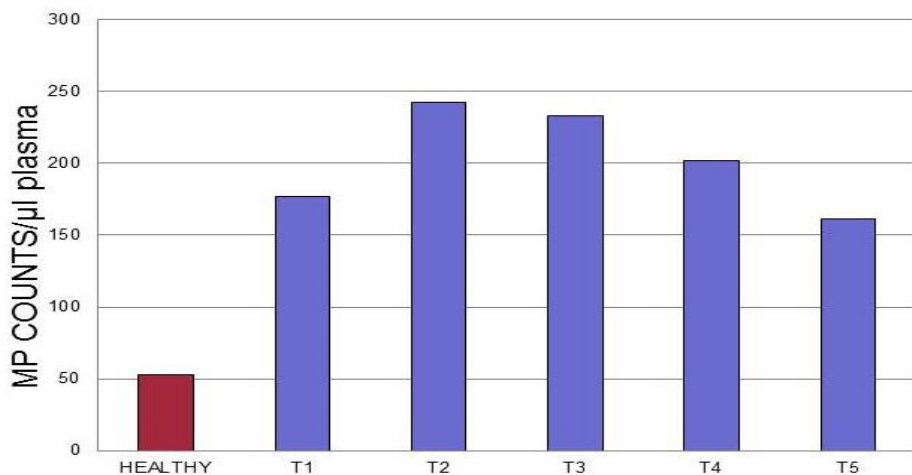


Fig 30. MV Endoteliales (MVs) en controles Vs Pacientes coronarios (CD31/ Anexina V).

Al realizar las comparaciones entre los 5 tiempos (**Fig. 31**), En el tiempo 2 (T2) hay un incremento de las MVs estadísticamente significativo ($p < 0,001$) siendo este el punto más alto de los 5 tiempos, con un posterior descenso paulatino en el resto de los tiempos $p < 0,05$, presentando a las 48 horas (T5) los niveles más bajos, incluso comparándolos con los valores iniciales $p < 0,001$.

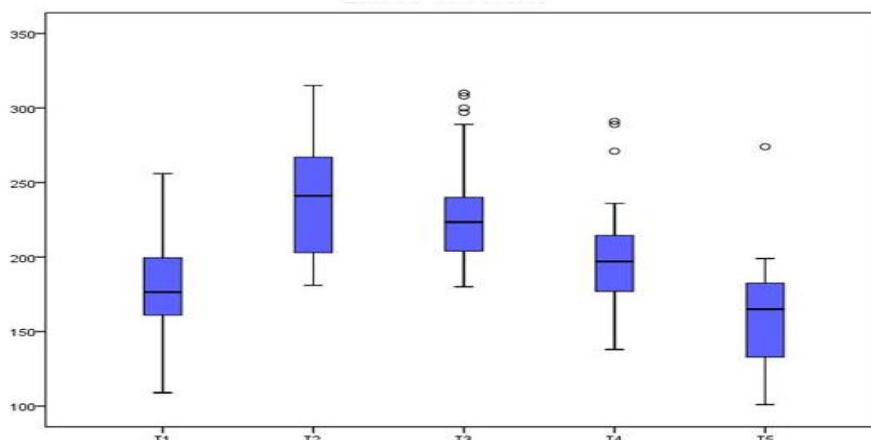


Fig 31. MV Endoteliales (MVs) (CD31/ Anexina V) en pacientes coronarios en 5 Tiempos

Cuando se comparó el efecto de la CEC sobre la cirugía en los pacientes coronarios (**Fig. 32**), no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de MVs en los pacientes con enfermedad coronaria sometidos a CEC con respecto a los que no se utilizó CEC.

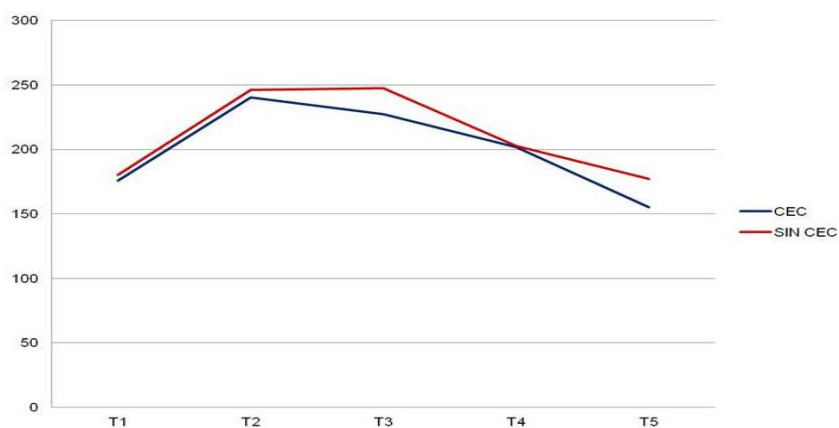


Fig 32. MV Endoteliales (MVs) (CD31/ Anexina V) en pacientes coronarios sin CEC y con CEC en 5 tiempos

6. Correlacion entre EPCs y MVs en los diferentes tiempos.

Cuando relacionamos los niveles de EPCs con lo de las MVs, observamos una relación lineal negativa muy significativa entre estos dos parámetros en el momento previo a la intervención (R:- 0.801, P<0,001)- **Fig 33**.

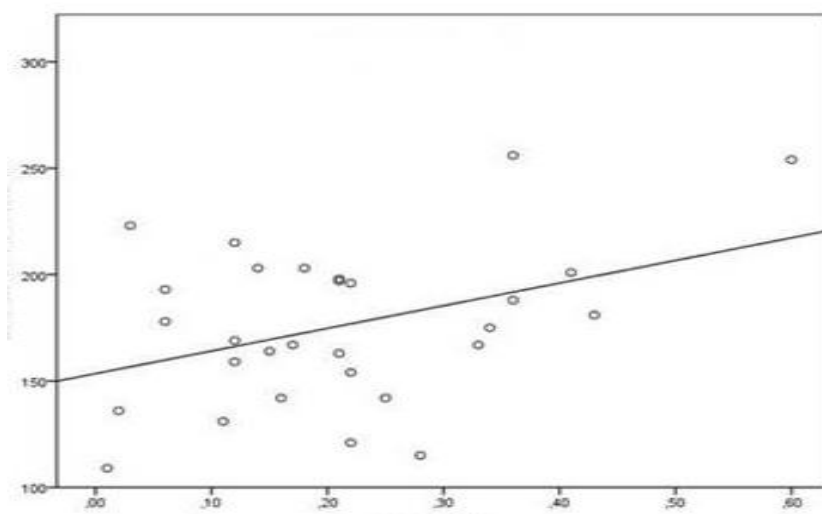


Fig 33 Correlación EPCs Vs MVs en Tiempo 1. Previo a la intervención. Horizontal MVs y vertical EPC.

7. Correlaciones bivariadas EPCs y MVs con marcadores bioquimicos.

Finalmente se realizaron correlaciones bivariadas entre EMVs y EPCs con respecto a los marcadores bioquímicos teniendo en cuenta los diferentes tiempos sin embargo no encontramos asociaciones significativas en ninguno de los tiempos estudiados. (**Tabla 11**).

Tabla 11. Correlaciones bivariadas EPCs y MVs con marcadores bioquímicos

	Tiempo	PCR	CPK	Troponina I	Procalcitonina
	T1	0,73	0,47	0,31	0,58
	T2	0,35	0,5	0,5	0,8
EMPCs	T3	0,9	0,4	0,5	0,2
p*	T4	0,1	0,9	0,86	0,96
	T5	0,3	0,7	0,94	0,9
	T1	0,55	0,43	0,6	0,28
	T2	0,9	0,8	0,45	0,12
MVs	T3	0,2	0,6	0,35	0,9
P*	T4	0,19	0,54	0,35	0,7
	T5	0,52	0,87	0,8	0,1

EPCs: (VEGFR2/CD133/CD34): células progenitoras endoteliales.

MVs : (CD31/AnexinaV) : Micro vesículas endoteliales

T1: En Inducción anestésica. T2: Durante la cirugía, después de desclampaje aórtico ó al finalizar el bypass de la mamaria interna a la arteria descendente anterior. T3: 4 horas post-cirugía. T4: 24 horas post cirugía, and T5: 48 horas post cirugía. PCR: proteína C reactiva.,

CPK: Creatinfosfoquinasa

p: Significancia bilateral observada según cada tiempo por coeficiente r de Pearson. Significativa $p < 0.05$

RESULTS

RESULTS

1. Patient characteristics:

Coronary patients included in this study were recruited from those admitted for coronary revascularization between May 2009 and May 2010. To objectify that the results were not due to surgery but rather cardiac myocardial revascularization, a group of 10 patients for isolated valve replacement and 25 healthy asymptomatic controls without cardiovascular risk with normal electrocardiogram were included. After applying the exclusion criteria, a total of 66 study subjects were included.

The demographic and clinical characteristics of the study sample (31 coronary patients, 10 with valvular disease and 25 healthy subjects) are shown in Table 12. Statistically significant differences between the healthy controls and coronary patients were found with regard to age ($55, 9 \pm 4.9$ vs 64.1 ± 9.1 respectively, $p < 0.05$); but there were no differences in age of patients with valvular disease with respect to coronary patients and healthy controls. No significant differences in gender ($p = 0.508$) or BMI ($28 \text{ kg} / \text{m}^2$ in all groups) were found. Among patients undergoing coronary surgery, two of them died on the third postoperative day, one from multiorgan dysfunction and another from sepsis (6.45% mortality). There were no deaths among patients with valvular disease.

All patients underwent diagnostic coronary angiography and echocardiography preoperatively. All coronary patients were previously administered ACE inhibitors,

aspirin and isosorbide dinitrate. 30% of valvular patients were taking statins. The average risk of EuroSCORE II in patients undergoing coronary was 3.5 ± 1.7 , while in patients with valvular disease was 2.8 ± 1.3 . Coronary patients had high prevalence of cardiovascular risk factors; more than half were diabetic (51.6%), 81.6% had hypertension and 67.7% had dyslipidemia (67.7%); while only 30% of patients had valvular dyslipidemia and none had diabetes or hypertension.

Surgery was performed with CEC (ONCAB) on most coronary patients (71.9%), and on 100% of patients with valvular disease. Internal mammary artery was used with or without other venous or arterial grafts in 96.4% of coronary patients.

Postoperatively, 4 of the coronary patients and none of the valvular patients required balloon counterpulsation. The average stay in the ICU was 2.09 days for coronary patients and 1.5 days for patients with valvular disease.

Table 12. Patient demographic data

<u>Anthropometric Data</u>	<u>Coronary patients</u> n:31	<u>Valve Patients</u> n:10	<u>Healthy</u> n:25
Age	64.1 ± 9.1	59.1 ± 11.7	55.9 ± 4.9
Male sex (n, n%)	25 (84.4%)	4 (40%)	19 (76%)
BMI (Kg/m ²)	28.5 ± 5.16	28.4 ± 3.11	28.03 ± 1.9
<u>Preoperative</u>			
EUROSCORE	3.5 ± 1.7	2.8 ± 1.3	n/a
Previous STEMI	21 (67.7%) **	0	0
Chronic kidney failure	2 (6.4%) **	0	0
COPD	5 (16.1%)	0	0
Diabetes	16 (51.6%)	0	0
Dyslipidemia	21 (67.7%) **	6(60%)	0
HBP	25 (80.6%) **	6 (60%)	0
Peripheral Vascular Disease	5 (16.1%) **	0	0
<u>Intraoperative</u>			
ECC	22 (70.9%) **	10 (100%)	n/a
Mean ECC time	109 min	104 min	n/a
Mean ischemia time	83.4 min	78 min	n/a
Mean bypass	2.39	n/a	n/a
Use of left mammary artery	96.4%	n/a	n/a
Mortality	2 (6.45%) **	0	n/a

* Level of statistical significance by Student's t and Chi-squared tests. ** p<0.05 Coronary vs Healthy

2. Biochemical markers:

Biochemical parameters used in the study were: PCR and procalcitonin as inflammatory markers; CPK and Troponin I as biochemical markers of acute coronary syndrome. Table 13 shows the results of the biochemical parameters of the patients during the 5 times collected.

PCR increased significantly in coronary patients ranging from T3 and peaking at T5 ($p < 0.001$); and valvular disease patients displayed a peak at T4 which decreased at T5 ($p: 0.001$). CPK in coronary patients increased T2 and T3, reaching a high point at T4, and decreasing significantly at T5 ($p < 0.001$); and valvular patients behaved similarly. Troponin I presented no significant changes in coronary patients, however in the valvular disease patients it experienced its greatest increase in T3, with a descent to T5 ($p < 0.004$). Procalcitonin did not present significant differences in coronary or valvular disease patients ($p 0.09$ p and 0.21 respectively).

Table 13. Mean biochemical marker levels at 5 timepoints.

Coronary patients						
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	p*
CRP (mg/L)	4.7±1.4	3.7±0.9	31.5±7 † T1,2,4,5	126±11 † T1,2,3,5	189±16 † T1,2,3,4	<0.001
CPK (U/L)	86±19 † T3,4,5	179±24 † T3,4,5	458±65	711±109	558±76	<0.001
Trop. I ng/ml	0.12±0.06	0.6±0.14	7.9±4	2.8±0.5	2.3±0.6	0.268
Procal ng/ml	0,01 ± 0,2	0,09 ± 0,06	1,0 ± 0,3	3,8 ± 2	7,1 ± 3	0,09
Valve-replacement patients						
CRP (mg/L)	3.9±1.9	19.3±14	112.2±14.4 †T1,2	156.3±28 †T1,2,5	92.3±22 †T1,T4	0.001
CPK (U/L)	42±7 †T3,4,5.	86.5±23 †T3,4	472.2±70	607.5±126	332±70	0.001
Trop. I ng/ml	0.01±0.001	1.6±0.7	7.0±2 †T2	5.2±1.4 †T1,2	2.9±0.8	0.004
Procal ng/ml	-0,04 ±0,006	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1	2,8±1,9	1,5±1	0,206

T1: At induction of anesthesia; T2: at surgery, after aortic declamping or on completion of internal mammary artery to ADA bypass; T3: 4 hours post-surgery; T4: 24 hours post-surgery; and T5: 48 hours post-surgery.

* Level of statistical significance by repeated-measures

ANOVA. †: p<0.05 after post-hoc comparisons of time factors (T1, T2, T3, T4 and T5).

When considering the influence of the CEC factor in patients, biochemical CRP, CPK, Procalcitonin and troponin I values proved not to be statistically significant over time differences, but rather remained similar in patients operated on and those without CPB (**Fig. 34**).

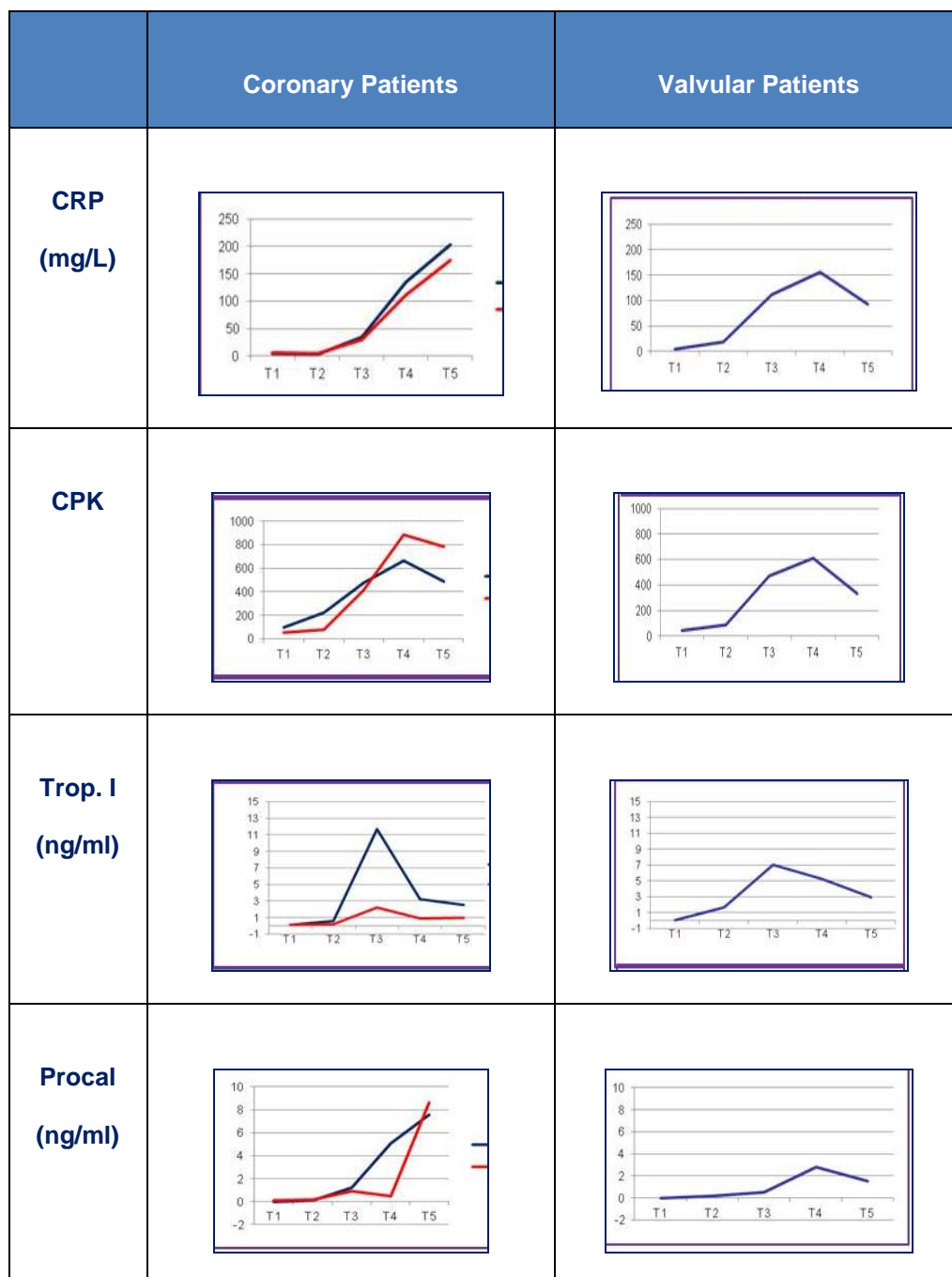


Fig. 34. Biochemical Parameters with CEC und Without CEC in Coronary

Patients Vs Valvular Patients

3. Monocytes:

Phenotypic characterization of subpopulations monocytes within the 5 times obtained from peripheral blood of patients CABG and valve replacement are shown in Table 14.

Table 14. Mean monocyte subset counts in coronary and valve-replacement patients (5 timepoints).

		T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	p*
CD14++CD16	C	46,7±1,8	44,5±2	47,3±1,8 † T2	46,2±1,9	46,2±1,6	0,013
	V	43±3,9	30,2±4	43±2	51,8±3,6 † T1,2,3,5	43±2	<0,001
CD14+CD16+	C	5,3±0,7	5,4±0,5	4,2±0,3	3,7±0,4	2,8±0,3 † T2,3	0,017
	V	7,3±1,3	7,8±1,3	4,8±0,7	3,9±0,4	3,3±0,4	0,09
CD14++CD16+	C	18,1±1,1 † T5	18±0,8	18±1,2 † T5	14,9±1,3	12,4±1,7 † T2,3	<0,001
	V	4,8±1,2	2,4±0,7	4,3±1	5,5±0,7	4,1±0,5	0,163

C: Coronary Patients . V: Valvular Patients. * Level of statistical significance by repeated-measures .T1: At induction of anesthesia; T2: at surgery, after aortic declamping or on completion of internal mammary artery to ADA bypass; T3: 4 hours post-surgery; T4: 24 hours post-surgery; and T5: 48 hours post-surgery.

In patients undergoing coronary artery surgery, the percentages of CD16++CD14-, after an initial fall in T2, increased significantly in T3 and remained unchanged until the end in T5 ($p = 0.013$); in patients with valvular disease, they significantly increased in T4 ($p < 0.001$), and decreased in T5.

Monocytes CD14+ CD16+ decreased slightly in T2 in patients of heart surgery, and this decrease continued until T5 which is statistically significant with respect to previous ($p = 0.017$), while in patients with valvular disease this decrease occurred from T3 ($p < 0.09$). Baseline of CD14++CD16+ in coronary patients was significantly higher in relation to the valvular patients ($p < 0.05$), then they kept to T3, with significant deterioration to T5 ($p < 0.001$); while in the patients valvular CD14++CD16+ decreased in T2 and T3 recovered from maintained until T5. **Fig. 35.**

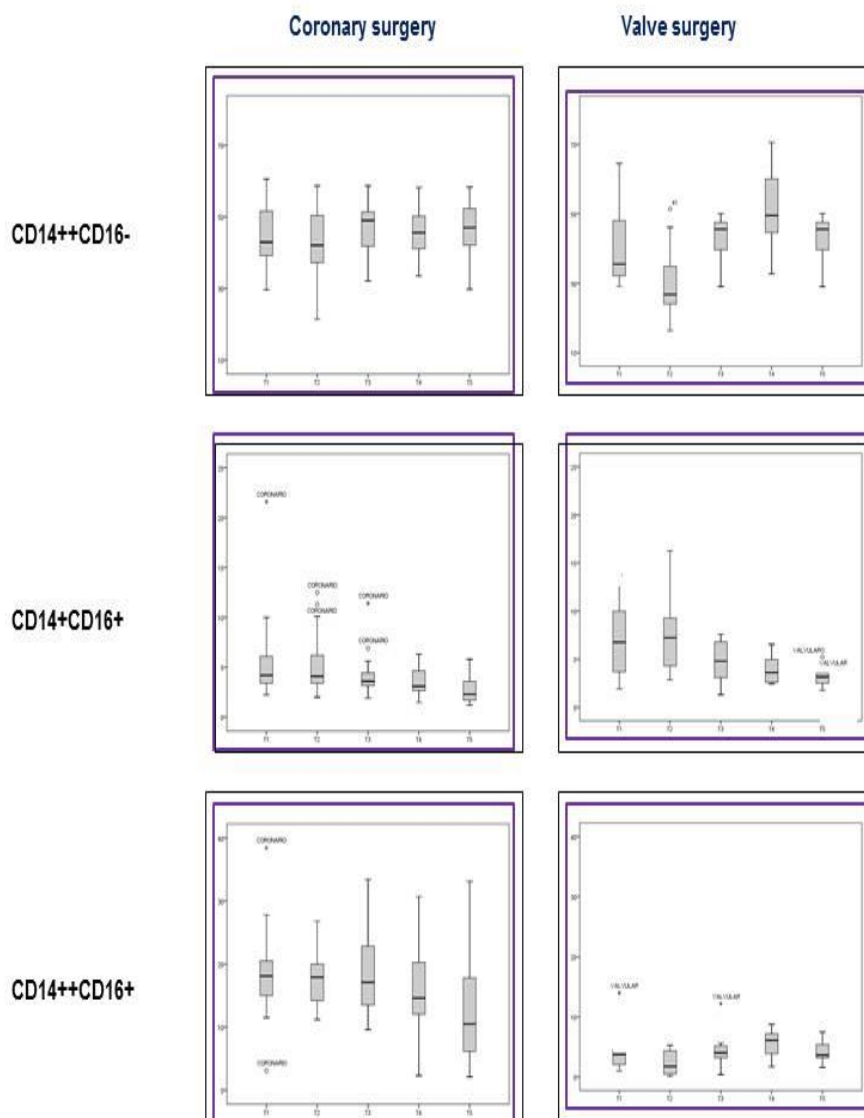


Fig.35. Monocytes in Coronary patients Vs Valvular Patients

Fig 36 shows average monocyte levels compared to healthy subjects. Basal levels and later CD14++CD16- in coronary and valvular patients were significantly lower compared to controls ($p < 0.05$); the percentages of basal monocytes and later CD14+CD16+ are significantly higher in coronary patients with respect to healthy ones (5.3 vs 3.8; $p = 0.002$) and in valvular patients despite the notable difference that in healthy patients this difference is not significant (7.3 vs 3.8 respectively) while the end of the evaluation period decreased in two groups of patients in coronary with statistically significant difference (2.8 vs 3.1 $p < 0.05$) while in the valvular surgery patients this difference was not significant with respect to controls (3.3 3.1 vs healthy; $p = 0.215$). Finally the observed levels CD14++CD16+, baseline levels of the patients are significantly elevated compared to controls (18.5 vs 3.8; $p < 0.01$).

However, although the final values declined relative to baseline, they remained elevated relative to controls (12.6 vs 3.8; $p < 0.001$). The difference between the initial and final levels of valvular patients was not significant compared to healthy patients (Table 15).

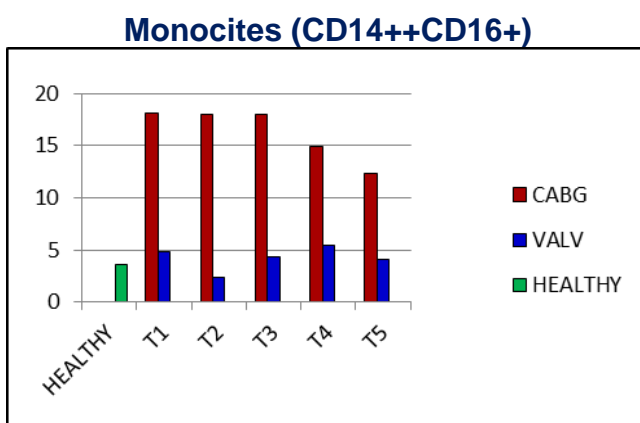
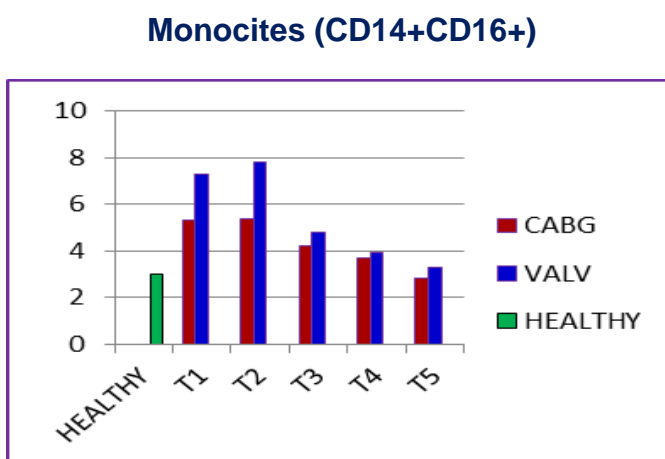
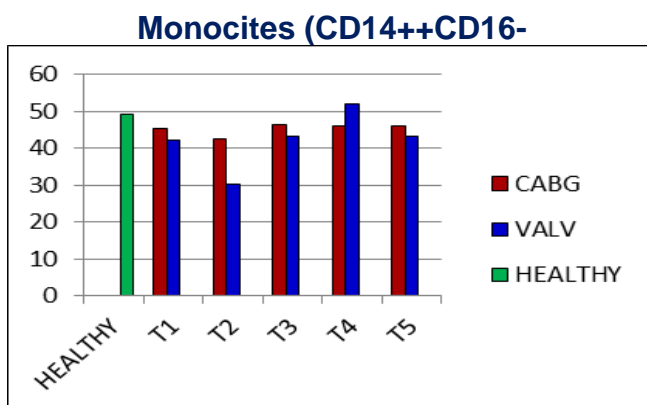


Fig 36. Correlation Monocytes Coronary Patients, Valve Patients und Healthy .

Table 15. Mean monocyte subset counts in cad patients and healthy controls.

	Healthy	Patients	Patients (baseline)	Patients (endpoint)	P*
CD14++CD16-	54.7	CABG	46.7±1.8	46.2±1.6	†: 0.002 ‡: 0.001
		Valve	43±3.9	43±2	†: 0.001 ‡: 0.001
P			0.4	0.22	
CD14+CD16+	3.8	CABG	5.3±0.7	2.8±0.3	†:0.015 ‡:0.012
		Valve	7.3±1.3	3.3±0.4	†:0.331 ‡:0.215
P			0.2	0.3	
CD14++CD16+	3.1	CABG	18.1±1.1	12.4±1.7	†<0.001 ‡<0.001
		Valve	4.8±1.2	4.1±0.5	†<0.058 ‡<0.062
P			<0.001	0.05	

* Level of significance by comparison of mean values (controls vs. CABG (Coronary)patients).For baseline levels (†) and endpoint levels (‡).

When considering the influence of the CEC factor in patients, no significant differences in levels of monocytes in patients with coronary surgery without CPB (**Fig.37 left**) were found.

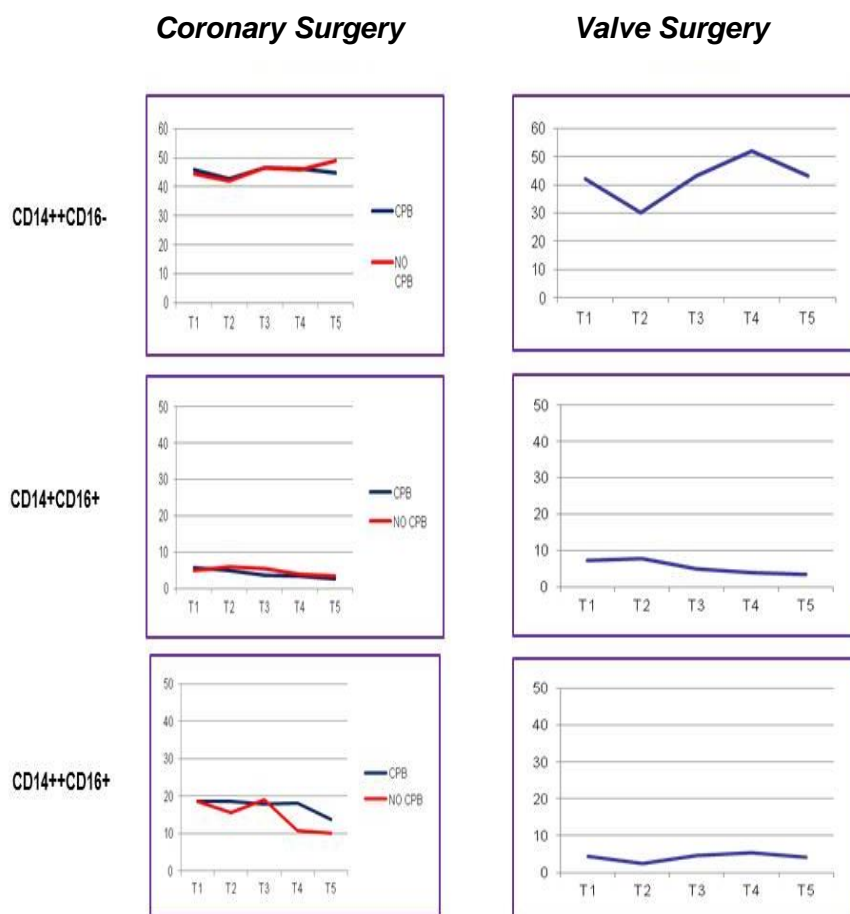


Fig. 37. Monocyte subset percentages between ECC (blue line) and non-ECC (Red Line) in coronary patients Vs Valve patients.

3.1.1 Correlation between monocyte populations

In **Fig.38** statistically significant correlations between populations of monocytes in coronary patients are represented

1. At time T1, the population of CD14++CD16+ and CD16++CD14 are positively correlated with each other ($r = 0.413$; $p = 0.021$) and between the CD14+CD16+ and CD14++CD16+ monocytes have a negative correlation.
2. CD14++ CD16+ and CD14+CD16 + ($r = - 0.386$; $p = 0.032$) at time T1 have a negative correlation.
3. At time 4 CD14++CD16- monocytes and CD14+CD16+ have a negative correlation ($r = - 0.465$; $p = 0.010$) at time 2.
4. Finally at time T4: The population of CD14+ monocytes with +CD16+CD14++ CD16- monocytes ($r = 0.399$; $p = 0.029$) correlation is positive.

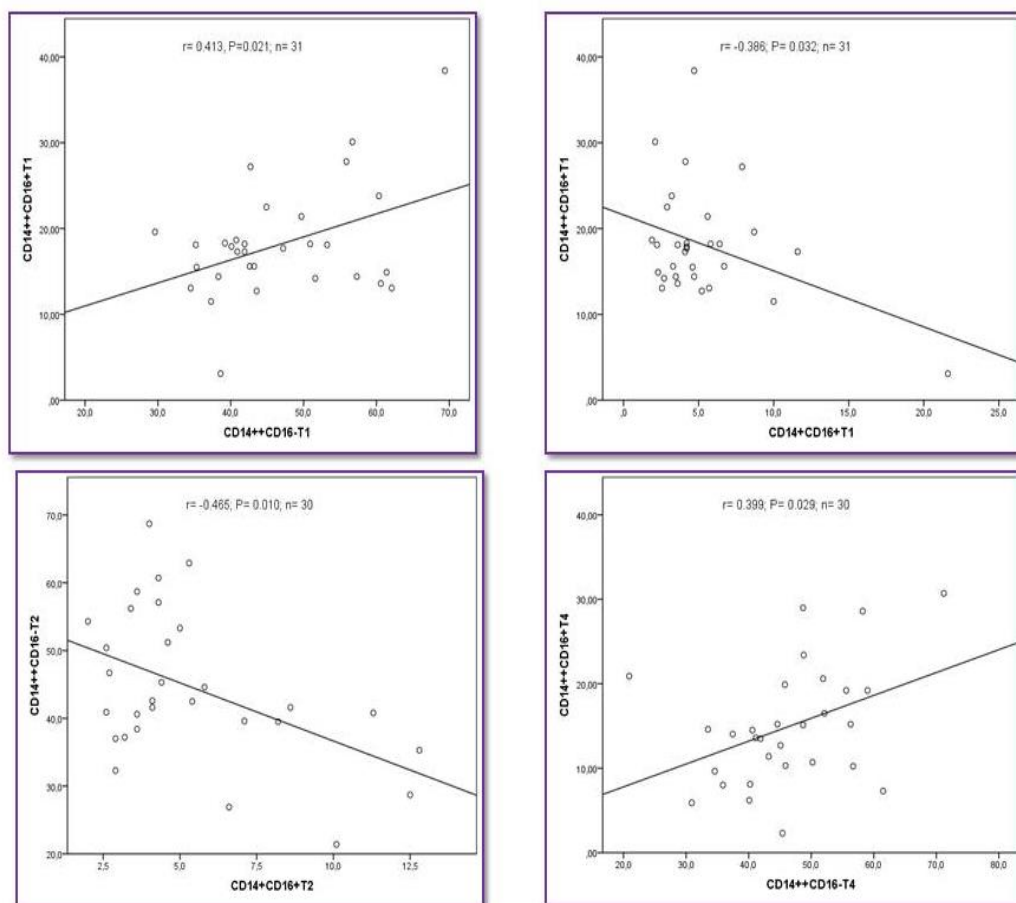


Fig 38. Correlation between monocyte populations.

3.1.2 Bivariate Correlations of biochemical markers monocytes.

Subsequently, bivariate correlations between inflammatory and biochemical markers were performed taking into account the different times and the most relevant associations. These were: At time T1 in coronary patients, CD14+ CD16++ with Troponin I ($r = -0.357$; $p = 0.057$); in time T4, CD14++CD16- in coronary patients with PCR ($r = -0.322$; $p = 0.083$) and CD14+CD16++ in coronary patients with procalcitonin ($r = 0.369$, $p = 0.049$).

4 Endothelial Progenitor Cells (VEGFR2 / CD133 / CD34) in patients undergoing coronary artery surgery.

The percentages of endothelial progenitor (EPCs) cells in patients undergoing coronary revascularization were compared to healthy patients (**Fig.39**) observed at initial significantly lower levels $0.21 \pm 0.12\%$ in coronary patients, $0.97 \pm 0.12\%$ compared to healthy controls significance level $P < 0.001$ (Table 8).

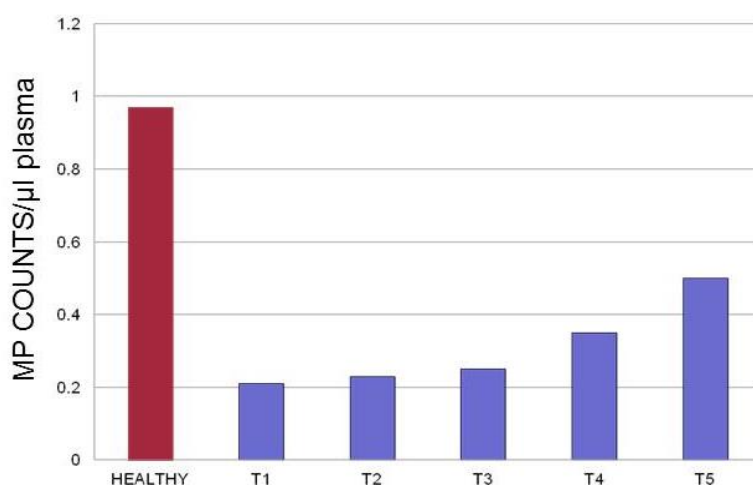


Fig. 39. Endothelial Progenitor cells in coronary patients in 5 Times Vs Healthy.

Comparison among 5 times endothelial precursor cells (EPCs) (**Fig.40**) showed that the percentages of EPCs increase progressively after surgery until 48 hours (0.49 ± 0.20), and reached statistically significant differences between intraoperative and postoperative period immediate (T2, T3, T4) and 48 hours postoperatively (T5) ($p < 0.001$).

The percentages of EPCs were lower than those observed in healthy subjects throughout the study period. (Table 16).

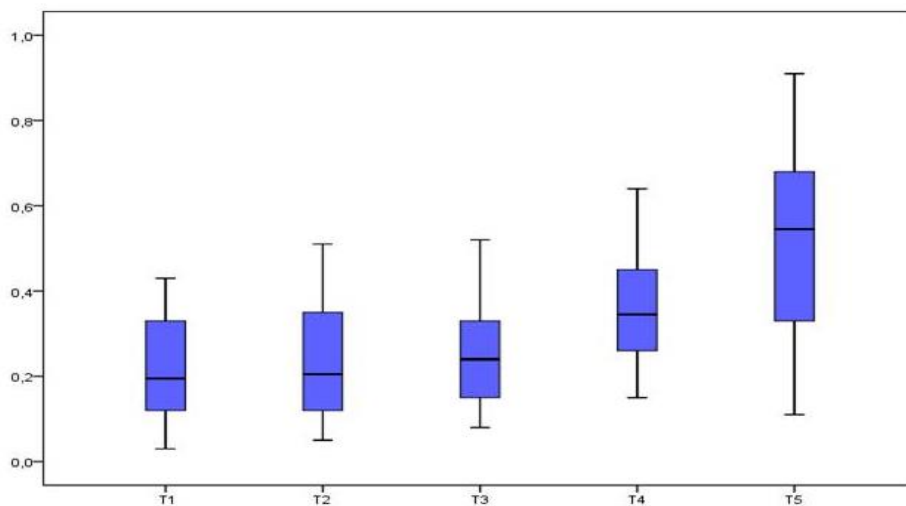


Fig 40. Endothelial progenitor cells (EPCs) VEGFR2 / CD133 / CD34 in 5 times.

TABLE 16. EPC levels in Coronary patients vs. Healthy controls

	HEALTHY	Patients (baseline)	Patients (endpoint)	P*
EPCs	0.97±0.1	0.21±0.02	0.5±0.04	P<0.001

EPCs: (VEGFR2/CD133/CD34): Endothelial progenitor cells

EMVs : (CD31/annexin V) : Endothelial microvesicles

* Statistical significance, controls vs. Coronary patients.

No significant difference in the percentage of EPCs in coronary patients undergoing CPB with respect to CPB not used during surgery were **(Fig. 41)** found.

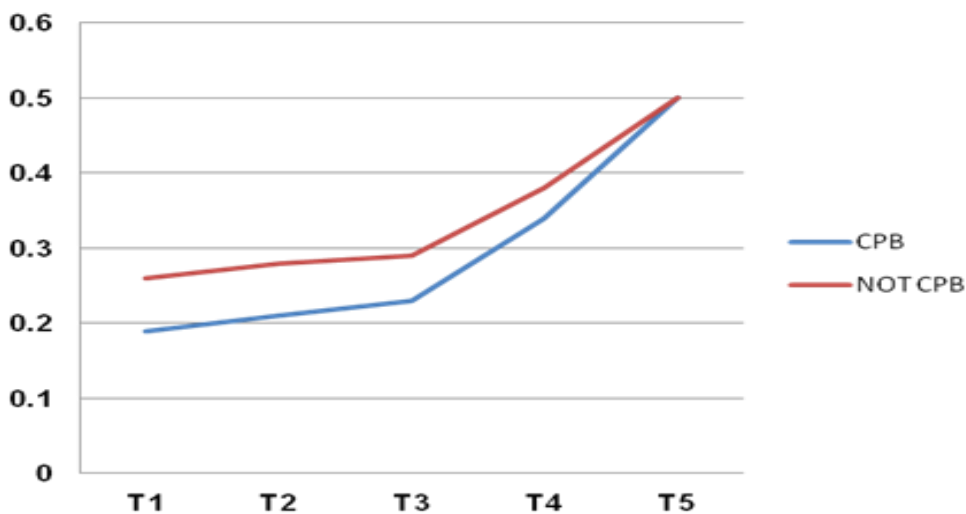


Fig 41. Endothelial progenitor cells (EPCs) VEGFR2 / CD133 / CD34) in coronary patients with CPB und not CBP.

5. Endothelial microvesicles (MVs) CD31 / Annexin V in patients undergoing coronary artery surgery.

During our study preoperative levels of MVs in coronary patients were significantly higher than in healthy subjects (175 ± 37 versus 53 ± 24 respectively; $p < 0.001$) (**Fig. 42**), and although they decreased at 48 hours (161 ± 37) in the group of coronary patients, MVs maintained at significantly higher levels compared to control subjects ($p < 0.001$) (Table 17)

TABLE 17. EMV levels in coronary patients vs. healthy controls

	HEALTHY CONTROLS	Patients (baseline)	Patients (endpoint)	P*
EMVs	53± 24	177.2±6.8	161.5±7.6	P<0.001

EMVs : Endothelial microvesicles (CD31/annexin V)

* Statistical significance, controls vs. Coronary patients.

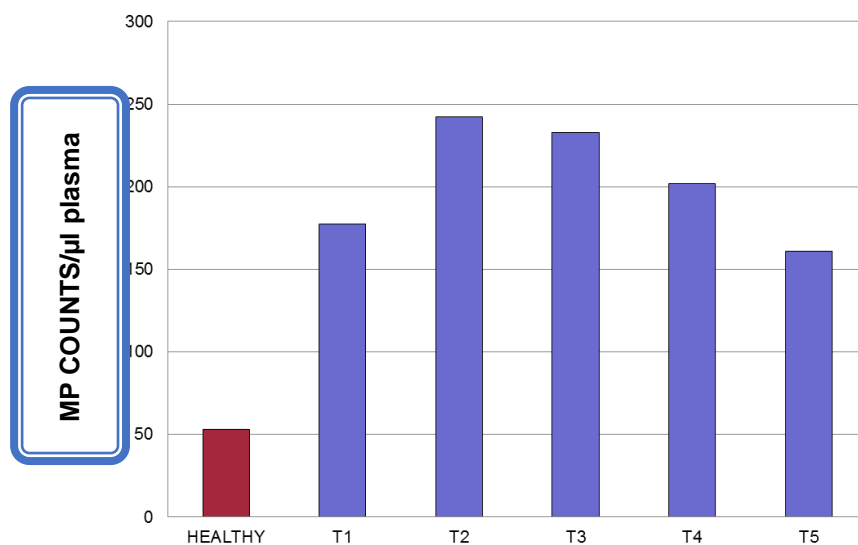


Fig 42. : Endothelial microvesicles (CD31/annexin V) in Coronary patients Vs healthy.

When making comparisons among the five times (**Fig.43**), in period 2 (T2) there was a statistically significant increase of MVs ($p < 0.001$) being the highest point of five times, with a subsequent gradual decline in the rest of time $p < 0.05$, presenting at 48 hours (T5) the lower levels, even compared with the initial values $p < 0, 001$.

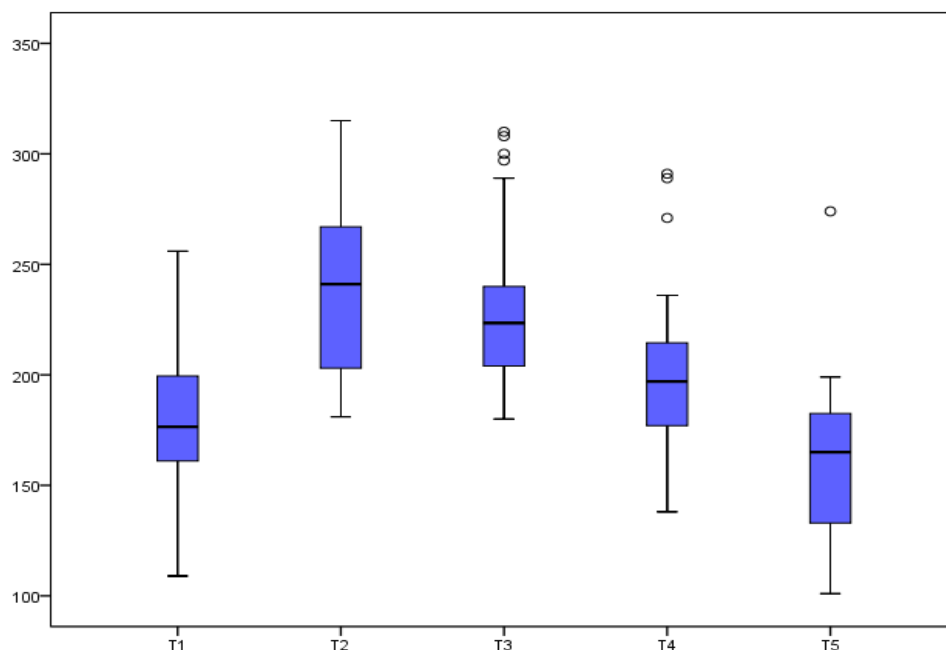


Fig 43. Endothelial microvesicles (CD31/annexin V) in Coronary patients in 5 Timepoints.

When the effect of surgery on CEC was compared in coronary patients (**Fig.44**), no significant differences were found in the percentage of MVs in coronary patients undergoing CPB with regard to those not using CEC.

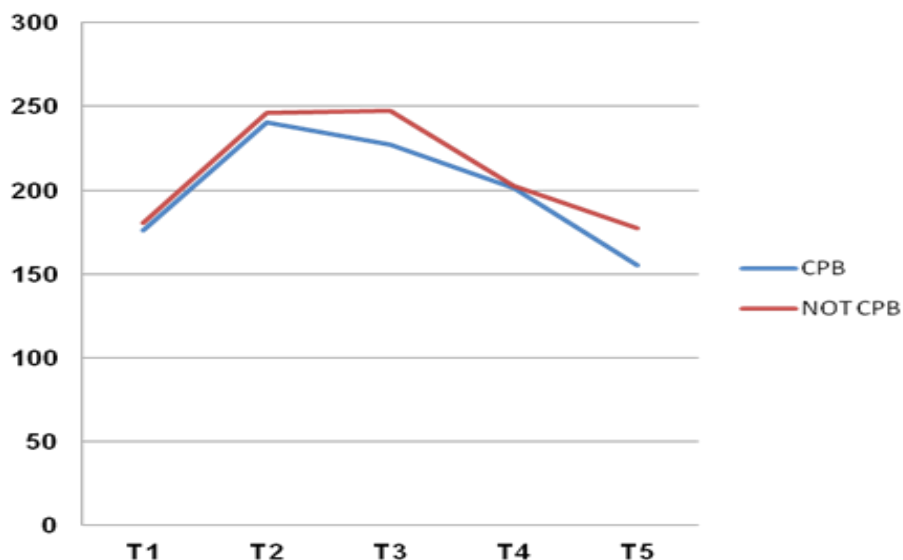


Fig 44. Endothelial microvesicles (CD31/annexin V) in Coronary patients in coronary patients with CPB und not CBP in 5 Timepoints.

6. Correlation between EPCs and MVs in different times.

When we compared EPCs to those of the MVs, we observed a significant negative linear relationship between these two parameters in the pre-intervention ($R: -0.801$, $P < 0.001$) as seen in **Fig 45**.

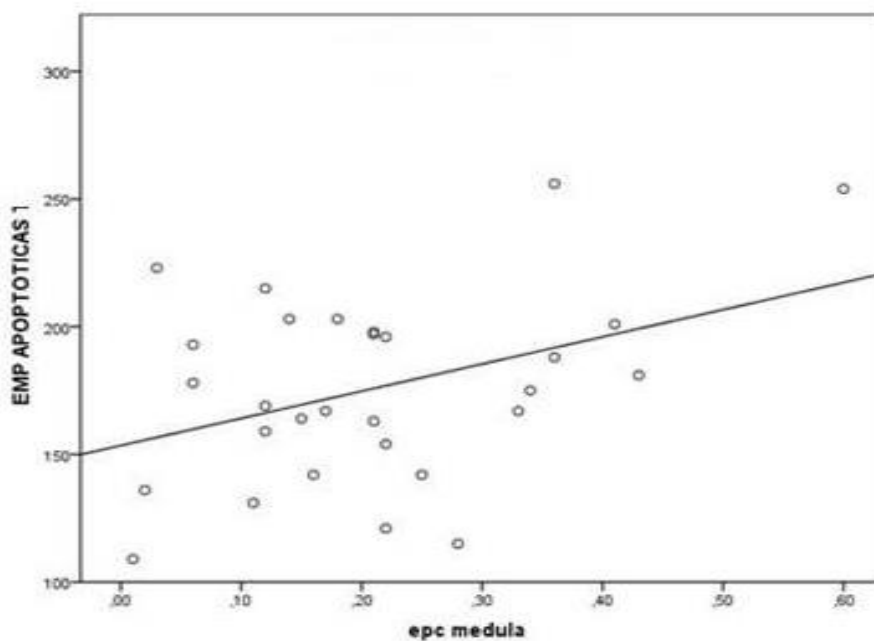


Fig. 45. Correlation Between EPCs and EMVs in differents times.

7. Correlate Bivariate EPCs MV with biochemical markers.

Finally bivariate correlations between EMVs and EPCs were made regarding biochemical markers taking into account the different times. However we found no significant associations in any of the times studied.(**Table 18**).

TABLA 18. Correlate Bivariate EPCs MV with biochemical markers

	Timepoint	CRP	CPK	TROPONIN I	PROCALCITONIN
	T1	0,73	0,47	0,31	0,58
	T2	0,35	0,5	0,5	0,8
EMPCs	T3	0,9	0,4	0,5	0,2
p*	T4	0,1	0,9	0,86	0,96
	T5	0,3	0,7	0,94	0,9
	T1	0,55	0,43	0,6	0,28
	T2	0,9	0,8	0,45	0,12
MVs	T3	0,2	0,6	0,35	0,9
P*	T4	0,19	0,54	0,35	0,7
	T5	0,52	0,87	0,8	0,1

EPCs: (VEGFR2/CD133/CD34): Endothelial Progenitor cells.

MVs : (CD31/AnexinaV) : Endothelial microvesicles (MVs) CD31 / Annexin V

CRP: C- reactive protein CPK: Creatinphosphokinase

* Statistical significance, controls vs. Coronary patients.

DISCUSION

Discusión

La aterosclerosis es una patología que es responsable de más de una quinta parte de todas las muertes del mundo debido a sus complicaciones¹. Es una enfermedad que durante años puede estar presente de manera subclínica hasta que los síntomas se hacen evidentes algunas veces por isquemia aguda de órganos con consecuencias fatales en ocasiones. La aterosclerosis se caracteriza por la acumulación de lípidos en las paredes vasculares con formación de células espumosas con grandes inclusiones de lípidos en el citoplasma, por este motivo el tratamiento actual se dirige a la normalización de los lípidos en sangre, y a la disminución y tratamiento de los factores de riesgo como hipertensión, diabetes, tabaquismo, entre otros. Pero el tratamiento actual no se centra sobre el desarrollo en sí de la placa aterosclerótica para poder evitar llegar a un tratamiento sintomático y de las complicaciones; por este motivo durante años un gran número de estudios se centra (1) en el conocimiento del proceso aterosclerótico, (2) que mecanismos lo influyen y (3) los cambios que ocurren a

nivel endotelial para que este se desarrolle; con el fin de evitar el desarrollo y la progresión de esta enfermedad.

Numerosos autores han observado que la inflamación y los mecanismos inmunes influyen en el desarrollo de la enfermedad arterial en los vasos de todos los tamaños, de diferente grado y en todas las capas de la arteria y no solo a nivel de la capa íntima donde los estudios iniciales se habían centrado¹¹². El sistema inmune innato juega un papel muy importante en el inicio y en la progresión de la aterosclerosis. El sistema monocito /macrófago también tiene un protagonismo en este proceso¹¹³ que se inicia con la migración de los monocitos en la pared vascular hasta el desarrollo de complicaciones de la enfermedad arterial¹¹⁴. La importancia de los distintos subtipos de monocitos en la patología cardiovascular se ha confirmado en varios estudios con modelos animales¹¹⁵ y en diferentes estudios clínicos¹¹⁶. El monocito circulante es una célula progenitora muy versátil que da a lugar a diversos tipos de células; es generado a partir de una célula madre hematopoyética, por el progenitor mieloide común y el progenitor de granulocitos/ monocitos que representa las poblaciones precursoras de monoblastos. Los diferentes subconjuntos de monocitos parecen reflejar las etapas de desarrollo con funciones fisiológicas diferentes; cuando no son reclutados por lesiones inflamatorias pueden madurar en macrófagos de tejidos normales como células de Kuffer, Células de Langerhans de la piel, osteoclastos ó células endoteliales¹¹⁷. Por este motivo las investigaciones recientes desarrollan protocolos para inducir a partir de monocitos cultivados in vitro, donde células derivadas de origen monocítico se diferencian en células con características endoteliales,

condrocitos, etc^{118, 119}. La importancia de este conocimiento está orientada a utilizar estas células en medicina regenerativa como células similares a células madre.

El endotelio vascular desempeña un papel fundamental en la patogénesis de muchos trastornos inflamatorios y trombóticos. Un daño continuo del endotelio vascular conduce a su disfunción que influye en el pronóstico del paciente¹²⁰. El equilibrio entre la disfunción endotelial y la reparación está influenciado por muchos factores tanto de protección como de agresión circulantes en la sangre, y su valoración es importante para la reducción de eventos cardiovasculares¹²¹.

Dentro de los factores que intervienen en el mantenimiento de la integridad endotelial, un importante mecanismo es la capacidad de reparación del endotelio, que implica la movilización de las células progenitoras endoteliales (EPC). Estas EPC son células precursoras derivadas de la médula ósea que se encuentran circulantes en sangre periférica.

En los últimos años las EPC han adquirido un papel importante en la investigación científica debido a su posible utilización para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades cardiovasculares. Su capacidad para circular en sangre periférica, proliferar y originar progenie funcional, ha despertado además un gran interés para el uso terapéutico de estas EPC, especialmente en enfermedades ateroscleróticas. Sin embargo hay muchos aspectos sobre esas células que aún son objeto de debate. Es importante conocer los mecanismos por los que las EPC se afectan en las diferentes etapas de enfermedad cardiovascular, para centrar las

intervenciones específicas en mejorar el número y funcionalidad de estas células en la enfermedad aterosclerótica.

Como consecuencia del daño endotelial se produce la muerte celular (apoptosis) con la liberación de microvesículas endoteliales (MVs). Las MVs (CD31/ annexina V), se han postulado en los últimos años como un biomarcador de diagnóstico en enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, además del cáncer¹²², e incluso parecen predecir la supervivencia de los pacientes con insuficiencia cardiaca sin importar edad, género y fracción de eyección¹²³. Por este motivo se han considerado posibles dianas terapéuticas para la modulación farmacológica y, de esta manera, controlar el proceso de aterogénesis.

Un mejor conocimiento de todos estos factores, monocitos (CD14⁺⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺ y CD14⁺⁺CD16⁺), Células progenitoras endoteliales (EPCs) y Microvesículas endoteliales (MVs) puede ayudar a mejorar las perspectivas diagnósticas y terapéuticas en los pacientes con aterosclerosis inicial y avanzada como la insuficiencia cardiaca post infarto: patología de gran morbimortalidad y de gran incidencia en nuestro medio. Por este motivo nos hemos centrado en evaluar los cambios que ocurren con estos eventos en los pacientes sometidos a revascularización coronaria.

Los monocitos/macrófagos desempeñan un papel clave en la red de reacciones inmunes. Dependiendo de su activación, pueden producir citoquinas que actúan regulando a su vez otras células del sistema inmune. Además, estas células

presentan antígenos como las moléculas HLA-DR que actúan como un disparador inicial de una respuesta de células T específicas de antígeno.

Previamente se ha descrito que en sujetos sanos la mayor parte de los monocitos (monocitos clásicos) expresan de manera habitual elevados niveles de la molécula CD14, y no expresan el antígeno CD16 (CD14⁺⁺CD16⁻)¹²⁴; mientras que menos del 10% de los monocitos expresan el antígeno CD16¹²⁵. De acuerdo a la densidad de expresión de las moléculas CD14 y CD16, estos últimos se subdividen en monocitos CD14⁺⁺CD16⁺, también denominados monocitos no clásicos o proinflamatorios y monocitos CD14⁺CD16⁺¹²⁶, o monocitos cardiovasculares.

Las células progenitoras endoteliales (EPCs) son las primeras células que se movilizan para contribuir a la vasculogénesis postnatal, y también lo hacen en el caso de que la continuidad endotelial deba ser restituida. El proceso de reclutamiento de las EPCs desde la médula ósea, se pone en marcha por medio de la activación de varias citoquinas proinflamatorias y de factores de crecimiento. A pesar que las EPCs representan sólo el 0,0001%-0,01% de las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), se sabe que son unas células esenciales en el proceso de reparación del endotelio vascular y tienen la capacidad para proliferar, migrar y diferenciarse en células endoteliales maduras¹²⁷. La capacidad para reparar el daño vascular depende del número y de la funcionalidad de estas EPCs; que se encuentran afectadas en una gran variedad de enfermedades, entre ellas la aterosclerosis. En 2001 se inició el estudio

TOPCARE-AMI, donde se demostró en un grupo de 95 pacientes con infarto agudo de miocardio tratados con revascularización percutánea (stents), que la infusión intracoronaria de EPCs se asoció con un aumento de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, reducción de volúmenes telesistólicos después de 4 meses del tratamiento, lo que sugiere un efecto beneficioso en el proceso de remodelación post-infarto; estos cambios persistieron después de 5 años de seguimiento¹²⁸

Como consecuencia del daño endotelial en los pacientes con aterosclerosis, se pone en marcha un proceso que desencadena la apoptosis celular, que produce la pérdida de la integridad del endotelio. Esta apoptosis se asocia a cambios de la membrana celular, condensación del núcleo, fragmentación del ADN y la liberación de pequeñas partículas (<1,5 µm) llamadas Microvesículas (MVs)¹²⁹; estas MVs contienen proteínas de membrana y el material citosólico de la célula que se origina¹³⁰. Las micropartículas derivadas de células endoteliales exponen en su membrana fosfolípidos como la fosfatidilserina que se unen a la anexina V y proteínas de membrana de la célula que la origina como la molécula CD31, y estas MVs se han considerado como un marcador de daño endotelial^{131, 132, 133, 134}.

Nuestro estudio incluyó a todos los pacientes ingresados de forma programada o urgente para revascularización coronaria durante de mayo 2009 a mayo 2010 con enfermedad coronaria revascularizable aislada. Para poder eliminar el factor circulación extracorpórea se reclutó otro grupo de pacientes ingresados para

cirugía valvular simple sin síntomas de enfermedad aterosclerótica .Finalmente se incluyó un grupo de sujetos controles sanos, sin factores de riesgo cardiovascular, para determinar un patrón de normalidad en la población y de ésta forma poder discriminar los resultados debidos a la revascularización del miocardio hibernado en sí.

Inicialmente describimos la influencia de la revascularización coronaria quirúrgica sobre los porcentajes de los 3 subtipos de monocitos (CD14++CD16-, CD14++CD16+, y CD14+CD16+) y observamos que, basalmente, los enfermos coronarios presentan niveles más bajos en sangre periférica de monocitos CD14++CD16- comparados con sujetos sanos. Durante la intervención quirúrgica, estas células CD14++CD16- presentaron un leve descenso que posteriormente se recuperó a partir del postoperatorio inmediato hasta llegar casi a sus niveles iniciales al finalizar el estudio. En el grupo de enfermos valvulares hemos observado que presentaron niveles basales menores de monocitos CD14++CD16- que los enfermos coronarios. Durante la intervención quirúrgica, los niveles descendieron aún más, y en el postoperatorio inmediato aumentaron recuperando los niveles iniciales al finalizar el estudio.

Los monocitos CD14+CD16+ se denominan también proinflamatorios por producir altos niveles de citoquinas proinflamatorias como TNF α e IL-1 y un bajo número de citoquinas anti-inflamatorias (IL-10)¹³⁵, y porque se encuentran elevados en personas con una patología asociada al desarrollo de inflamación crónica como la

ateroesclerosis¹³⁶, y en la enfermedad valvular por estenosis aórtica severa¹³⁷; En nuestro estudio hemos observado unos niveles más elevados en los enfermos valvulares, que incluían patología valvular aórtica y mitral, que en los enfermos coronarios con aterosclerosis establecida y que en los controles sanos. Durante la intervención quirúrgica se produce un leve aumento inicial en una primera fase, que podría explicarse por la respuesta inflamatoria sistémica habitual durante la cirugía¹³⁸, por el mismo trauma quirúrgico, o bien por el contacto de la sangre con el aparato de derivación cardiopulmonar. En el caso de los enfermos coronarios, se añade el desarrollo de isquemia miocárdica en el bypass^{139,140}, con la posterior reperusión que, junto con la liberación de endotoxinas al restaurar la circulación de un tejido isquémico hibernante puede temporalmente exacerbar la lesión¹⁴¹, iniciándose la cascada inflamatoria entre la que se incluye la participación de los monocitos. En nuestro estudio hemos encontrado que la subpoblación de monocitos CD14+CD16+ después de las 4 horas del postoperatorio comenzó a descender paulatinamente hasta finalizar el estudio, en los dos grupos de enfermos, aunque este descenso resultó más llamativo en el grupo valvular.

En relación a los monocitos CD14++CD16+, relacionados con riesgo cardiovascular, los enfermos coronarios mostraron unos niveles basales muy elevados comparados con los controles sanos y con los enfermos valvulares. Estos hallazgos eran esperables y concuerdan con lo observado por otros grupos que estudiaron estos monocitos en enfermedad coronaria revascularizable^{142,143}. Sin embargo nuestro estudio añade a este conocimiento previo la observación de los

cambios originados como consecuencia del procedimiento quirúrgico. Durante el postoperatorio, los monocitos CD14++CD16+ presentaron un descenso progresivo constante y significativo comparándolo incluso con sus niveles basales. De forma llamativa, en el grupo de enfermos valvulares, a pesar de que presentaron unos niveles ligeramente más elevados que los controles sanos, se observó una escasa variación durante el postoperatorio.

Todos estos hallazgos, sugieren que la cirugía de revascularización coronaria tiene un impacto muy positivo sobre las subpoblaciones de los monocitos especialmente los relacionados con riesgo cardiovascular CD14++CD16+, mientras que en el caso de los enfermos valvulares, la cirugía tuvo también un efecto mejorando el porcentaje de la subpoblación de monocitos que se ha relacionado con la inflamación (CD14+CD16+). Sin embargo hay estudios que difieren en este aspecto y sugieren que la función de los monocitos se ve afectada negativamente por la intervención quirúrgica, produciendo un riesgo potencial para las complicaciones sépticas postoperatorias y muerte^{144,145}. Sin embargo esta controversia puede explicarse porque estos estudios fueron realizados en pacientes con cirugía abdominal abierta y laparoscópica, cirugías consideradas limpias contaminadas con más posibilidad de infección. Sin embargo, nuestro estudio incluyó un grupo de pacientes para revascularización coronaria y remplazo valvular simple, cirugías consideradas limpias, y no hemos observado una afectación negativa en ninguno de los subgrupos de monocitos como consecuencia de la intervención quirúrgica.

Al estudiar los parámetros bioquímicos CPK y troponina, como marcadores de isquemia del miocardio, y PCR y Procalcitonina como marcadores inflamatorios en los pacientes intervenidos de revascularización coronaria, observamos que basalmente la troponina I cardíaca, que es un marcador muy sensible y específico de lesión miocárdica¹⁴⁶, tiene una relación estadísticamente significativa en el porcentaje de monocitos CD14+CD16++ (relacionados con eventos cardiovasculares). Durante el periodo postoperatorio, los monocitos CD14++CD16- clásicos, tienen una relación inversa significativa con la PCR que es un marcador soluble inflamatorio¹⁴⁷.

Hasta el momento son muy pocos los estudios que determinan el efecto de la cirugía y la circulación extracorpórea (CEC) sobre las poblaciones de monocitos en pacientes con enfermedades coronarias. Algunos autores han utilizado modelos in vitro^{148,149} ó modelos con CEC simulados en animales para observar la activación de la circulación de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) o monocitos durante la circulación extracorpórea (CEC). En estos estudios se encontró que la CEC puede estimular la producción de leucocitos a nivel de la medula ósea por mecanismos poco conocidos. Sin embargo todos estos modelos no llegan a representar totalmente la realidad de un paciente intervenido. Con todo esto podría pensarse que la CEC podría tener un efecto en la variación de las subpoblaciones de monocitos. Sin embargo cuando en nuestro estudio comparamos los pacientes coronarios intervenidos con CEC y sin CEC no encontramos diferencias

estadísticamente significativas en las subpoblaciones de monocitos. Esto nos lleva a pensar que los cambios observados son debidos a la revascularización de un miocardio hibernante.

Para valorar el daño endotelial en los enfermos, estudiamos las células precursoras de endotelio (EPCs) y el número de Microvesículas endoteliales (MVs). Varios autores han encontrado una correlación inversa entre los valores de EPCs y el riesgo de enfermedad coronaria^{150,151}. Las EPCs expresan clásicamente marcadores de células precursoras de médula ósea, como la molécula CD34, y marcadores de estirpe endotelial como CD133 Y VEGFR2. Las EPCs se han propuesto como biomarcadores de aterosclerosis ya que su número se ha relacionado inversamente con la presencia y la progresión de la enfermedad aterosclerótica y, con la mayor incidencia de eventos cardiovasculares¹⁵². Nosotros hemos observado que cuando comparamos los niveles de EPCs encontrados en los controles sanos y los hallados en los pacientes con enfermedad coronaria previamente a la revascularización quirúrgica, el primer grupo presentó niveles significativamente mayores con respecto a los pacientes.

Las células EPCs son movilizadas frente a diversos estímulos contribuyendo al proceso neoangiogénico del endotelio dañado. Esta es una de las conclusiones del estudio realizado por Gill y cols ¹⁵³, en el cual se incluyeron pacientes con injuria vascular por cirugía de revascularización coronaria y en pacientes quemados donde se describió un aumento rápido de EPCs a las 6-12 horas seguido de un descenso de estos niveles a las 48 horas, sugiriendo que este aumento transitorio

era debido a un estrés angiogénico por el trauma vascular que induce la movilización celular. En nuestro estudio observamos que el aumento de estas células EPCs en los pacientes con revascularización coronaria fué paulatino con una mayor elevación a las 48 horas y no observamos disminución en el periodo de tiempo estudiado. Sin embargo, en otros estudios en pacientes obesos sometidos a cirugía de rodilla, se encontró que en respuesta a la injuria quirúrgica, las EPCs se afectan negativamente¹⁵⁴. Sin embargo, estos pacientes no presentaban aterosclerosis establecida, por lo que su comportamiento quirúrgico puede ser muy diferente a nuestro grupo estudiado. Además, se ha descrito previamente que el índice de masa corporal (IMC) se relaciona inversamente con las EPCs¹⁵⁵, sin embargo nosotros no hemos encontrado ninguna relación a nivel basal y durante el tiempo estudiado.

Según lo encontrado por Hill y cols¹⁵⁶ el número circulante de EPCs es mejor predictor de reactividad vascular que el resto de factores de riesgo cardiovascular. Además como las EPCs tienen una habilidad de reparación en los lugares de injuria vascular, las últimas investigaciones van dirigidas al uso terapéutico de estas células relacionadas con la neo angiogenesis. Los pacientes con enfermedad coronaria tienen un deterioro de la respuesta migratoria de estas células y su número está relacionado con la severidad de enfermedad coronaria^{157,158}. Estudios clínicos iniciales en un modelo de ratas con infarto de miocardio, la inyección intravenosa de células CD34+ humanas, indujo una mejora en la vascularización y la función ventricular izquierda. Sin embargo, al realizar la infusión directamente

al miocardio la respuesta a nivel del corazón no fué la esperada, ya que solo se encontró un 8% de aumento celular cuando la inyección se realizó directamente al ventrículo izquierdo.¹⁵⁹ En pacientes con alto riesgo que deben ser intervenidos de revascularización percutánea coronaria, se han colocado stent que capturan EPCs ya que tienen anticuerpos anti CD34 humanos, cuya función sería atraer células para acelerar la curación y disminuir el riesgo de re-estenosis y trombosis en stent. Sin embargo los resultados a largo plazo aun no han sido publicados¹⁶⁰. En nuestro estudio, hemos observado que la cirugía coronaria por si misma produce un incremento progresivo de EPCs en sangre periférica, niveles que se mantienen elevados hasta el final del estudio. Dicho incremento fue independiente del uso o no del uso de bypass cardiopulmonar. Es probable que este incremento de EPCs sea debido al aumento de flujo sanguíneo en zonas hibernadas que estimulan la producción de estas células.

Los altos niveles de las MVs, se encuentran en pacientes con diversas condiciones patológicas, como enfermedades trombóticas venosa y arterial¹⁶¹, sepsis, diabetes, preeclampsia¹⁶², y su incremento se ha implicado en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis. Nozaki y cols llegaron a la conclusión que las MVs son un predictor de futuros eventos cardiovasculares en una población con alta puntuación de riesgo de Framingham¹⁶³. Por otra parte, otros estudios demuestran que estas MVs se encuentran relacionadas con el Índice de masa corporal (IMC)¹⁶⁴ y con la hipertensión arterial ¹⁶⁵(HTA). Sin embargo en nuestro estudio los pacientes con

enfermedad coronaria no presentaron una asociación significativa entre el IMC y las MVs, ni tampoco se correlacionaron con la HTA.

Las MVs pueden inducir la progresión y el deterioro de la función endotelial por la expresión de diferentes moléculas de adhesión, ciclooxigenasa endotelial tipo 2, liberación de citoquinas y la alteración de óxido nítrico liberado de las células endoteliales¹⁶⁶. Varios estudios refieren que las MVs se encuentran significativamente más elevadas en los pacientes con síndrome coronario con respecto a las personas sanas ^{167,168,169} Concretamente se encontraron niveles elevados de MVs en pacientes con síndrome coronario agudo comparados con pacientes con angina estable^{170, 171} . En un estudio con pacientes con enfermedad coronaria, los niveles de MVs se correlacionaron con la gravedad y la estenosis de la arteria coronaria, y se encontraron MVs más elevadas en los pacientes con estenosis de la arteria descendente anterior con respecto a los pacientes con estenosis de la coronaria derecha, incluso de enfermedad de los 3 vasos¹⁷². Nuestro estudio confirma esta gran diferencia de las MVs entre los controles sanos y los pacientes coronarios. Las MVs tienen niveles inferiores en los controles sanos y encontrándose significativamente muy elevados en los pacientes a intervenir de revascularización coronaria. Sin embargo, no hemos encontrado estudios que analicen la tendencia de estas MVs en los pacientes coronarios después de la revascularización de un miocardio hibernante. Hemos observado que la cirugía induce un aumento transitorio de MVs en el postoperatorio inmediato (4 horas) como el observado por Fink y cols en 2010, que realizó un estudio en pacientes

con reanimación cardiopulmonar que presentan la misma elevación transitoria de las MVs. Estos autores sugieren que este incremento puede ser debido a la isquemia reperfusión. Probablemente en nuestro estudio el incremento de las MVs puede también tener una causa similar en el postoperatorio inmediato; sin embargo y posteriormente, nuestros pacientes presentan una disminución de MVs muy llamativa llegando a niveles incluso más bajos de los observados previamente a la intervención. Estos cambios no tuvieron una correlación significativa según con el riesgo quirúrgico tomado por EUROSCORE.

A pesar de que estas medidas se realizan dentro de postoperatorio precoz, se observó una importante disminución en el número de MVs con respecto a los niveles basales. Posiblemente, de haber podido seguir el estudio durante un tiempo mayor, los niveles de MVs podrían acercarse aún más a los valores obtenidos en sujetos sanos. Adicionalmente, cuando observamos el grupo de pacientes coronarios con circulación extracorpórea con respecto a los que se intervinieron a corazón latiendo, no observamos cambios estadísticamente significativos en los niveles de la MVs. Por lo tanto la CEC no parece tener un efecto importante sobre los niveles de MVs.

Finalmente, y puede que sea una de las aportaciones más importantes de nuestro trabajo cuando relacionamos los niveles de EPCs con lo de las MVs, observamos una relación lineal muy significativa entre estos dos parámetros desde el momento previo a la intervención hasta finalizar el estudio En efecto hemos encontrado que

a medida que aumentaban las EPCs las MVs disminuyeron. Sin embargo, cuando realizamos los estudios de correlación con los parámetros bioquímicos PCR, CPK, Procalcitonina y Troponina- I no hubo relación significativa en ninguno de los tiempos medidos.

En la actualidad, por la participación de las MVs en varias de las etapas de la aterosclerosis y su relación con aumento de riesgo para complicaciones mayores, se han propuesto como dianas terapéuticas e incluso podrían ser vectores de terapias génicas. Por este motivo, estudios actuales sugieren incorporar ARNm que hipotéticamente puedan modular estas MVs¹⁷³. Sin embargo es importante conocer todavía mejor el papel de las MVs en distintas patologías para establecer y mejorar la posibilidad de su uso clínico.

DISCUSSION

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

Discussion

Atherosclerosis is responsible for more than one fifth of all deaths in the world due to its complications¹. It is a disease that for years may be present subclinically until symptoms become evident, sometimes acute ischemia of organs and sometimes with fatal consequences. Atherosclerosis is characterized by lipid accumulation in vascular walls with formation of foam cells with large lipid inclusions in the cytoplasm; for this reason the current treatment is directed to the normalization of blood lipids, and the decrease and treatment of risk factors: hypertension, diabetes, smoking, among others. But the current treatment does not focus on the development of atherosclerotic plaque itself to avoid reaching symptomatic treatment and complications; this is why for years many studies have focused on (1) knowledge of the atherosclerotic process, (2) what mechanisms influence it and (3) what endothelial changes occur at this level; all to develop strategies to treat the development and progression of this disease.

Numerous authors have observed that inflammation and immune mechanisms influence the development of arterial disease in vessels of all sizes, of different

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

degree and in all layers of the artery, not only in terms of the intimal layer where early studies had focused¹⁰⁹. The innate immune system plays an important role in the onset and progression of atherosclerosis. The monocyte/macrophage system also has a role in this process¹¹⁰, from migration of monocytes into the vessel wall to the development of complications of arterial disease¹¹¹. The importance of the different subtypes of monocytes in cardiovascular disease has been confirmed in several studies of animal models¹¹² in different and clinical studies¹¹³. The circulating monocyte is a versatile progenitor cell that gives rise to various cell types; it is generated from a hematopoietic stem cell, common myeloid progenitor and progenitor granulocyte/monocyte precursor representing monoblasts populations. Different subsets of monocyte appear to reflect different stages of development with physiological functions. When they are not recruited by inflammatory lesions they can mature into macrophages from normal tissues and Kuffer cells, Langerhans cells of the skin, osteoclasts or endothelial cells¹¹⁴. This is why recent research protocols are designed to induce from monocytes cultured in vitro, where cells derived from monocytic origin differentiate into cells with specific characteristics such as endothelial, chondrocytes, etc..^{115,116}.The importance of this knowledge is geared toward using these cells in regenerative medicine and stem cell-like cells.

The vascular endothelium plays a critical role in the pathogenesis of many inflammatory and thrombotic disorders. Continuous damage of the vascular endothelium leads to its dysfunction that affects patient prognosis¹¹⁷.The balance

between endothelial dysfunction and repair is influenced by many factors in the blood circulating both protective and aggressive. Its evaluation is important to reduce cardiovascular events¹¹⁸.

Among the factors involved in maintaining endothelial integrity, an important mechanism is the ability to repair the endothelium, which involves the mobilization of endothelial progenitor cells (EPC). These EPCs are precursor cells derived from bone marrow that are circulating in peripheral blood.

In recent years EPCs have acquired an important role in scientific research because of their potential use for diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. Their ability to circulate in peripheral blood, proliferate and cause functional progeny has also aroused great interest for therapeutic use of these EPCs, especially in the treatment of atherosclerotic diseases. However, there are many aspects of those cells that are still subject to debate. It is important to know the mechanisms by which the EPCs are affected at different stages of cardiovascular disease for specific interventions to focus on improving the number and function of these cells in the treatment of atherosclerotic disease.

As a result of endothelial damage, cell death (apoptosis) occurs with the release of endothelial microvesicles (MVs). MVs (CD31 / annexin V), have been postulated in recent years as a diagnostic biomarker in cardiovascular and inflammatory diseases and cancer¹¹⁹, and even appear to predict survival of patients with heart

failure regardless of age, gender and ejection fraction¹²⁰. Therefore we have considered potential targets for pharmacological modulation and, thus, control over the process of atherogenesis.

A better understanding of these factors, monocytes (CD14++ CD16, CD14+ CD16+ and CD14++CD16+), endothelial progenitor cells (EPCs) and endothelial microvesicles (MVs), may help improve diagnostic and therapeutic perspectives in patients with initial and advanced atherosclerosis such as heart failure post infarction. Such pathology carries a high incidence of significant morbidity and mortality. We have therefore focused on evaluating the changes that occur with these events in patients undergoing coronary revascularization.

Monocytes/macrophages play a key role in the immune reactions network. Depending on activation, they can produce cytokines which act by regulating other immune system cells. Moreover, these cells present antigens such as HLA-DR molecules acting as an initial trigger a response of antigen specific T cells.

As previously described, in healthy subjects most monocytes (classical monocytes) routinely express high levels of CD14 molecule and do not express the CD16 (CD14++CD16-)¹²¹, antigen, while less than 10% of monocytes express the CD16 antigen¹²². Depending on the density of expression of CD14 and CD16 molecules, the latter are subdivided into CD14++CD16+, also called nonclassical or proinflammatory monocytes, and CD14+CD16+¹²³, or cardiovascular monocytes.

Endothelial progenitor cells (EPCs) are the first cells mobilized to contribute to postnatal vasculogenesis, and do so in the event that endothelial continuity must be restored. The process of recruitment of EPCs from bone marrow is started by the activation of several proinflammatory cytokines and growth factors. Although EPCs represent only 0.0001% - 0.01% of the peripheral mononuclear blood cells (PBMCs), it is known to be a key cell in the repair process of the vascular endothelium and have the ability to proliferate, migrate and differentiate into mature endothelial cells¹²⁴. The ability to repair vascular damage depends on the number and functionality of these EPCs; which are involved in a variety of diseases, including atherosclerosis. In the 2001 study TOPCARE-AMI, it was demonstrated that in a group of 95 patients with acute myocardial infarction where percutaneous revascularization (stent) is initiated, that intracoronary infusion of EPCs was associated with an increase in the ejection fraction of the left ventricle, telesistolic volume reduction after 4 months of treatment, suggesting a beneficial effect on the process of postinfarction remodeling. These changes persisted after 5 years of follow-up¹²⁵.

As a result of endothelial damage in patients with atherosclerosis, a process starts that triggers cell apoptosis, which causes loss of endothelial integrity. This apoptosis is associated with changes in the cell membrane, nucleus condensation, DNA fragmentation and release of small particles (<1.5 μ m) called microvesicles (MVs)¹²⁶; MVs containing these membrane proteins and the cytosolic cell material originating¹²⁷. Microparticles derived from endothelial cells exposed in their

membrane phospholipids like phosphatidylserine that bind to Annexin V and membrane proteins of the cell that originates as the CD31 molecule, and these MVs are considered a marker of endothelial damage.^{128,129,130,131}

Our study included all patients admitted for elective or emergency coronary artery bypass shape from May 2009 to May 2010 with revascularizable isolated coronary disease. In order to eliminate the factor extracorporeal circulation, another group of patients was included who had been admitted for single valve surgery without symptoms of atherosclerotic disease. Finally we included a recruited group of healthy control subjects with no cardiovascular risk factors to determine a pattern of normality in the population and thus were able to discern the results due to revascularization of hibernating myocardium itself.

Initially we described the influence of surgical coronary revascularization on the percentages of the 3 subtypes of monocytes (CD14++CD16, CD14++CD16+ and CD14+CD16+) and found that, at baseline, coronary patients have lower peripheral blood levels CD14++CD16 compared to healthy subjects. During surgery, these CD14++CD16 cells showed a slight decrease subsequently recovered from the immediate postoperative almost to their initial levels at study completion. In the group of valvular patients we have observed that they had lower baseline levels of CD14++CD16 that coronary patients. During surgery the levels dropped further, and recovering the immediate postoperative period baseline levels increased upon study completion.

CD14+CD16+ monocytes are also called pro-inflammatories and produce high levels of pro-inflammatory cytokines such as TNF α and IL-1 and a low number of anti-inflammatory cytokines (IL-10)¹³², and that are elevated in individuals with a disease associated the development of chronic inflammation and atherosclerosis¹³³, as well as valvular disease and severe aortic stenosis¹³⁴.; We observed higher levels in valvular patients, including mitral and aortic valve disease, as well as in patients with established coronary atherosclerosis and in healthy controls. During surgery a slight initial increase is seen in a first phase, which could be explained by the usual systemic inflammatory response during which this occurs¹³⁵. Surgery, by the same surgical trauma, or by contact of the blood with the cardiopulmonary bypass apparatus (in the case of coronary patients), is combined with the development of myocardial ischemia in the bypass^{136,137}, with subsequent reperfusion, and with the release of endotoxins to restore circulation of a hibernating ischemic tissue which can temporarily exacerbate the injury¹³⁸ and initiate the cascade of inflammatory response when the participation of monocytes is included. In our study we found that the subpopulation of CD14+CD16+ monocytes after 4 hours after surgery began to gradually descend until the study ended in both groups of patients, although this decline was more striking in the valvular group.

Regarding the CD14++CD16+, related to cardiovascular risk coronary patients showed very high baseline levels compared with healthy controls and patients with valvular disease. These findings were expected and have been observed by other

groups studying monocyte revascularizable coronary disease^{139,140}. However, our study adds to this foreknowledge observation of changes arising as a result of the surgical procedure. Postoperatively, the CD14++CD16+ monocytes showed a consistent and significant progressive decrease compared even with their baseline levels. Strikingly, in the group of valvular patients, although they showed slightly higher levels than healthy controls, little variation was observed during the postoperative period.

All these findings suggest that coronary artery bypass surgery has a very positive impact on subpopulations of monocytes, especially those related to cardiovascular risk CD14++CD16+, while in the case of valvular patients, surgery also had an effect improving the percentage of the monocyte subpopulation that has been linked to inflammation (CD14+CD16+). However there are studies which differ in this respect and suggest that monocyte function is adversely affected by the surgery, producing a potential risk for postoperative septic complications and death^{141,142}. However, this controversy can be explained because these studies were conducted in patients with open and laparoscopic abdominal surgery, surgeries considered either clean or contaminated with a greater chance of infection. Nevertheless, our study included a group of patients for coronary artery bypass and valve replacement, surgeries considered clean, and we observed no negative involvement in any of the subgroups of monocytes as a result of surgery.

By studying the biochemical CPK and Troponin parameters as markers of myocardial ischemia, and PCR and Procalcitonin as inflammatory markers in patients undergoing coronary artery bypass, we noted that baseline cardiac troponin I, which is a very sensitive and specific marker of myocardial injury 143, has a statistically significant relationship in the percentage of CD14+CD16++ (related cardiovascular events). During the postoperative period, CD16++CD14 classical monocytes have a significant inverse relationship with CRP which is a soluble inflammatory marker ¹⁴⁴.

Thus far very few studies determine the effect of surgery and cardiopulmonary bypass (CPB) on populations of monocytes in patients with coronary heart disease. Some authors have used in vitro models ^{145,146} or models with simulated CEC animals to observe activation of the circulation of polymorphonuclear leukocytes (PMN) or monocytes during extracorporeal circulation (ECC). These studies found that the CEC can stimulate leukocyte production level bone marrow by poorly understood mechanisms. However all these models do not fully represent the reality of a surgical patient. Yet this might give rise to the thought that the CEC could have an effect on the variation of subpopulations of monocytes. However, when our study compared the patients with coronary surgery without CEC CEC found no statistically significant differences in subpopulations of monocytes. This leads us to believe that the observed changes are due to revascularization of hibernating myocardium.

To assess endothelial damage in patients, we studied endothelial precursor cells (EPCs) and the number of endothelial microvesicles (MVs). Several authors have found an inverse correlation between the values of EPCs and the risk of coronary heart disease^{147, 148}. EPCs classically express marrow precursor marker cells as the CD34 molecule, and endothelial lineage markers CD133 and VEGFR2 like. EPCs have been proposed as biomarkers of atherosclerosis and their number is inversely related to the presence and progression of atherosclerotic disease, with the highest incidence of cardiovascular events¹⁴⁹. We have seen that when comparing the levels found in EPCs healthy controls and those found in patients with coronary heart disease prior to surgical revascularization, the first group had significantly higher levels compared to patients.

EPCs cells are mobilized to various stimuli contributing to neoangiogenic process of damaged endothelium. This is one of the conclusions of the study by Gill et al¹⁵⁰, in which patients with vascular injury were included for CABG and burn patients where a rapid increase EPCs 6-12 hours followed by a decrease in these levels at 48 hours are described, suggesting that this transient increase was due to an angiogenic vascular trauma stress that induces cell mobilization. In our study we observed that the increase in these EPCs cells in patients with coronary revascularization was gradual with a higher elevation at 48 hours and we observed no decrease in the time period studied. However, in other studies in obese patients undergoing knee surgery, it was found that in response to surgical injury, EPCs are adversely affected¹⁵¹. However, these patients did not have established

atherosclerosis, so their surgical behavior can be very different from our study group. In addition, it has been previously described that the body mass index (BMI) is inversely related to the EPCs¹⁵², however we have not found any relationship at baseline and during the time studied.

As found by Hill et al¹⁵³, the circulating number of EPCs is a better predictor of vascular reactivity than the rest of cardiovascular risk factors. In addition, as EPCs have repair ability in places of vascular injury, the latest research is directed to the therapeutic use of these cells related to neo angiogenesis. Patients with coronary disease have deterioration in the migratory response of these cells and their number is related to the severity of coronary heart disease^{154,155}. Initial clinical studies in a model of rats with myocardial infarction, intravenous injection of human CD34+ cells, induced an improvement in vascularization and left ventricular function. However, when performing the infusion directly to the myocardium, the response at the heart level was not as expected, since only an 8% increase in cells was found when the injection was made directly to the left ventricle¹⁵⁶. In patients at high risk who must to undergo coronary percutaneous revascularization, stent-grafts have been placed that capture EPCs since they have anti-human CD34 antibodies, whose function would be to attract cells to accelerate healing and reduce the risk of re-stenosis and thrombosis in the stent. However, the long-term results have not yet been published¹⁵⁷. In our study, we observed that coronary surgery by itself produces a progressive increase in EPCs in peripheral blood, levels that remain high until the end of the study. This increase was independent of

the use or not of the use of cardiopulmonary bypass. It is likely that this increase in EPCs is due to increased blood flow in hibernated areas that stimulate the production of these cells.

The high levels of MVs are found in patients with various pathological conditions, such as venous and arterial thrombotic diseases¹⁵⁸, sepsis, diabetes, preeclampsia¹⁵⁹, and its increase has been implicated in the development and progression of atherosclerosis. Nozaki and colleagues came to the conclusion that MVs are a predictor of future cardiovascular events in a population with high Framingham risk score¹⁶⁰. On the other hand, other studies show that these MVs are related to the body mass index (BMI)¹⁶¹ and high blood pressure (HBP)¹⁶². However, in our study, patients with coronary disease did not show a significant association between BMI and MVs, nor did they correlate with HT.

MVs can induce the progression and deterioration of endothelial function by the expression of different adhesion molecules, type 2 endothelial cyclooxygenase, cytokine release and the alteration of nitric oxide released from endothelial cells¹⁶³. Several studies report that MVs are significantly higher in patients with coronary syndrome compared to healthy people^{164, 165, 166}. Specifically, high MV levels were found in patients with acute coronary syndrome compared to patients with stable angina^{167, 168}. In a study with patients with coronary artery disease, MV levels correlated with coronary artery stenosis and severity, and MVs were found to be higher in patients with stenosis of the anterior descending artery compared to

patients with right coronary stenosis, including disease of the 3 vessels¹⁶⁹. Our study confirms this large difference in MVs between healthy controls and coronary patients. MVs have lower levels in healthy controls and are found to be significantly elevated in patients undergoing coronary revascularization. However, we have not found studies that analyze the trend of these MVs in coronary patients after revascularization of a hibernating myocardium. We have observed that surgery induces a transient increase in MVs in the immediate postoperative period (4 hours) as observed by Fink et al. In 2010, they conducted a study in patients with cardiopulmonary resuscitation who presented the same transient elevation of MVs. These authors suggest that this increase may be due to reperfusion ischemia. Probably in our study the increase in MVs may also have a similar cause in the immediate postoperative period; however, and consequently, our patients show a very striking decrease in MVs, reaching levels even lower than those observed before the intervention. These changes did not have a significant correlation with the surgical risk taken by EUROSCORE.

Although these measurements are made within the early postoperative period, there was a significant decrease in the number of MVs with respect to the baseline levels. Possibly, having been able to continue the study for a longer time, the levels of MVs could be even closer to the values obtained in healthy subjects. Additionally, when we observed the group of coronary patients with extracorporeal circulation with respect to those who underwent heart beating, we did not observe statistically

significant changes in the levels of the MVs. Therefore, the CEC does not seem to have a significant effect on the levels of MVs.

Finally, and it may be one of the most important contributions of our work when we relate the levels of EPCs with that of the MVs, we observe a very significant linear relationship between these two parameters from the moment prior to the intervention until the end of the study. we have found that as the EPCs increased, the MVs decreased. However, when we carried out the correlation studies with the biochemical parameters PCR, CPK, Procalcitonin and Troponin-I, there was no significant relationship in any of the times measured.

Currently, due to the participation of MVs in several stages of atherosclerosis and their relationship with increased risk for major complications, they have been proposed as therapeutic targets and could even be vectors of gene therapies. For this reason, current studies suggest the incorporation of mRNAs that hypothetically can modulate these MVs¹⁷⁰. However, it is important to know even better the role of MVs in different pathologies to establish and improve the possibility of their clinical use.

CONCLUSIONES

Conclusiones

1. Los monocitos CD14++CD 16 + relacionados con riesgo cardiovascular en los pacientes coronarios se encuentran aumentados con respecto a los controles sanos y a lo largo del procedimiento quirúrgico disminuyen significativamente.
2. Los pacientes coronarios y los valvulares tienen unos niveles de monocitos CD14++CD16- menores que los controles sanos y durante el postoperatorio inmediato estos niveles aumentan significativamente con descenso a sus niveles basales a las 48 horas.
3. Los pacientes Valvulares tienen más porcentaje de monocitos CD14+CD16+ relacionados con la inflamación en comparación con los pacientes coronarios y los controles sanos, presentando una disminución importante en el postoperatorio.
4. Los niveles de monocitos no son estadísticamente diferentes en los pacientes coronarios intervenidos con circulación extracorpórea con respecto a los pacientes intervenidos a sin esta.
5. La PCR aumenta significativamente a partir de las 4 horas postoperatorias en los pacientes coronarios y en los pacientes s valvulares tienen un pico a las 24 horas que desciende a las 48 horas.

6. Los niveles de PCR, CPK, Procalcitonina y Troponina I no varían según el uso o no de la Circulación extracorpórea.
7. Las Células progenitoras de endotelio (EPCs) que son un marcador de la capacidad regenerativa del endotelio se encuentran disminuidos en los pacientes coronarios.
8. El procedimiento de revascularización coronaria produce un aumento significativo de las EPCs.
9. Las microvesículas endoteliales (MVs) que se producen por daño celular, están más elevadas en los pacientes coronarios con respecto a los sanos.
10. El número de MVs se incrementa durante la intervención y en el postoperatorio inmediato (4 horas) estos niveles comienzan a disminuir.
11. Los niveles de MVs al finalizar el estudio (48 horas) son menores con respecto a los valores iniciales.
12. El Uso o no de la circulación extracorpórea no cambia los niveles de las MVs.
13. En los pacientes coronarios a medida que tienen más número de MVs tienen menores valores de EPCs.
14. Los valores bioquímicos estudiados PCR, CPK, Procalcitonina y Troponina-I no mostraron diferencias en los pacientes intervenidos con Circulación extracorpórea con respecto a los que no se utilizó circulación extracorpórea.

CONCLUSIONS

Conclusions

1. CD14+CD16+ monocytes related to cardiovascular risk in coronary patients are increased compared to healthy controls and during the surgical procedure they decrease significantly.
2. Coronary and valvular patients have CD14+CD16 monocyte levels lower than healthy controls and during the immediate postoperative period these levels increase significantly with decrease to baseline levels at 48 hours.
3. Valvular patients have a higher percentage of CD14+CD16+ monocytes related to inflammation compared to coronary patients and healthy controls, presenting a significant decrease in the postoperative period.
4. Monocyte levels are not statistically different in coronary patients operated on with extracorporeal circulation with respect to patients operated on without it.
5. CRP increases significantly after 4 hours postoperatively in coronary patients and valvular patients have a peak at 24 hours that drops to 48 hours.

6. The levels of CRP, CPK, Procalcitonin and Troponin I do not vary according to the use or not of Extracorporeal Circulation.

7 Endothelial progenitor cells (EPCs), which are a marker of the regenerative capacity of the endothelium, are diminished in coronary patients.

8. The coronary revascularization procedure produces a significant increase in EPCs.

9. Endothelial microvesicles (MVs) that are produced by cellular damage are higher in coronary patients than in healthy patients.

10. The number of MVs increases during the intervention and in the immediate postoperative period (4 hours) these levels begin to decrease.

11. The levels of MVs at the end of the study (48 hours) are lower compared to the initial values.

12. The use or not of extracorporeal circulation does not change the levels of the MVs.

13. In coronary patients, as the number of MVs increases, the number of EPCs decreases.

14. The biochemical values studied for CRP, CPK, Procalcitonin and Troponin-I did

not show differences in patients operated on with extracorporeal circulation compared to those in whom extracorporeal circulation was not used.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

¹ López AD, Murray CJL. The global burden of disease, 1990–2020. Nat Med. 1998;4:1241-3.

² Braunwald, Eugene. Tratado de medicina cardiovascular. 8.ed. 2006. v. 2.

³ Mohr FW, Morice MC, Kappetein AP, Feldman TE, Stähle E, Colombo A, Mack MJ, Holmes DR Jr, Morel MA, Van Dyck N, Houle VM, Dawkins KD, Serruys PW. Coronary artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention in patients with three-vessel disease and left main coronary disease: 5-year follow-up of the randomised, clinical SYNTAX trial. Lancet. 2013 Feb 23;381(9867):629-38.

⁴ Gibbon JH., Jr Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. Minn Med. 1954;37:171–185.

⁵ Ferguson TB, Jr, Hammill BG, Peterson ED, DeLong ER, Grover FL. A decade of change—risk profiles and outcomes for isolated coronary artery bypass grafting procedures, 1990–1999: a report from the STS National Database Committee and the Duke Clinical Research Institute. Society of Thoracic Surgeons. Ann Thorac Surg. 2002;73:480–489.

⁶ Hall Jhon E, Compendio de fisiología médica guyton y Hall. 12^o edición. Editorial Elsevier. 2012. Capítulo III. El corazón.

-
- ⁷ Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C Jr, Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation*. 1990 Sep;82(3 Suppl):II2-12.
- ⁸ Férrez Santander SM, Márquez MF, Peña Duque MA, Ocaranza Sánchez R, de la Peña Almaguer E, Eid Lidt G. [Myocardial reperfusion injury]. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57 Suppl 1:9-21. Review.
- ⁹ Rosenkraz ER, Buckberg GD. Myocardial protection during surgical coronary reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983;1:1235-46.
- ¹⁰ Myerburg RJ. Sudden cardiac death: exploring the limits of our knowledge. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2001 Mar;12(3):369-81. Review.
- ¹¹ Appleyard RF, Cohn LH. Myocardial stunning and reperfusion injury in cardiac surgery. *J Card Surg*. 1993 Mar;8(2 Suppl):316-24. Review.
- ¹² Mentzer RM Jr. Myocardial protection in heart surgery. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2011 Sep-Dec;16(3-4):290-7.
- ¹³ GUYTON RA: *The Myocardium: Physiology and Protection During Cardiac Surgery and Cardiopulmonary Bypass* . Baltimore. Ed. Williams and Wilkins. 1995: 21-35.
- ¹⁴ Lichtenstein SV, Ashe KA, el Dalati H, Cusimano RJ, Panos A, Lustsky AS. Warm heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*.1991 Feb; 101 (2):269-274. Pubmed PMID: 1992237.
- ¹⁵ Moat NE, Rebuck N, Shore DF. Humoral and cellular activation in a simulated extracorporeal circuit. *Ann Thorac Surg* 1993; 6:1509-1514.

-
- ¹⁶ Carrel A. On the experimental surgery of the thoracic aorta and the heart. *Ann Surg* 1910; 52: 83-87.
- ¹⁷ Favaloro RG. Landmarks in the development of coronary artery bypass surgery. *Circulation* 1998;98:466-478.
- ¹⁸ Green GE, Stertzer SH Reppert EH. Coronary arterial bypass grafts. *Ann Thorac Surg* 1968; 5: 443-450.
- ¹⁹ Marx R, Jax TW, Kelm M, Schoebel FC, Strauer, BE. Vineberg graft: Flow reserve of bilateral implantation after 27 years. *Ann Thorac Surg* [Seriada en línea] 2001;71:341-3.
- ²⁰ COHN L: *Cardiac Surgery in the adult*. Boston, Massachusetts. Ed Mc Graw Hill. 2008:551-572.
- ²¹ Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, Filippatos G, Hamm C, Head SJ, Jüni P, Kappetein AP, Kastrati A, Knuuti J, Landmesser U, Laufer G, Neumann FJ, Richter DJ, Schauerte P, Sousa Uva M, Stefanini GG, Taggart DP, Torracca L, Valgimigli M, Wijns W, Witkowski A. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J*. 2014 Oct 1;35(37):2541-619.
- ²² Hickey GL, Grant SW, Murphy GJ, Bhabra M, Pagano D, McAllister K, Buchan I, Bridgewater B. Dynamic trends in cardiac surgery: why the logistic EuroSCORE is no longer suitable for contemporary cardiac surgery and implications for future risk models. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2013 Jun;43(6):1146-52.

²³ Biancari F, Vasques F, Mikkola R, Martin M, Lahtinen J, Heikkinen J. Validation of EuroSCORE II in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 2012 Jun;93(6):1930-5.

²⁴ Shahian DM, O'Brien SM, Filardo G, Ferraris VA, Haan CK, Rich JB, Normand SL, DeLong ER, Shewan CM, Dokholyan RS, Peterson ED, Edwards FH, Anderson RP; Society of Thoracic Surgeons Quality Measurement Task Force. The Society of Thoracic Surgeons 2008 cardiac surgery risk models: part 1--coronary artery bypassgrafting surgery. *Ann Thorac Surg.* 2009 Jul;88(1 Suppl):S2-22.

²⁵ O'Brien SM, Shahian DM, Filardo G, Ferraris VA, Haan CK, Rich JB, Normand SL, DeLong ER, Shewan CM, Dokholyan RS, Peterson ED, Edwards FH, Anderson RP; Society of Thoracic Surgeons Quality Measurement Task Force. The Society of Thoracic Surgeons 2008 cardiac surgery risk models: part 2--isolated valve surgery. *Ann Thorac Surg.* 2009 Jul;88(1 Suppl):S23-42.

²⁶ SEC/SECTCV Working Group, Cequier A. Comments on the 2014 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2015 Feb;68(2):92-7.

²⁷ Stephenson LW. History of cardiac surgery. En: Cohn L, ed. *Cardiac surgery in the adult.* 3rd edition. New York: Mc Graw Hill; 2008. p. 3-28.

²⁸ Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP 3rd, Guyton RA, O'Gara PT, Ruiz CE, Skubas NJ, Sorajja P, Sundt TM 3rd, Thomas JD; ACC/AHA Task Force Members. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2014 Jun 10;129(23):e521-643.

²⁹ Raju TN. The Nobel chronicles. 1998: Robert Francis Furchgott (b 1911), Louis J Ignarro (b 1941), and Ferid Murad (b 1936). *Lancet*. 2000 Jul 22;356(9226):346.

³⁰ Mitka, M (1998), «1998 Nobel Prize winners are announced: three discoverers of nitric oxide activity.», *JAMA* **280** (19): 1648, 1998 Nov 18, PMID:9831980.

³¹ Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*. 2004 Jun 1;109(21 Suppl 1):II27-33. Review. PubMed PMID: 15173060.

³² Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26. Review. PubMed PMID: 9887164.

³³ Griffin J, Arif S, Mufti A. Principles of immunity. En: Horton-Szar D, editor. *Immunology and haematology*. Londres: Mosby .

³⁴ Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002 Mar 5;105(9):1135-43.

³⁵ Murdaca G, Colombo BM, Cagnati P, Gulli R, Spanò F, Puppo F. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases. *Atherosclerosis*. 2012 Oct;224(2):309-17.

³⁶ Peters MJ, van der Horst-Bruinsma IE, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk profile of patients with spondylarthropathies, particularly ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2004 Dec;34(3):585-92.

-
- ³⁷ Singh S, Singh H, Loftus EV Jr, Pardi DS. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Mar;12(3):382-93.
- ³⁸ Steyers CM, Miller FJ. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *Int J Mol Sci*. 2014 Jun 25;15(7):11324-49.
- ³⁹ Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999 Feb 11;340(6):448-54. Review. Erratum in: *N Engl J Med* 1999 Apr 29;340(17):1376.
- ⁴⁰ Van Vugt SF, Broekhuizen BD, Lammens C, Zuithoff NP, de Jong PA, Coenen S, Ieven M, Butler CC, Goossens H, Little P, Verheij TJ; GRACE consortium. Use of serum C reactive protein and procalcitonin concentrations in addition to symptoms and signs to predict pneumonia in patients presenting to primary care with acute cough: diagnostic study. *BMJ*. 2013 Apr 30;346:f2450.
- ⁴¹ Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of *Pneumococcus*. *J Exp Med* 1930;52:561–71.
- ⁴² Su L, Han B, Liu C, Liang L, Jiang Z, Deng J, Yan P, Jia Y, Feng D, Xie L. Value of soluble TREM-1, procalcitonin, and C-reactive protein serum levels as biomarkers for detecting bacteremia among sepsis patients with new fever in intensive care units: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2012 Jul 18;12:157.

-
- ⁴³ Meisner M, Adina H, Schmidt J. Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. *Crit Care*. 2006 Feb;10(1):R1.
- ⁴⁴ Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000 Oct 31;102(18):2165-8.
- ⁴⁵ Zhang YX, Cliff WJ, Schoefl GI, Higgins G. Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999;145:375–9.
- ⁴⁶ Jialal I, Verma S, Devaraj S. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase by C-reactive protein: clinical relevance. *Clin Chem* 2009;55: 206–8.
- ⁴⁷ High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: From improved risk prediction to risk-guided therapy Koenig, Wolfgang *International Journal of Cardiology* , Volume 168 , Issue 6 , 5126 - 5134 .
- ⁴⁸ Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868–74.
- ⁴⁹ Becker KL, Nysten ES, White JC, Muller B, Snider RH Jr. Clinical review 167: procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1512–25.
- ⁵⁰ García-Moll X, Guindo J, Kaski JC. Proteína C reactiva como factor de riesgo coronario. *Med Clin (Barc)* 2001;117:303-8.

⁵¹ Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013;13:426-35.

⁵² Schneider CP, Yilmaz Y, Kleespies A, Jauch KW, Hartl WH. Accuracy of procalcitonin for outcome prediction in unselected postoperative critically ill patients. *Shock*. 2009; 31:568–73.

⁵³ Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Anker SD. Pyrexia, pro calcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol*. 1999;72:3–10.

⁵⁴ Fernández Lopez A, Luaces Cubells C, García García JJ, Fernández Pou J; Spanish Society of Pediatric Emergencies. Procalcitonin in pediatric emergency departments for the early diagnosis of invasive bacterial infections in febrile infants: results of a multicenter study and utility of a rapid qualitative test for this marker. *Pediatr Infect Dis J*. 2003 Oct;22(10):895-903.

⁵⁵ Sponholz C, Sakr Y, Reinhart K, Brunkhorst F. Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Crit Care*. 2006;10(5):R145. Review.

⁵⁶ Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1987 Jun;113(6):1333-44.

⁵⁷ Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman MS, McCabe CH, Cannon CP et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335: 1.342-1.349.

⁵⁸ García de la Villa B, Díaz-Buschmann I, Alfonso Jurado J, García R, Javier Parra F, Medina J, San Martín MA, de los Reyes M, Hernández-Madrid A, Manuel del Rey J, Manuel Escribano J. [The value of cardiac troponin I as diagnostic test in the study of chest pain]. Rev Esp Cardiol. 1998 Feb;51(2):122-8.

⁵⁹ Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. Surgery. 2000 Feb;127(2):117-26. Review.

⁶⁰ Meisner M, Tschakowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. Intensive Care Med. 1998 Jul;24(7):680-4.

⁶¹ Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ, Jakubzick C, Spanbroek R, Llodra J, Garin A, Liu J, Mack M, van Rooijen N, Lira SA, Habenicht AJ, Randolph GJ. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. J Clin Invest. 2007 Jan;117(1):185-194.

⁶² Schlitt A, Heine GH, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Dopheide JF, Bickel C, Lackner KJ, Iz M, Meyer J, Darius H, Rupprecht HJ. CD14⁺CD16⁺ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF- α levels. Thromb Haemost. 2004 Aug;92(2):419-24.

⁶³ Ulrich C, Heine GH, Gerhart MK, Köhler H, Girndt M. Proinflammatory CD14⁺CD16⁺ monocytes are associated with subclinical atherosclerosis in renal transplant patients. Am J Transplant. 2008 Jan;8(1):103-10.

⁶⁴ Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. Blood. 1989;74(7):2527-2534.

⁶⁵ Nahrendorf M, MD, PhD; Pittet M, PhD; Swirski F, PhD. Monocytes: Protagonists of Infarct Inflammation and Repair after myocardial Infarction. *Circulation* 2010; 121; 2437- 2445.

⁶⁶ Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*. 1989;74:2527–2534.

⁶⁷ Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, Leenen PJ, Liu YJ, MacPherson G, Randolph GJ, Scherberich J, Schmitz J, Shortman K, Sozzani S, Strobl H, Zembala M, Austyn JM, Lutz MB. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 2010; 116: e74–80.

⁶⁸ Belge, K.U., F. Dayyani, A. Horelt, M. Siedlar, M. Frankenberger, B. Frankenberger, T. Espevik, and L. Ziegler-Heitbrock. 2002. The proinflammatory CD14⁺CD16⁺DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF. *J. Immunol.* 168:3536–3542.

⁶⁹ Ancuta P, Rao R, Moses A, Mehle A, Shaw SK, Luscinskas FW, Gabuzda D. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16⁺ monocytes. *J Exp Med.* 2003 Jun 16;197(12):1701-7.

⁷⁰ Ahmad F, Mishra N, Ahrenstorf G, Franklin BS, Latz E, Schmidt RE, Bossaller L. Evidence of inflammasome activation and formation of monocyte derived ASC-specks in HIV-1 positive patients. *AIDS*. 2017 Nov 10.

⁷¹ Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, Espevik T, Ziegler-Heitbrock L. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol*. 2002 Apr 1;168(7):3536-42.

⁷² Tsujimoto H, Ono S, Hiraki S, Majima T, Kawarabayashi N, Sugawara H, Kinoshita M, Hiraide H, Mochizuki H. Hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fibers reduced the number of CD16+ CD14+ monocytes in patients with septic shock. *J Endotoxin Res*. 2004;10(4):229-37.

⁷³ Petrova V, Funderburg N, Weinberg A, Sieg S. Human beta defensin-3 induces chemokines from monocytes and macrophages: Diminished activity in cells from HIV-infected persons. *Immunology*. 2013 Jul 6.

⁷⁴ Baeten, D., Boots, A. M., Steenbakkens, P. G., Elewaut, D., Bos, E., Verheijden, G. F., Berheijden, G., Miltenburg, A. M., Rijnders, A. W., Veys, E. M., De Keyser, F. (2000) Human cartilage gp-39+, CD16+ monocytes in peripheral blood and synovium: correlation with joint destruction in rheumatoid arthritis *Arthritis Rheum*. 43, 1233-1243.

⁷⁵ Nakatani, K., Takeshita, S., Tsujimoto, H., Kawamura, Y., Kawase, H., Sekine, I. (1999) Regulation of the expression of Fc γ receptor on circulating neutrophils and monocytes in Kawasaki disease Clin. Exp. Immunol. 117,418-422.

⁷⁶ Katayama, K., Matsubara, T., Fujiwara, M., Koga, M., Furukawa, S. (2000) CD14+CD16+ monocyte subpopulation in Kawasaki disease Clin. Exp. Immunol. 121,566-570.

⁷⁷ Czepluch FS, Kuschieke H, Dellas C, Riggert J, Hasenfuss G, Schäfer K. Increased pro-atherogenic monocyte-platelet crosstalk in monocyte subpopulations of patients with stable coronary artery disease. J Intern Med. 2013 Oct 11.

⁷⁸ Schlitt, A., Heine, G. H., Blankenberg, S., Espinola-Klein, C., Dopheide, J. F., Bickel, C., Lackner, K. J., Iz, M., Meyer, J., Darius, H., Rupprecht, H. J. (2004) CD14+CD16+ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF- α levels *Thromb. Haemost.* 92,419-424.

⁷⁹ Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. J Exp Med. 2007 Nov 26;204(12):3037-47.

⁸⁰ Tsujioka H, Imanishi T, Ikejima H, Kuroi A, Takarada S, Tanimoto T, Kitabata H, Okochi K, Arita Y, Ishibashi K, Komukai K, Kataiwa H, Nakamura N, Hirata K,

Tanaka A, Akasaka T. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:130–138.

⁸¹ Rogacev KS, Seiler S, Zawada AM, Reichart B, Herath E, Roth D, Ulrich C, Fliser D, Heine GH. CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *Eur Heart J* 2010; 32: 84–92.

⁸² Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007 May;21(3):157-71.

⁸³ Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Bidot CJ, Ahn YS. Endothelial microparticles (EMP) as vascular disease markers. *Adv Clin Chem.* 2005;39:131-57. Review.

⁸⁴ Distler JH, Huber LC, Gay S, Distler O, Pisetsky DS. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity.* 2006;39(8):683–90.

⁸⁵ Berezin AE, Kremzer AA, Martovitskaya YV, Samura TA, Berezina TA. The Association of Subclinical Hypothyroidism and Pattern of Circulating Endothelial-Derived Microparticles Among Chronic Heart Failure Patients. *Res Cardiovasc Med.* 2015 Sep 14;4(4):e29094.

⁸⁶ Araujo JA. ¿Las partículas ultrafinas son un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares?. *Rev Esp Cardiol.* 2011; 64:642-5.

⁸⁷ Mallat Z, Benamer H, Hugel B, Benessiano J, Steg PG, Freyssinet JM, et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101:841-3.

⁸⁸ Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F et al. Membrane-derived microvesicles: Important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia* 2006;20:1487–1495.

⁸⁹ Bobis-Wozowicz S, Kmiotek K, Sekula M, Kedracka-Krok S, Kamycka E, Adamiak M, Jankowska U, Madetko-Talowska A, Sarna M, Bik-Multanowski M, Kolcz J, Borucki D, Madeja Z, Dawn B, Zuba-Surma EK. Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Microvesicles Transmit RNAs and Proteins to Recipient Mature Heart Cells Modulating Cell Fate and Behavior. *Stem Cells*. 2015 Sep;33(9):2748-61.

⁹⁰ Wu SY, Mayneris-Perxachs J, Lovegrove JA, Todd S, Yaqoob P. Fish-oil supplementation alters numbers of circulating endothelial progenitor cells and microparticles independently of eNOS genotype. *Am J Clin Nutr*. 2014 Nov;100(5):1232-43.

⁹¹ Suades R, Padró T, Alonso R, Mata P, Badimon L. Lipid-lowering therapy with statins reduces microparticle shedding from endothelium, platelets and inflammatory cells. *Thromb Haemost*. 2013 Aug;110(2):366-77.

⁹² Pelletier F, Garnache-Ottou F, Biichlé S, Vivot A, Humbert P, Saas P, Seillès E, Aubin F. Effects of anti-TNF- α agents on circulating endothelial-derived and platelet-derived microparticles in psoriasis. *Exp Dermatol*. 2014 Dec;23(12):924-5.

⁹³ Berezin A, Zulli A, Kerrigan S, Petrovic D, Kruzliak P. Predictive role of circulating endothelial-derived microparticles in cardiovascular diseases. *Clin Biochem*. 2015;48(9):562–8.

⁹⁴ Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2: 727-739.

⁹⁵ Schaper W, Scholz D. Factors regulating arteriogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 1143-1151.

⁹⁶ Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275(5302):964–7.

⁹⁷ Fuster V, Sanz J. [Visualizing arterial macrophage warfare with nuclear magnetic resonance, positron-emission tomography and computerized tomography]. *Rev Esp Cardiol*. 2009 Jun;62 Suppl 2:2-8.

⁹⁸ Lu CL, Leu JG, Liu WC, Zheng CM, Lin YF, Shyu JF, Wu CC, Lu KC. Endothelial Progenitor Cells Predict Long-Term Mortality in Hemodialysis Patients. *Int J Med Sci*. 2016 Feb 20;13(3):240-7.

⁹⁹ Tagawa S, Nakanishi C, Mori M, Yoshimuta T, Yoshida S, Shimojima M, Yokawa J, Kawashiri MA, Yamagishi M, Hayashi K. Determination of Early and Late Endothelial Progenitor Cells in Peripheral Circulation and Their Clinical Association with Coronary Artery Disease. *Int J Vasc Med*. 2015;2015:674213.

¹⁰⁰ Song MB, Yu XJ, Zhu GX, Chen JF, Zhao G, Huang L. Transfection of HGF gene enhances endothelial progenitor cell (EPC) function and improves EPC transplant efficiency for balloon-induced arterial injury in hypercholesterolemic rats. *Vasc Pharmacol*. 2009; 51: 205-213.

¹⁰¹ Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, Grünwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*. 2002; 106: 3009-3017.

¹⁰² Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T. Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation.

¹⁰³ Bosner RS, Dave J, Gademsetty M, Carter P, Davies E, Taylor P, Gaya H, Lennox SC, Vergani D. Complement activation before, during and after cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothoracic Surg* 1990;4:291-296.

¹⁰⁴ Hristov M, Heine GH. Monocyte subsets in atherosclerosis. *Hamostaseologie*. 2015 May 6;35(2):105-12.

¹⁰⁵ Dubois D., Dubois E.F.:A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med* 1916; 17:863-71.

¹⁰⁶ Nashef SA, Roques F, Michel P, Gauducheau E, Lemeshow S, Salamon R. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J CardiothoracSurg*. 1999;6:9-13.

¹⁰⁷ Roques F, Nashef SA, Michel P, Gauducheau E, De Vincentiis C, Baudet E, et al. Risk factors and outcome in European cardiac surgery: analysis of the EuroSCORE multinational database of 19030 patients. *Eur J CardiothoracSurg*. 1999;15:816-22.

¹⁰⁸ Lafuente S, Antoni T, Laia Br, González Ra, Bertrán MJ. Validación del modelo probabilístico EuroSCORE en pacientes intervenidos de injerto coronario. *Rev EspCardiol* 2008; 61(6): 589-94.

¹⁰⁹ Minhaj M, Patel K, Muzic D et al. – The effect of routine intraoperative transesophageal echocardiography on surgical management. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2007;21:800-804.

¹¹⁰ Merino A, Buendia P, Martin-Malo A, Aljama P, Ramirez R, Carracedo J. Senescent CD14+CD16+ monocytes exhibit proinflammatory and proatherosclerotic activity. *J Immunol*. 2011 Feb 1;186(3):1809-15.

¹¹¹ Carracedo J, Merino A, Noguerras S, Carretero D, Berdud I, Ramírez R, Tetta C, Rodríguez M, Martín-Malo A, Aljama P. On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD14+CD16+ monocyte-derived dendritic cells: A prospective, crossover study. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Aug;17(8):2315-21.

¹¹² Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers. *Circ Res*. 2015 Jan 16;116(2):307-11.

¹¹³ Salisbury D, Bronas U. Inflammation and immune system contribution to the etiology of atherosclerosis: mechanisms and methods of assessment. *Nurs Res*. 2014 Sep-Oct;63(5):375-85.

¹¹⁴ Libby P, Lichtman AH, Hansson GK. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans. *Immunity*. 2013 Jun 27;38(6):1092-104.

¹¹⁵ Nahrendorf M, Swirski FK. Monocyte and macrophage heterogeneity in the heart. *Circ Res*. 2013 Jun 7;112(12):1624-33. Review.

¹¹⁶ Rogacev KS, Ziegelin M, Ulrich C, Seiler S, Girndt M, Fliser D, Heine GH. Haemodialysis-induced transient CD16+ monocytopenia and cardiovascular outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 Nov;24(11):3480-6.

-
- ¹¹⁷ Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol.* 2005 Dec;5(12):953-64. Review.
- ¹¹⁸ Yang HS, Kim GH, La WG, Bhang SH, Lee TJ, Lee JH, Kim BS. Enhancement of human peripheral blood mononuclear cell transplantation-mediated bone formation. *Cell Transplant.* 2011;20(9):1445-52.
- ¹¹⁹ Ungefroren H, Hyder A, Schulze M, Fawzy El-Sayed KM, Grage-Griebenow E, Nussler AK, Fändrich F. Peripheral Blood Monocytes as Adult Stem Cells: Molecular Characterization and Improvements in Culture Conditions to Enhance Stem Cell. Features and Proliferative Potential. *Stem Cells Int.* 2016;2016:7132751.
- ¹²⁰ Werner N, Wassmann S, Ahlers P, Kosiol S, Nickenig G. Circulating CD31+/annexin V+ apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jan;26(1):112-6.
- ¹²¹ Shantsila E, Watson T, Lip GY. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *J Am Coll Cardiol.* 2007 Feb 20;49(7):741-52.
- ¹²² Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007 May;21(3):157-71. Epub 2006 Nov 22. Review.
- ¹²³ Berezin AE, Kremzer AA, Martovitskaya YV, Samura TA, Berezina TA, Zulli A, Klimas J, Kruzliak P. The utility of biomarker risk prediction score in patients with chronic heart failure. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Oct 15;8(10):18255-64.

¹²⁴ Carracedo J, Merino A, Noguerras S, Carretero D, Berdud I, Ramírez R, Tetta C, Rodríguez M, Martín-Malo A, Aljama P. On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD14+CD16+ monocyte-derived dendritic cells: A prospective, crossover study. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Aug;17(8):2315-21.

¹²⁶ Nahrendorf M, MD, PhD; Pittet M, PhD; Swirski F, PhD. Monocytes: Protagonists of Infarct Inflammation and Repair after myocardial Infarction. *Circulation* 2010; 121; 2437- 2445.

¹²⁷ Watt J, Kennedy S, Ahmed N, Hayhurst J, McClure JD, Berry C, Wadsworth RM, Oldroyd KG. The relationship between oxidised LDL, endothelial progenitor cells and coronary endothelial function in patients with CHD. *Open Heart.* 2016 Jan 28;3(1):e000342.

¹²⁸ Schächinger V, Assmus B, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM; REPAIR-AMI investigators. Intracoronary infusion of bone marrow-derived mononuclear cells abrogates adverse left ventricular remodeling post-acute myocardial infarction: insights from the reinfusion of enriched progenitor cells and infarct remodeling in acute myocardial infarction (REPAIR-AMI) trial. *Eur J Heart Fail.* 2009 Oct;11(10):973-9.

-
- ¹²⁹ Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001;3:339–345 .
- ¹³⁰ Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007 May;21(3):157-71. Epub 2006 Nov 22. Review.
- ¹³¹ Horstman LL, Jy W, Jimenez JJ, Ahn YS. Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction. *Front Biosci* 2004;9:1118–1135.
- ¹³² Nomura S. Microparticle and Atherothrombotic Diseases. *J Atheroscler Thromb.*2015 Sep 25.
- ¹³³ . Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, Dignat-George F, Freyssinet JM, Tedgui A. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res.* 2009 Jan;335(1):143-51.
- ¹³⁴ Horstman LL, Jy W, Jimenez JJ, Ahn YS. Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction. *Front Biosci.* 2004 May 1;9:1118-35.
- ¹³⁵ Skrzeczyńska-Moncznik J, Bzowska M, Loseke S, Grage-Griebenow E, Zembala M, Pryjma J. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10. *Scand J Immunol.* 2008 Feb;67(2):152-9.
- ¹³⁶ Merino A, Buendia P, Martin-Malo A, Aljama P, Ramirez R, Carracedo J. Senescent CD14⁺CD16⁺ monocytes exhibit proinflammatory and proatherosclerotic activity. *J Immunol.* 2011 Feb 1;186(3):1809-15.

¹³⁷ Shimoni S, Meledin V, Bar I, Fabricant J, Gandelman G, George J. Circulating CD14(+) monocytes in patients with aortic stenosis. *J Geriatr Cardiol.* 2016 Jan;13(1):81-7.

¹³⁸ Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology.* 2002 Jul;97(1):215-52.

¹³⁹ Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med.* 1987;13(2):89-95.

¹⁴⁰ Golovkin AS, Matveeva VG, Kudryavtsev IV, Chernova MN, Bayrakova YV, Shukevich DL, Grigoriev EV. Perioperative Dynamics of TLR2, TLR4, and TREM-1 Expression in Monocyte Subpopulations in the Setting of On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery. *ISRN Inflamm.* 2013 Mar 17;2013:817901.

¹⁴¹ Baeten, D., Boots, A. M., Steenbakkens, P. G., Elewaut, D., Bos, E., Verheijden, G. F., Berheijden, G., Miltenburg, A. M., Rijnders, A. W., Veys, E. M., De Keyser, F. (2000) Human cartilage gp-39+,CD16+ monocytes in peripheral blood and synovium: correlation with joint destruction in rheumatoid arthritis *Arthritis Rheum.* 43,1233-1243.

¹⁴² Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. The healing myocardium sequentially

mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med*. 2007 Nov 26;204(12):3037-47.

¹⁴³ Ghattas A, Griffiths HR, Devitt A, Lip GY, Shantsila E. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? *J Am Coll Cardiol*. 2013 Oct 22;62(17):1541-51.

¹⁴⁴ Haupt W, Riese J, Mehler C, Weber K, Zowe M, Hohenberger W. Monocyte function before and after surgical trauma. *Dig Surg*. 1998;15(2):102-4.

¹⁴⁵ Klava A, Windsor A, Boylston AW, Reynolds JV, Ramsden CW, Guillou PJ. Monocyte activation after open and laparoscopic surgery. *Br J Surg*. 1997 Aug;84(8):1152-6.

¹⁴⁶ Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, Granger CB, Katus HA, Hamm CW, O'Hanesian MA, Wagner GS, Kleiman NS, Harrell FE Jr, Califf RM, Topol EJ. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators. *N Engl J Med*. 1996 Oct 31;335(18):1333-41.

¹⁴⁷ Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003 Jun;111(12):1805-12. Review. Erratum in: *J Clin Invest*. 2003 Jul;112(2):299.

¹⁴⁸ Matsuzaki K, Hiramatsu Y, Homma S, Sato S, Shigeta O, Sakakibara Y. Sivelestat reduces inflammatory mediators and preserves neutrophil deformability during simulated extracorporeal circulation. *Ann Thorac Surg*. 2005 Aug;80(2):611-7.

¹⁴⁹ Sato Y, Hiramatsu Y, Homma S, Sato S, Onizuka M, Sakakibara Y. Phosphodiesterase type 4 inhibition of activated polymorphonuclear leukocytes in a simulated extracorporeal circulation model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Jan;125(1):172-7.

¹⁵⁰ Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001; 89: E1–7.

¹⁵¹ Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2885–90.

¹⁵² Minhajat R, Nilasari D, Bakri S. The Role of Endothelial Progenitor Cell in Cardiovascular Disease Risk Factors. *Acta Med Indones.* 2015 Oct;47(4):340-7.

¹⁵³ Gill M, Dias S, Hattori K, Rivera ML, Hicklin D, Witte L, Girardi L, Yurt R, Himel H, Rafii S. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+) AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res.* 2001 Feb 2;88(2):167-74.

¹⁵⁴ Noci MV, Ramírez R, Lluch M, Rodríguez M, Carracedo J. Changes in endothelial microparticles and endothelial progenitor cells in obese patients in response to surgical stress. *J Bone Joint Surg Am.* 2015 Mar 4;97(5):353-8.

¹⁵⁵ Müller-Ehmsen J, Braun D, Schneider T, Pfister R, Worm N, Wielckens K, Scheid C, Frommolt P, Flesch M. Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: beneficial effects of weight reduction. *Eur Heart J*. 2008 Jun;29(12):1560-8.

¹⁵⁶ Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003 Feb 13;348(7):593-600.

¹⁵⁷ Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*. 2001 Jul 6;89(1):E1-7.

¹⁵⁸ Lee PS, Poh KK. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *World J Stem Cells*. 2014 Jul 26;6(3):355-66. doi: 10.4252/wjsc.v6.i3.355. Review.

¹⁵⁹ Aicher A., Brenner W., Zuhayra M., Badorff C., Massoudi S., Assmus B., Eckey T., Henze E., Zeiher A. M., Dimmeler S. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling. *Circulation* 2003. 107:2134–2139.

¹⁶⁰ Sethi R, Lee CH. Endothelial progenitor cell capture stent: safety and effectiveness. *J Interv Cardiol*. 2012 Oct;25(5):493-500.

¹⁶¹ Ederhy S, Di Angelantonio E, Mallat Z, Hugel B, Janower S, Meuleman C, Boccara F, Freyssinet JM, Tedgui A, Cohen A. Levels of circulating procoagulant microparticles in nonvalvular atrial fibrillation.

¹⁶² Nomura S, Ozaki Y, Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings. *Thromb Res.* 2008;123(1):8-23.

¹⁶³ Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, Sugamura K, Ohba K, Matsuzawa Y, Sumida H, Matsui K, Jinnouchi H, Ogawa H. Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Aug 11;54(7):601-8.

¹⁶⁴ Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R, Bagaglia F, Menecali C, Mannarino MR, Capanni M, Velardi A, Mannarino E. Increased ratio of CD31+/CD42- microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2530-2535.

¹⁶⁵ Amabile N, Cheng S, Renard JM, Larson MG, Ghorbani A, McCabe E, Griffin G, Guerin C, Ho JE, Shaw SY, Cohen KS, Vasan RS, Tedgui A, Boulanger CM, Wang TJ. Association of circulating endothelial microparticles with cardiometabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Eur Heart J.* 2014 Nov 7;35(42):2972-9.

¹⁶⁶ Dignat-George F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol.* 2000 Oct;65(4):215-20. Review.

¹⁶⁷ Nijiati M, Gao Y, Abudurehman Z, Yu X, Li G. Relationship between the Level of Circulating Endothelial Micro-Particles in the Blood and Blood Lipid Content in Uyghur and Han Patients with Acute Coronary Syndrome. Clin Lab. 2015;61(8):1071-5.

¹⁶⁸ Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ, Pastor J, Mauro LM, Horstman LL, de Marchena E, Ahn YS. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. Am Heart J 2003;145: 962–970.

¹⁶⁹ Sinning JM, Losch J, Walenta K, Böhm M, Nickenig G, Werner N. Circulating CD31+/Annexin V+ microparticles correlate with cardiovascular outcomes. Eur Heart J. 2011 Aug;32(16):2034-41.

¹⁷⁰ Amabile N, Rautou PE, Tedgui A, Boulanger CM. Microparticles: key protagonists in cardiovascular disorders. Semin Thromb Hemost. 2010 Nov;36(8):907-16.

¹⁷¹ Nomura S. Microparticle and Atherothrombotic Diseases. J Atheroscler Thromb. 2016 Jan 6;23(1):1-9.

¹⁷² Bernal-Mizrachi L, Jy W, Fierro C, Macdonough R, Velazques HA, Purow J, Jimenez JJ, Horstman LL, Ferreira A, de Marchena E, Ahn YS. Endothelial microparticles correlate with high-risk angiographic lesions in acute coronary syndromes. Int J Cardiol. 2004 Dec;97(3):439-46.

¹⁷³ Benameur T, Andriantsitohaina R, Martínez MC. Therapeutic potential of plasma membrane-derived microparticles. Pharmacol Rep. 2009 Jan-Feb;61(1):49-57.

ANEXOS



ANEXO 1- Consentimiento informado del estudio

CONSENTIMIENTO INFORMADO – INFORMACIÓN AL PACIENTE

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

Naturaleza:

Estudio de INFLAMACION Y DAÑO ENDOTELIAL en pacientes intervenidos de cirugía coronaria para ser comparados con personas sanas y pacientes previa a intervención valvular simple (aórtico o mitral)

Importancia:

El mejor conocimiento de los mecanismos celulares que modulan el daño vascular y la reparación endotelial en los enfermos con patología coronaria es clave para diseñar nuevas estrategias terapéuticas que permitan mejorar la elevada morbi-mortalidad que sufren los pacientes con enfermedad coronaria y en general cardiovascular. Concretamente, los resultados que se obtengan de este estudio nos permitirán valorar la importancia de la cirugía coronaria en la disminución de riesgo cardiovascular en pacientes y elaborar nuevos protocolos que ayuden a diseñar mejores y más eficaces técnicas.

Implicaciones para el donante/paciente:

- La donación/participación es totalmente voluntaria.
- El donante/paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- La donación/información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

Riesgos de la investigación para el donante/paciente:

La realización de este protocolo no tiene ningún riesgo para el paciente.

El único inconveniente que presenta es la necesidad de extracción de sangre en solo una ocasión para las personas sanas y en 5 tiempos para los pacientes valvulares y coronarios, tomados de la misma vía periférica de donde se toman los controles intra y postoperatorios habituales, sin que repercuta en molestias para el paciente.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con en el correo electrónico: dianavalenciaes@yahoo.es. Servicio de Cirugía Cardiovascular de Hospital Reina Sofía. Córdoba.

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

Yo _____ (Nombre _____ y Apellidos):.....

- He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)

He podido hacer preguntas sobre el estudio **Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria**

He recibido suficiente información sobre el estudio **Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria**

He hablado con el profesional sanitario informador: Dr Willy Kreutler , Diana Valencia

- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
- **Deseo** ser informado/a de mis datos genéticos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea

necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.

•

Si

No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el *proyecto titulado*
Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria

Firma del paciente
(o representante legal en su caso)

Firma del profesional
sanitario informador

Nombre y apellidos:..... nombre y apellidos:

Fecha:

Fecha:

ANEXO-2 Consentimiento informado Cirugía Coronaria.

<p>JUNTA DE ANDALUCIA</p> <p>CONSEJERÍA DE SALUD</p>	
<p>FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento informado.</p>	
<p>CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA</p>	<p>SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR</p>
<p>1 DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (*) CIRUGÍA REVASCULARIZACIÓN CORONARIA</p>	
<p>Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla. Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.</p> <p>Díganos si tiene alguna duda o necesita más información. Le atenderemos con mucho gusto.</p> <p>(*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.</p>	
<p>1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:</p> <p>EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE: Explicación sencilla del objetivo del procedimiento, en qué consiste y la forma en que se va a llevar a cabo: La operación a que va Vd. a ser sometido/a es la revascularización coronaria que puede realizarse con o sin circulación extracorpórea y tiene como objetivo reparar los efectos de las lesiones de sus arterias coronarias</p> <p>Las arterias coronarias tienen la misión de transportar oxígeno a las paredes del corazón para mantener su normal funcionamiento. Cuando estas arterias enferman y se estrechan u obstruyen su luz (calibre) se produce un mal riego de la pared del corazón cuyas células pueden llegar a morir. Esto es conocido como infarto de miocardio. Su gravedad es alta. Desde hace bastantes años disponemos de una técnica quirúrgica que consiste en colocar injertos, bien de una vena (safena) o de una arteria (mamaña interna, radial u otras). Estos injertos sirven de "puente" para traer la sangre desde un punto anterior a la zona estrechada a otro posterior, con lo cual se mantiene un riego sanguíneo apropiado. El riesgo de la intervención depende fundamentalmente de la función del ventrículo izquierdo y en segundo lugar tiene importancia el poder hacer todos los injertos que el paciente necesita.</p>	
<p>CÓMO SE REALIZA: La intervención requiere anestesia general y como ya dijimos, puede hacerse con o sin (no siempre) utilizar la circulación extracorpórea. Si este es su caso, no tenga en cuenta la parte de este Consentimiento Informado que se refiere a dicha circulación extracorpórea. Generalmente, cuando no se hace CEC, disminuyen determinados riesgos y complicaciones. También se consigue reducir el tiempo de hospitalización postoperatoria. Sin embargo todavía hoy no se ha determinado si es mejor éste procedimiento.</p> <p>La Circulación Extracorpórea consiste en el establecimiento de una circulación artificial mientras el corazón esté parado. Es imprescindible mantener la sangre sin que se produzcan coágulos y también bajar la temperatura del cuerpo en grado variable, para conservar una buena función de todos los órganos. Por ello pueden desarrollarse en el periodo postoperatorio inmediato, trastornos de la coagulación y hemorragia,</p>	

JUNTA DE ANDALUCIA**CONSEJERÍA DE SALUD**

que puede llegar a requerir volver al quirófano para revisar el campo operatorio. Hoy en día el riesgo que representa la circulación extracorpórea es pequeño.

QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:**EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:**

Descripción de las consecuencias seguras del procedimiento siempre que se consideren relevantes:
Si la calidad de los vasos permite injertar todos los vasos (revascularización completa) el resultado será la desaparición de la angina y la mejoría de la contracción cardíaca y su calidad de vida.
La alternativa de tratamiento es la medicación, menos eficaz y la revascularización por cateterismo cuyo resultado es inferior al de la cirugía.

OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:

001530

CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA	SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR
--	---

QUÉ RIESGOS TIENE:

Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.

- **LOS MÁS FRECUENTES:**

Descripción de los riesgos típicos:

Las complicaciones más importantes de la circulación extracorpórea son: cerebrales, pulmonares, cardíacas y renales. Las complicaciones cerebrales pueden acarrear estado de coma, parálisis y alteraciones del lenguaje. Las pulmonares requieren un período prolongado de conexión a un respirador con riesgo de infecciones secundarias (neumonías). El fallo renal requiere, a veces, el uso de riñón artificial. Todas ellas son complicaciones graves. Dependen en gran cuantía de la edad de los pacientes. En los mayores, las complicaciones renales y cerebrales son las más frecuentes. La existencia de enfermedades pulmonares crónicas previas juega un papel importante en la aparición de complicaciones de éste tipo. Las complicaciones cardíacas son secundarias al tiempo en que es necesario mantenerlo parado y sin riego coronario, para realizar la corrección de su o sus lesiones. Son más frecuentes en pacientes con enfermedad coronaria severa y sobre todo si está disminuida la función del ventrículo izquierdo. Las más frecuentes son: la insuficiencia cardíaca, las arritmias, las hemorragias y el taponamiento cardíaco (hemorragia alrededor del corazón al que comprime) En el estado actual de los conocimientos de la cirugía cardíaca, no sabemos exactamente que corazón soportará adecuadamente y sin deterioro importante, esta situación.

En el postoperatorio pueden desarrollarse, trastornos de la coagulación y hemorragia, que puede llegar a requerir volver al quirófano para revisar el campo operatorio. Hoy en día el riesgo que representa la circulación extracorpórea es pequeño.

Tras la operación puede sobrevenir una infección de la herida operatoria que a veces son profundas y por ello muy graves. Requieren un tratamiento prolongado y una reoperación de cierre de la pared torácica.

Una infección también muy grave es la endocarditis (infección de la o las válvulas). Son muy raras en el período postoperatorio inmediato, son siempre graves y requieren una nueva operación de riesgo alto.

En su caso el riesgo global es:.....

- **LOS MÁS GRAVES:**

Descripción de los riesgos que, siendo infrecuentes, pero no excepcionales, se consideran graves: El riesgo más importante, es la presentación de un infarto de miocardio muy severo, que se puede presentar en cualquier momento, desde el comienzo de la anestesia hasta el final de la cirugía e incluso cuando ya el paciente esté en la Unidad de Cuidados Postoperatorios. Generalmente hay que recurrir a la implantación de una asistencia ventricular (Corazón artificial, Balón intraaórtico, etc.) e incluso a la muerte en quirófano. La hemorragia por trastorno grave de la coagulación puede, excepcionalmente, causar la muerte.

• **LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:**

Descripción de riesgos personalizados:

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> EDAD > 65 años | <input type="checkbox"/> DIABETES |
| <input type="checkbox"/> DROGODEPENDENCIA | <input type="checkbox"/> HIPERTENSIÓN ARTERIAL |
| <input type="checkbox"/> ENFERM. ARTERIAL | <input type="checkbox"/> ENDOCARDITIS ACTIVA |
| <input type="checkbox"/> DISFUNC. NEUROLÓGICA | <input type="checkbox"/> CIRUGÍA DE AORTA TORÁCICA |
| <input type="checkbox"/> DISLIPEMIA | |
| <input type="checkbox"/> Histr* FAMILIAR CORONARIA | <input type="checkbox"/> EPOC |
| <input type="checkbox"/> OBESIDAD | <input type="checkbox"/> HIPERURICEMIA |
| <input type="checkbox"/> ROTURA SEPTAL POST INFARTO | <input type="checkbox"/> HIPERTENSIÓN PULMONAR |
| <input type="checkbox"/> INSUF. RENAL | <input type="checkbox"/> CIRUGÍA CARDIACA PREVIA |
| <input type="checkbox"/> NEOPLASIA | <input type="checkbox"/> HEPATOPATÍA |
| <input type="checkbox"/> DISFUNCION DEL VI | <input type="checkbox"/> ANGINA INESTABLE |
| <input type="checkbox"/> EMERGENCIA | |

SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:

OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):

OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.

- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.

- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

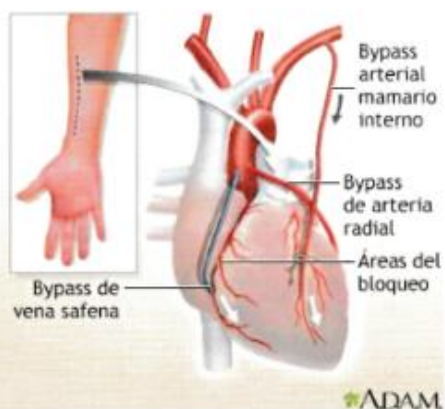
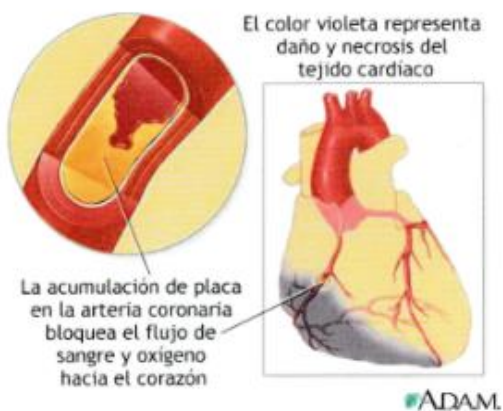
001530

**CENTRO SANITARIO
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA**

**SERVICIO DE
CIRUGÍA CARDIOVASCULAR**

1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS

En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.



001530

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO		SERVICIO DE	
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA		CIRUGÍA CARDIOVASCULAR	
2 CONSENTIMIENTO INFORMADO			
2.1 DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE (sólo en caso de incapacidad del/de la paciente)			
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE		DNI / NIE	
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL		DNI / NIE	

2.2 PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO		
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

2.3 CONSENTIMIENTO	
Yo, D/Dña _____, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.	
NOTA: Márquese con una cruz.	
En _____	a _____ de _____ de _____
EL/LA PACIENTE	EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)
Fdo.:	Fdo.:

001530

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD

**CENTRO SANITARIO
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA**

**SERVICIO DE
CIRUGÍA CARDIOVASCULAR**

2.4 RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN

Yo, D/Dña. _____, no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.:

Fdo.:

2.5 REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña. _____, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.:

Fdo.:

001530



ANEXO 3 Consentimiento informado Cirugía Valvular

JUNTA DE ANDALUCÍA		CONSEJERÍA DE SALUD
FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.		
CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA	SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR	
1 DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (*) SUSTITUCIÓN VALVULAR		
<p>Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla.</p> <p>Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.</p> <p>Díganos si tiene alguna duda o necesita más información. Le atenderemos con mucho gusto.</p> <p>(*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.</p>		
1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:		
EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE: La sustitución de una válvula cardíaca implica la utilización de una válvula artificial (protésica) que la reemplaza. Las válvulas protésicas pueden ser de dos tipos: biológicas o mecánicas. Las primeras están confeccionadas con tejidos de animales (válvulas de cerdo o fabricadas con pericardio de ternera). Las metálicas están hechas con aleaciones especiales y carbón pirolítico. La principal ventaja de las biológicas es que no necesitan anticoagulación pero su duración está limitada a una media de unos 10 años para las mitrales y unos 15 años para las aórticas. Las mecánicas necesitan que se anticoagule al portador durante el resto de su vida y su mayor ventaja es que pueden durar indefinidamente. El implantar una u otra válvula depende fundamentalmente de la edad del paciente y de otras circunstancias especiales de cada persona. Hay ocasiones en que se afecta exclusivamente una válvula pero pueden enfermar dos o tres de ellas. Excepcionalmente se altera la válvula pulmonar. La sustitución o reemplazo de la válvula aórtica es hoy en día muy frecuente debido a que, generalmente, es una enfermedad relacionada con la edad. En otras ocasiones su causa es la enfermedad reumática o congénita. La cirugía consiste en cambiar su válvula deteriorada por una válvula artificial. En alguna ocasión podría ser reparada ésta válvula. En el caso de afectación de la válvula mitral, esta se puede reparar en muchos casos de enfermedad degenerativa. Cuando la válvula está estrechada, en algunos casos, se puede abrir la zona estrechada (comisurotómia). Si no se puede reparar se procede a sustituirla por una válvula artificial (protésica). La válvula tricúspide se afecta secundariamente a la enfermedad mitral y/o aórtica en relación con el aumento de presión en la arteria pulmonar. Es una válvula que puede repararse casi siempre, con la ayuda de un anillo protésico especial, aunque ocasionalmente puede ser necesario sustituirla por una válvula artificial. La afectación de la tricúspide indica una evolución larga y desfavorable, por lo que el riesgo quirúrgico aumenta.		
CÓMO SE REALIZA: La operación a que va Vd. a ser sometido/a requiere anestesia general y el uso de Circulación Extracorpórea con el fin de que al parar el corazón, se mantengan vivos todos los órganos.		
		1

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

La Circulación extracorpórea consiste en el establecimiento de una circulación artificial mientras el corazón esté parado. Es imprescindible mantener la sangre sin que se produzcan coágulos y también bajar la temperatura del cuerpo en grado variable, para conservar una buena función de todos los órganos.

Por ello pueden desarrollarse en el periodo postoperatorio inmediato, trastornos de la coagulación y hemorragia, que puede llegar a requerir volver al quirófano para revisar el campo operatorio. Hoy en día el riesgo que representa la circulación extracorpórea es pequeño.

QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:

EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:

La o las válvulas afectadas una vez reparadas, pasan a funcionar con normalidad lo que elimina el problema previo, generalmente la fatiga. Lo mismo ocurre con la realización de injertos coronarios que mejoren en grado mayor o menor el riego coronario. Esto hará desaparecer la angina y prevendrá la presentación de un infarto de miocardio. Su vida tras la intervención será la normal para una persona de su edad. Cabe la posibilidad de que se presenten problemas con las válvulas (infección, coágulos, rotura del anclaje de la prótesis, etc.) que produzcan el fallo del funcionamiento y probablemente la necesidad de reoperación. Los injertos coronarios con el tiempo, pueden obstruirse o pueden aparecer nuevas lesiones coronarias, que requerirán tratamiento específico.

OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:

001530

CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA	SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR
--	---

QUÉ RIESGOS TIENE:

Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.

Las complicaciones más importantes de la circulación extracorpórea son: cerebrales, pulmonares, cardíacas y renales. Las complicaciones cerebrales pueden acarrear estado de coma, parálisis y alteraciones del lenguaje. Las pulmonares requieren un periodo prolongado de conexión a un respirador con riesgo de infecciones secundarias (neumonías). El fallo renal requiere, a veces, el uso de riñón artificial. Todas ellas son complicaciones graves. Dependen en gran cuantía de la edad de los pacientes. En los mayores, las complicaciones renales y cerebrales son las más frecuentes. La existencia de enfermedades pulmonares crónicas previas juega un papel importante en la aparición de complicaciones de éste tipo. Las complicaciones cardíacas son secundarias al tiempo en que es necesario mantenerlo parado y sin riego coronario, para realizar la corrección de su o sus lesiones. Son más frecuentes en pacientes con enfermedad coronaria severa y sobre todo si está disminuida la función del ventrículo izquierdo.

Tras la operación puede sobrevenir una infección de la herida operatoria que a veces son profundas y por ello muy graves. Requieren un tratamiento prolongado y una reoperación de cierre de la pared torácica. Una infección también muy grave es la endocarditis (infección de la o las válvulas). Son muy raras en el periodo postoperatorio inmediato, son siempre graves y requieren una nueva operación de riesgo alto.

En su caso el riesgo global es:.....

- **LOS MÁS FRECUENTES:**

Las más frecuentes son: la insuficiencia cardíaca, las arritmias, las hemorragias y el taponamiento cardíaco (hemorragia alrededor del corazón al que comprime) En el estado actual de los conocimientos de la cirugía cardíaca, no sabemos exactamente que corazón soportará adecuadamente y sin deterioro importante, esta situación.

- **LOS MÁS GRAVES:**

Descripción de los riesgos que, siendo infrecuentes, pero no excepcionales, se consideran graves: En casos especialmente graves pueden surgir complicaciones cardíacas como las mencionadas y/o hemorragias por trastornos de la coagulación que pueden llegar a causar la muerte en quirófano. El riesgo más importante, es la presentación de un infarto de miocardio muy severo, que se puede presentar en cualquier momento, desde el comienzo de la anestesia hasta el final de la cirugía e incluso cuando ya el paciente esté en la Unidad de Cuidados Postoperatorios. Generalmente hay que recurrir a la implantación de una asistencia ventricular (Corazón artificial, Balón intraaórtico, etc.). La hemorragia por trastorno grave de la coagulación puede, excepcionalmente, causar la muerte.

- **LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:**

Descripción de riesgos personalizados:

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> EDAD > 65 años | <input type="checkbox"/> DIABETES |
| <input type="checkbox"/> DROGODEPENDENCIA | <input type="checkbox"/> HIPERTENSIÓN ARTERIAL |
| <input type="checkbox"/> ENFERM. ARTERIAL | <input type="checkbox"/> ENDOCARDITIS ACTIVA |
| <input type="checkbox"/> DISFUNC. NEUROLÓGICA | <input type="checkbox"/> CIRUGÍA DE AORTA TORÁCICA |
| <input type="checkbox"/> DISLIPEMIA | |
| <input type="checkbox"/> Hist ^{ra} FAMILIAR CORONARIA | <input type="checkbox"/> EPOC |
| <input type="checkbox"/> OBESIDAD | <input type="checkbox"/> HIPERURICEMIA |
| <input type="checkbox"/> ROTURA SEPTAL POST INFARTO | <input type="checkbox"/> HIPERTENSIÓN PULMONAR |
| <input type="checkbox"/> INSUF. RENAL | <input type="checkbox"/> CIRUGÍA CARDIACA PREVIA |
| <input type="checkbox"/> NEOPLASIA | <input type="checkbox"/> HEPATOPATÍA |
| <input type="checkbox"/> DISFUNCION DEL VI | <input type="checkbox"/> ANGINA INESTABLE |
| <input type="checkbox"/> EMERGENCIA | |

SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:

OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):

OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.

- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.

- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o vídeos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

001530

JUNTA DE ANDALUCIA

CONSEJERÍA DE SALUD

**CENTRO SANITARIO
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA****SERVICIO DE
CIRUGÍA CARDIOVASCULAR****1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS**

En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.

001530

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA		SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR
2 CONSENTIMIENTO INFORMADO		
2.1 DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE (sólo en caso de incapacidad del/de la paciente)		
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE		DNI / NIE
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL		DNI / NIE

2.2 PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO		
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

2.3 CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña _____, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

SI NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.

SI NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.

SI NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.

SI NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.

NOTA: Márquese con una cruz.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.: _____ Fdo.: _____

001530

6

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA	SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIOVASCULAR
--	---------------------------------------

2.4 RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN

Yo, D/Dña. _____, no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.:

Fdo.:

2.5 REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña. _____, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.:

Fdo.:

001530

ANEXO 4. Hoja de recogida de datos

Paciente No:

Sexo		Edad				
Peso		Talla				
S.C.(m2)		IMC				
Angor		NYHA				
IAM previo		Localización IAM				
EPOC		Diabetes				
Dislipidemia		HTA				
Fumador		Vasculopatía				
CEC (min)		Tiempo isquemia(min)				
No bypass		Lechos				
Revascularización						
TIEMPO						
	1	2	3	4	5	
FC (lat/min)						
TAS (mmHg)						
TAD (mmHg)						
TAM (mmHg)						
Tº Periférica						
Diuresis						
CPK						
Trop. I						

PCR					
Procalcitonina					
Monocitos CD14-CD16++					
Monocitos CD14+CD16+					
Monocitos CD14++CD16+					
EPCs					
MVs					
Dias de UCI					
Estatus					

ANEXO 5. Artículo relacionado con el tema del Doctorado.

Heart Vessels (2017) 32:1390–1399
DOI 10.1007/s00380-017-1006-3



ORIGINAL ARTICLE

Endothelial vascular markers in coronary surgery

Diana M. Valencia-Núñez^{1,2,6} · Willy Kreutler³ · Javier Moya-Gonzalez^{1,2} · Pedro Alados-Arboledas¹ · Ignacio Muñoz-Carvajal^{1,2} · Andrés Carmona² · Rafael Ramirez-Chamond⁵ · Julia Carracedo-Añón⁴

Received: 24 January 2017 / Accepted: 2 June 2017 / Published online: 16 June 2017
© Springer Japan KK 2017

Abstract Coronary heart disease is associated with high morbidity and mortality. Endothelial dysfunction in affected patients is linked to long-term atherosclerotic disease progression and cardiovascular event rates. The present paper reports on changes in the levels of endothelial progenitor cells (VEGFR2/CD133/CD34), essential for endothelial repair, and of endothelial microvesicles (CD31/annexin V) as indicators of endothelial lesion, in patients undergoing coronary bypass surgery with respect both to baseline levels and to counts in healthy subjects. In an observational descriptive study, 31 patients scheduled for coronary revascularization surgery were compared with those of 25 healthy controls. In a subsequent longitudinal study, patients undergoing surgery were monitored at 5 timepoints up until 48 h after surgery. Endothelial progenitor cell (VEGFR2/CD133/CD34) and endothelial microvesicle (CD31/annexin V) levels were quantified by

flow cytometry. Baseline endothelial progenitor cell counts in coronary patients were significantly lower than those of healthy controls ($p < 0.001$); however, after surgery, levels rose steadily over all 5 timepoints to 48 h with statistically significant differences ($p < 0.001$) between intra-operative and 48 h after surgery (T5). Endothelial microvesicle levels were significantly higher in coronary patients prior to surgery than in healthy controls ($p < 0.001$), and despite declining at 48 h remained significantly higher than those of controls ($p < 0.001$). Coronary surgery has had a positive impact on the endothelium in the patients, prompting a decrease in signs of endothelial dysfunction and a considerable improvement in the endothelial repair mechanisms involved in angiogenesis, playing an important role in the inflammatory response and the remodelling process of ischemic myocardium in postoperative period.

Keywords Coronary artery disease · Biomarkers · Endothelial progenitor cells · Circulating microparticles

✉ Diana M. Valencia-Núñez
dianavalenciaes@yahoo.es; Diana.ValenciaNunez@helios-kliniken.de

¹ Department of Cardiovascular Surgery, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain

² Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Hospital Universitario Reina Sofía, Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain

³ DEKRA, Chemnitz, Germany

⁴ Fisiología Animal II Department, Universidad Complutense de Madrid, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain

⁵ Biología de Sistemas Department, Alcalá de Henares University, Madrid, Spain

⁶ Department of Cardiac Surgery- Herzzentrum, Strümpellstraße 39, 04289 Leipzig, Germany

Springer

Introduction

Coronary artery disease (CAD) is the most common type of heart disease in industrialized and developing countries, and is associated with high morbidity and mortality [1]. CAD is a clinical manifestation of atherosclerosis, a chronic, progressive, systemic inflammatory disease mainly involving medium-sized arteries; atherosclerosis affects arteries at different sites simultaneously, but with differing degrees of progression [2]. It is characterized by inflammation and by the accumulation of lipids [3, 4], and increased peripheral lipid levels are widely used as a marker of atherosclerosis. The inclusion of new biomarkers based on other factors may enhance risk

stratification and improve the management of patients with atherosclerotic cardiovascular disease.

Patients with coronary atherosclerosis display endothelial dysfunction, which is linked to long-term atherosclerotic disease progression and cardiovascular event rates. Research suggests that endothelial dysfunction is an independent predictor of adverse outcomes in patients diagnosed with acute coronary syndrome. Under pro-atherosclerotic conditions, endothelial cells lose the ability to produce bioactive nitric oxide and demonstrate increased expression of vasoconstrictor, pro-inflammatory, and pro-thrombotic factors. These alterations in endothelial phenotype and function contribute to the formation, progression, and rupture of atherosclerotic lesions.

At an early stage, to maintain vascular integrity, the damaged endothelium is lined by VEGFR2/CD133/CD34 endothelial progenitor cells (EPCs) derived from bone marrow and other tissues, have the potential to differentiate into mature endothelial cells and create new blood vessels [5]; at this point, progenitor cells play a major role in endothelial repair, since mature endothelial cells have limited regenerative capacity. In addition to their role in endothelial tissue repair, EPCs can also differentiate into smooth muscle cells, and may be recruited to replace necrotic vascular tissue [6]. A number of authors report a drop in EPCs levels in patients with coronary disease, apparently linked not only to classical risk factors but also directly to coronary artery obstruction [7] and its severity [8]. It has been suggested that increased plasma CD31/annexin V extracellular microvesicles (EMVs) values in these patients may be used as a marker of endothelial dysfunction [9] as there are strong associations between increased circulating EMPs (Endothelial microparticles) and structural as well as functional abnormalities [10]. EMVs increase in number as a response to cell activation or apoptosis [11] and may play a key role in endothelial repair, tissue injury, and vascular remodeling [12, 13]. In functional terms, EMVs have been shown to have a pro-coagulant effect, which points to their direct involvement in the atherosclerotic process [14]. Given their links to endothelial injury, changes in vascular tone, and vascular ageing [15], EMVs may constitute a new diagnostic target as well as possibly providing the basis for new therapies.

To date, no published reports have addressed changes in EPC (VEGFR2/CD133/CD34) and EMV levels (CD31/annexin V) in patients undergoing coronary revascularization surgery. The present paper has sought to track changes from immediately prior to surgery to 2 days post-surgery.

Materials and methods

Patient selection and study design

This was a two-part study. The first part was a descriptive cross-sectional study to compare counts in 31 patients scheduled for coronary bypass surgery with those of 25 healthy controls. In a subsequent prospective longitudinal study, counts were measured in CAD patients at five different time points, from induction of anaesthesia to 48 h post-surgery.

The study group included healthy controls with no clinical symptoms such as angina, and no cardiovascular risk factor such as diabetes, arterial hypertension, dyslipidemia, and with normal electrocardiography; the second group is a consecutive patients group with diagnosed coronary artery disease requiring revascularization, admitted for bypass operations in 10 months. Echocardiography and diagnostic coronary angiography were performed in all cases prior to surgery; following AHA guidelines, stenosis of >70% was considered significant. Patients requiring valve or aorta surgery during the same operative procedure were excluded from the study. In seven patients, surgery was performed without extracorporeal circulation. The decision to use extracorporeal circulation for CAD patients was made by the surgeon on a case-by-case basis. Healthy controls were volunteers with no clinical symptoms such as angina, no cardiovascular risk factors, and normal electrocardiogram.

Surgery, performed at the Hospital, was aimed at achieving complete revascularization using the left mammary artery, right mammary artery, radial artery, or internal saphenous vein depending on the requirements of each patient. Anastomoses were performed with 7/0 polypropylene sutures at 3.5× magnification. In all cases, conventional thoracic incisions were used (median sternotomy), and patients received standard anesthesia, heparinization (3 mg/kg), and subsequent total reversion with protamine. Extracorporeal circulation was established as follows: standard aortic cannulation (single vena cava); antegrade cold blood or crystalloid cardioplegia (3:1) with antegrade or retrograde (in to coronary sinus) intermittently cardioplegia every 20 min and into completed vein grafts; moderate hypothermia (32°–34°). The Stöckert S5 Heart Lung Machine was used for extracorporeal perfusion, with a centrifugal pump and oxygenator depending on patient theoretical flow. In patients not requiring extracorporeal circulation, the Octopus® myocardial tissue stabilizer was used; patients were heparinized (1 mg/kg) and a temporary intra-coronary shunt was used for distal perfusion.

Prior to surgery, informed consent was obtained and the following data were collected: demographic data

Table 1 Patient demographic data

Characteristics	Patients (n = 31)	Controls (n = 25)	p value
Sex, male/female (%/%)	25/6 (84.4/15.6)	19/6 (76/24)	S: 0.508
Age	64.1 ± 9.1	55.96 ± 4.93	S: 0.0001
Body mass index (kg/m ²)	28.56 ± 5.16	28.03 ± 1.9	S: 0.726
Preoperative risk factors			
Previous acute myocardial infarction	21 (67.7%)	n/a	–
EuroSCORE	3.5 ± 1.7	n/a	–
Chronic kidney failure	2 (6.4%)	n/a	–
Chronic obstructive pulmonary disease	5 (16.1%)	n/a	–
Diabetes	16 (51.6%)	n/a	–
Dyslipidemia	21 (67.7%)	n/a	–
Arterial hypertension	25 (80.6%)	n/a	–
Peripheral vascular disease	5 (16.1%)	n/a	–
Intra-operative factors			
Extracorporeal circulation	22 (70.9%)	–	–
Extracorporeal circulation time	109 min	n/a	–
Ischemia time	83.4 min	n/a	–
Mean number of bypass	2.39	n/a	–
Use of left internal mammary	96.4%	n/a	–
CAD, n (%)			
1-vessel disease	6 (18.7%)	n/a	–
2-vessel disease	10 (31.2%)		
3-vessel disease	12 (37.5%)		
Medication			
ACE inhibitors	100%	n/a	–
Statins (HMG-CoA reductase inhibitors)	56.2%		
Aspirin	100%		

* Statistical significance using Student *t* and Chi-square tests

(age, sex, weight, and height for calculating body mass index, BMI); preoperative risk factors including smoking, hypertension, diabetes, dyslipidemia, peripheral vascular disease, previous acute myocardial infarction, diagnosed chronic kidney failure, diagnosed peripheral vascular disease; EuroSCORE II calculated to predict mortality; finally, previous medical treatment with ACE inhibitors, aspirin, or isosorbide dinitrate (Table 1).

The first sample collection took place in the operating theater after orotracheal intubation and induction of anesthesia; the final sample was collected 48 h post-surgery. At a total of five time points, peripheral blood samples (10 ml) were collected under standard conditions and placed in two 5 ml tubes containing lithium heparin anticoagulant: T1 (prior to surgery); T2 (15 min after aortic clamp cross removal); T3 (4 h post-surgery); T4 (24 h post-surgery); and T5 (48 h post-surgery). One tube was sent to the hospital's central laboratory for measurement of the following blood biochemical parameters: creatine phosphokinase (CPK, normal 30–200 U/l), troponin I (0.00–0.50 ng/ml), procalcitonin (0.05–0.50 ng/ml), and

C-reactive protein (CRP, 0.0–5.0 mg/l). The other tube was sent to the hospital's experimental unit.

Quantification of EPCs in peripheral blood

Immediately after extraction, 100 µl of whole blood were incubated with phycoerythrin (PE)-labeled anti-CD133 monoclonal antibody (AC133 PE, MACS Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), PE-cyanine 7-labeled anti-CD34 (no. 25-0349-42, eBioscience, San Diego, CA), and FITC-labeled anti-VEGF receptor 2 (VEGFR2; FAB357F, R&D Systems Europe, Abingdon, UK), for 30 min in darkness at 4 °C, or with the relevant isotope controls. Erythrocytes were lysed with FACS Lysing solution (BD Biosciences) for 10 min at room temperature, in darkness. Cells were washed with PBS containing 2% human serum albumin prior to flow cytometry (Beckman Coulter). The number of EPCs was defined as events triple positive for CD133, CD34, and VEGFR2.

Quantification of CD31/annexin V EMVs in plasma

Platelet-free plasma was obtained from whole blood by centrifuging at 1500g for 10 min at room temperature, followed by further centrifuging at 13,000g for 20 min. The resulting pellets were stored at -80°C until use. For analysis, pellets were resuspended and incubated with PE-labeled anti-CD31 antibody (Caltag Laboratories, Burlingame, CA) and then with FITC-conjugated annexin V following manufacturer's instructions (Bender MedSystems). The negative control was obtained using anti-isotope antibodies. An equal volume of Flow Count Calibrator beads (Beckman Coulter, Marseille, France) was added. Analysis was performed on a Coulter Cytomic FC 500 flow cytometer (Beckman Coulter, Fullerton, CA) using the CXP software package (Beckman Coulter). Each result (individual value) was the mean of three independent measurements of the same sample.

Statistical analysis

Statistical analysis of study data was performed using the PASW Statistics 21 (SPSS21) software package. Data are expressed as mean \pm standard deviation (SD) for normally distributed data or median and interquartile range (IQR) for data not normally distributed. For comparison of means between healthy subjects and patients, Student's *t* test or the Mann–Whitney *U* test were used depending on whether data fitted a normal distribution. Data for the five time points in the patient group (T1, T2, T3, T4, and T5) were subjected to repeated measures ANOVA or the Friedman test where appropriate. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

Patient characteristics

Demographic and clinical data for the subjects enrolled in the study (31 coronary patients consecutively admitted for revascularization surgery and 25 healthy controls) are shown in Table 1. Significant differences were recorded for mean age between healthy controls and coronary patients (mean ages 56 and 64, respectively), but no significant inter-group differences were recorded for gender or for body mass index (BMI). As an aside, males were predominant—though not significantly ($p = 0.508$)—in both groups.

The coronary patients underwent echocardiography and diagnostic coronary angiography prior to surgery and the patients had previously received treatment with ACE inhibitors, aspirin, and isosorbide dinitrate. The EuroSCORE II

for patients was 3.5 ± 1.7 . Patients displayed a high prevalence of cardiovascular risk factors, particularly diabetes (51.6%), hypertension (81.6%), and dyslipidemia (67.7%). Most patients (71.9%) required extracorporeal circulation (ECC, ONCAB). The internal mammary artery was used in 96.4% of cases, either with or without saphena external vein or artery grafts (radial artery). Four patients required postoperative intraaortic balloon counter-pulsation. Mean stay in the intensive care unit was 2.09 days.

Changes in EPC counts in patients undergoing coronary surgery

Baseline endothelial progenitor cell counts in coronary patients were significantly lower than those of healthy controls (0.21 ± 0.12 vs. $0.97 \pm 0.12\%$, $p < 0.001$) (Fig. 1).

EPC counts in patients (Fig. 1) rose steadily from immediately post-surgery to 48 h post-surgery (0.49 ± 0.20), statistically significant differences ($p < 0.001$) were noted between intra-operative and immediately postoperative levels (T2, T3, T4) and those recorded 48 h after surgery (T5). Nonetheless, EPC counts in patients remained below those of healthy controls throughout the study. No significant difference in EPC levels was noted between patients undergoing ECC and those not doing so (Fig. 2).

EMV levels in patients undergoing coronary surgery

Baseline EMV levels in coronary patients (Fig. 3) were significantly higher than those of healthy subjects (175 ± 37 counts/ μL vs 53 ± 24 counts/ μL , respectively; $p < 0.001$), and although they had declined by 48 h post-surgery (161 ± 37), they remained significantly higher those of controls; $p < 0.001$).

Comparison of EMV counts over the 5 time points (Fig. 3) showed a statistically significant increase at T2 ($p < 0.001$), when the highest values were recorded; thereafter, levels fell gradually ($p < 0.05$), and by 48 h post-surgery (T5) values were even lower than at baseline ($p < 0.001$). No significant difference was recorded between patients undergoing ECC and those not doing so (Fig. 4).

Bivariate procedures correlations between biomarkers have a strong negative correlations at baseline (T1) EPC with MV ($r = -0.8$; $p < 0.001$) and endpoint (T5); ($r = -0.71$; $p < 0.001$) (Fig. 5).

Discussion

The vascular endothelium plays a major role in the pathogenesis of inflammatory disorders such as atherosclerosis, the cause of a number of diseases associated with high rates

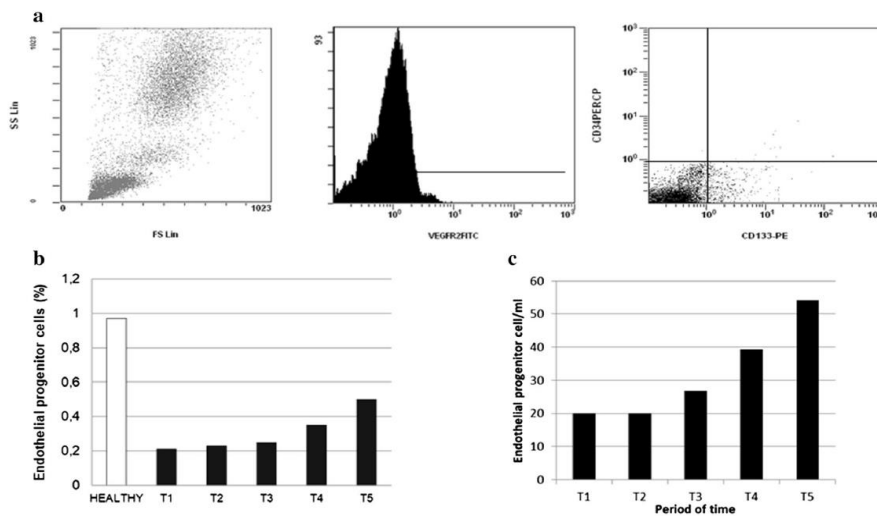


Fig. 1 Changes in endothelial progenitor cells (VEGFR2/CD133/CD34) in patients undergoing coronary surgery in five times. EPCs were analyzed in peripheral blood and quantified by flow cytometry as a function of their expression of three molecules, VEGFR-2, CD133, and CD34. **a** Representative histograms is showing in a

patient (T1). Once the VEGFR-2-positive cells had been selected, we analyzed by means of a *dot plot* the co-expression of CD133 and CD34. **b** Healthy controls have more EPCs than coronary patients. Coronary patients increased EPCs with the time. $p < 0.05$. **c** Endothelial progenitor cells/ml in five times

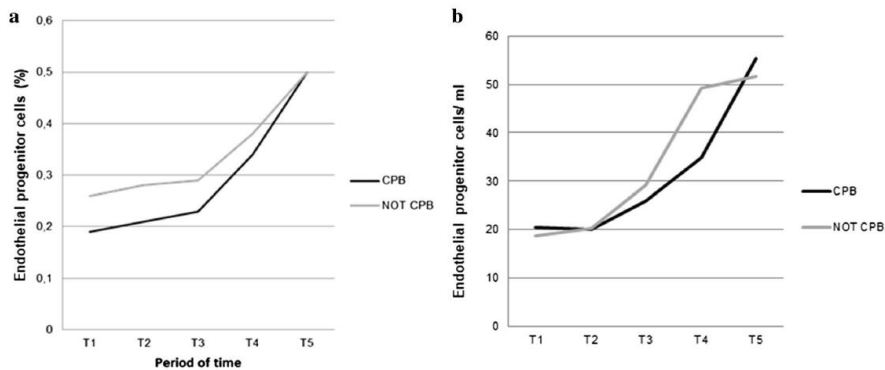


Fig. 2 Endothelial progenitor cells in coronary patients with and without CPB (cardiopulmonary bypass) in 5 times. **a** Percentage of endothelial progenitor cells. No significant difference was recorded

between patients undergoing CPB and those not doing so. **b** Endothelial progenitor cells/ml in 5 times. No significant difference was recorded between patients undergoing CPB and those not doing so

Different immunophenotypes have been used to define and identify the EPCs in patients' peripheral blood [27]. This was done in a study done on patients with cardiac allograft vasculopathy in heart transplant recipients where a double marker known as CD34+ VEGFR2+ was used to identify the EPCs. We have incorporated the molecule CD133 into the characterization of the EPCs, whose expression has been found to be increased in endothelial hematopoietic precursors [28].

Endothelial damage and loss of endothelial integrity may be caused by apoptosis, characterized by to cell membrane changes, nuclear condensation, DNA fragmentation, and the release of small particles known as extracellular microvesicles (EMVs) [29], shed directly by circulating cells (erythrocytes, leukocytes, platelets) [30], cancer cells, and endothelial cells following activation of apoptosis inducers [31]. EMVs carry phospholipids such as phosphatidylserine, which binds to annexin V, and cell membrane proteins from the originating cells, such as the CD31 molecule, and are widely viewed as markers of endothelial damage [32–34].

The phenotype we have used to characterize MV includes the determination of the CD31+ and annexin V+ molecules. This marker is not specific to MV derived from endothelium since it doesn't exclude the MV derived from platelets [35]. However, a detailed characterization of the subtypes of MV implicated in the process before and after surgical coronary revascularization could be of interest as an approach to future studies.

There is some controversy regarding the biological importance of elevated EMV levels (CD31 annexinV+), which are found in patients with a range of pathologies, reinforcing the idea that EMVs may play a role in the development of conditions such as subclinical hypothyroidism [13], chronic obstructive pulmonary disease [36], chronic kidney disease [37], thrombotic thrombocytopenic purpura, antiphospholipid syndrome [38], multiple sclerosis, and vascular calcification [39]. Measurement of EMV levels may help to assess disease progression in patients with aortic valve stenosis [10], and elevated levels have been found to aggravate pathological changes in the mitral valve [40]. Significantly higher EMV counts are reported in patients with coronary syndrome than in healthy subjects [41–43], and they are regarded as independent predictors of cardiovascular death and acute coronary syndrome [44]. The present findings confirmed that EMV levels were significantly lower ($p < 0.001$) in healthy subjects than in coronary patients scheduled for surgery. However, no published research has hitherto addressed the behavior of EMVs in coronary patients undergoing myocardial revascularization with ischemia–reperfusion. Here, surgery prompted an increase in EMV levels in the immediate postoperative period (4 h), followed by a significant progressive decline over the course

of the study (i.e., to 48 h post-surgery). Given the considerable drop in EMV levels in the early postoperative period studied here, it is possible that over longer period levels might continue to fall, approaching those observed in healthy subjects. Use of ECC in coronary patients was not found to influence variations in EMV levels.

The present study did have certain limitations: though results were evident and highly significant, the number of patients included in the study was small and follow-up period was short. Further research with larger patient groups and a longer follow-up period would have been useful in order to ascertain whether the parameters studied EPCs and EMVs attain normal values over time.

To conclude, despite surgical stress and the attendant inflammatory response, coronary revascularization could have a positive impact on the endothelium in patients which is accompanied by less dysfunctional endothelial signs and an increased endothelial repair system.

Acknowledgements The authors gratefully acknowledge the assistance of cardiovascular residents, surgeons, anaesthetists, perfusionists, nurses, and intensive care physicians at the Reina Sofia Hospital and laboratory technicians at the IMIBIC institute. They are also grateful to M. J. Jimenez for technical assistance.

Compliance with ethical standards

Funding This study was funded by Plan Nacional de I+D+i Proyectos de Investigación en Salud of Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)-Subdirección General de Evaluación, Fondos de desarrollo regional (FEDER) (Grant Numbers P112/01489, P114/00806, P115/01785), and Junta de Andalucía Grants (Grant Numbers P010-CTS-6337, P11-CTS-7352).

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee for human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000.

Informed consent Informed consent was obtained from all patients and controls for being included in the study.

References

1. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW (1995) A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15(9):1512–1531
2. Viles-González JF, Fuster V, Badimon JJ (2004) Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J* 25:1197–1207

39. Buendia P, Montes de Oca A, Madueño JA, Merino A, Martín-Malo A, Aljama P, Ramirez R, Rodriguez M, Carracedo J (2015) Endothelial microparticles mediate inflammation-induced vascular calcification. *FASEB J* 29(1):173–181
40. Klinkner DB, Densmore JC, Kaul S, Noll L, Lim HJ, Wehrauch D, Pritchard KA Jr, Oldham KT, Sander TL (2006) Endothelium-derived microparticles inhibit human cardiac valve endothelial cell function. *Schock* 25(6):575–580
41. Nijati M, Gao Y, Abudurehman Z, Yu X, Li G (2015) Relationship between the Level of circulating endothelial microparticles in the blood and blood lipid content in Uyghur and Han patients with acute coronary syndrome. *Clin Lab* 61(8):1071–1075
42. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ, Pastor J, Mauro LM, Horstman LL, de Marchena E, Ahn YS (2003) High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 145:962–970
43. Sinning JM, Losch J, Walenta K, Böhm M, Nickenig G, Werner N (2011) Circulating CD31+/Annexin V+ microparticles correlate with cardiovascular outcomes. *Eur Heart J* 32(16):2034–2041
44. Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, Sugamura K, Ohba K, Matsuzawa Y, Sumida H, Matsui K, Jinnouchi H, Ogawa H (2009) Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. *J Am Col Cardiol* 54(7):601–608



ANEXO 6. Artículos escritos durante estudios de Doctorado.

Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery Advance Access published May 10, 2013

Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery (2013) 1-3
doi:10.1093/icvts/ivt195

CASE REPORT – ADULT CARDIAC

Heart transplantation in a patient with recurrent early extensive endocarditis

Diana M. Valencia Nuñez*, Carlos Merino Cejas, Pedro Alados Arboledas and Ignacio Muñoz Carvajal

Department of Cardiovascular Surgery, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain

* Corresponding author. Dpto. Cirugía Cardiovascular, Hospital Universitario Reina Sofía, Calle Menéndez Pidal S/N, 14005 Córdoba, Spain. Tel: +34 957-010148; fax: +34 957-012868; email: dianavalenciaes@yahoo.es (D.M. Valencia Nuñez).

Received 25 September 2012; received in revised form 17 February 2013; accepted 7 March 2013

Abstract

Active valvular endocarditis could be considered a contraindication to heart transplantation. Nevertheless, there have been some reports of success with this form of treatment, despite the characteristics of the infection and its aggressive nature. Here, we describe the case of a patient with acute bicuspid aortic valvular endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* and with a periannular abscess. Cryopreserved aortic homograft replacement of the aortic root was initially carried out, in addition to debridement and reconstruction of the interventricular septum with a pericardial patch. Early recurrence occurred, however, with extensive tissue destruction, a periaortic abscess and involvement of multiple valves, associated with severe sepsis. In view of the failure of 'conventional' surgery, an emergency heart transplantation was decided on after discussing the case with the Spanish National Transplant Organization (ONT), because of the theoretical contraindication of transplantation in this case. Transplantation was finally carried out after a waiting period of 3 days, in emergency code conditions, and the postoperative course proved uneventful, with no reinfection during the follow-up period. The present case suggests that heart transplantation may be an alternative option in patients suffering aggressive endocarditis with extensive involvement of the heart structures.

Keywords: Endocarditis • Heart transplantation • Recurrent disease

INTRODUCTION

The surgical management of acute endocarditis characterized by extensive tissue damage is a major technical challenge, with morbidity and mortality rates close to 100% [1]. Heart transplantation may be the best alternative in special cases involving extensive infection, where 'conventional' surgery is considered to have few chances of success or has proved to be ineffective.

We report a successful case of heart transplantation in a patient with recurrent early extensive endocarditis.

CASE REPORT

A 28-year-old male stonemason, without history of drug abuse, was admitted for 10 days with a febrile syndrome, bilateral amaurosis with normal pupils and semi-consciousness. The computed tomography brain study proved normal. He subsequently suffered disorientation and slowed mental processing, and empirical treatment was started with doxycycline and gentamicin. The blood cultures proved positive for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Transthoracic echocardiography revealed aortic valvular endocarditis, with severe aortic insufficiency and a periannular abscess extending to the interventricular septum. The suspected portal of entry was skin wounds on the hands resulting from his professional work.

Surgery was carried out, with aggressive debridement of the necrotic tissue, reconstruction of the septum using an autologous

pericardial patch and cryopreserved aortic homograft replacement of the aortic root. The postoperative course was initially satisfactory with use of the antibiotics daptomycin, cloxacillin and gentamicin (blood levels 1,17 mcg/ml); later we added rifampicin. The skin wounds on the patient's hands healed with local and systemic treatment.

Two weeks later, however, the patient developed fever and clinical sepsis; echocardiography showed the aortic homograft to be surrounded by abundant infectious material, which extended to the mitral and tricuspid valves. In addition, a fistula tract was observed, linking the left ventricle with the right atrium. The blood cultures proved positive to the same organism as before the operation.

In view of the failure of conventional surgical treatment with aggressive debridement and the use of totally biological material, the patient was included in the emergency transplant code, and heart transplantation was performed at 72 h (20 days after homograft placement). This was regarded as the best option for eliminating the septic focus, given the rapid evolution of the sepsis and extensive destruction of the endocardial structures.

Examination of the explanted heart showed that the purulent accumulation surrounded the entire homograft. The atrioventricular valves presented multiple vegetations (Fig. 1A), and the mitral-aortic junction showed several fistula tracts towards the septum and left atrium (Fig. 1B). Histological study revealed periaortic abscess, mitral and tricuspid endocarditis, and myocarditis of the left ventricle. The patient's progress was favourable after discharge, with the immunosuppression (mycophenolate mofetil,

2

D.M. Valencia Nuñez et al. / Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery

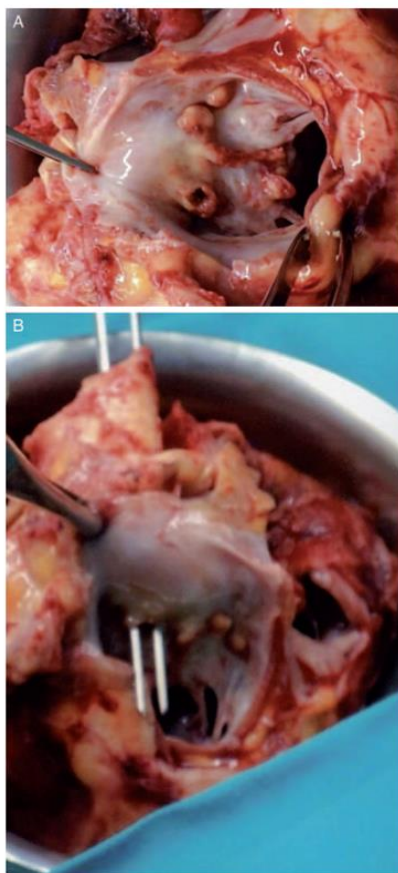


Figure 1: (A) The atrioventricular valves presented multiple vegetations. (B) The mitral-aortic junction showed several fistula tracts towards the left atrium.

tracolumus and deflazacort) and antibiotics for a further 2 weeks. One year later, the patient remains asymptomatic.

DISCUSSION

Despite the advances in antibiotic treatment, endocarditis continues to produce high rates of morbidity and mortality, particularly in the presence of aggressive micro-organisms and extensive destruction of endocardial structures. The surgical management of active infectious endocarditis, together with intensive antibiotic

treatment, has yielded satisfactory results in many studies [1]. Approximately 40–50% of all cases of infective endocarditis require surgical treatment [1]. The most frequent surgical indications are heart failure, large vegetations, multiple systemic embolisms, myocardial abscesses and persistent sepsis [2, 3].

Surgical mortality in patients with active endocarditis is 6–25%, with a long-term survival rate of approximately 80% [1]. Prosthetic valve replacement is the most common surgical procedure; however, the use of cryopreserved homografts is the best option in patients with prosthetic endocarditis [2], as well as in cases of periannular abscesses with extensive involvement and annular destruction requiring ventricular-aortic reconstruction [3]. The recurrence rate of infection in patients subjected to aortic homograft surgery is low (3.8–6.8%) [2].

In some cases, such as that of our patient, the infection can be highly aggressive, with extensive destruction and involvement of multiple valves. Surgery in these cases presents major technical difficulties and multiple complications, mainly as a result of the recurrence of endocardial infection. Although there have been isolated reports of successful 'conventional' surgical treatments [3], these are associated with high risk and high rates of recurring endocarditis.

Following the failure of the first operation, it was considered that repeating multiple valvular surgery was not possible in this patient and was unlikely to prove effective in elimination of the septic focus, due to the large extent of infected endocardial tissue. Although the existence of active infection theoretically constitutes a contraindication to heart transplantation, the latter may be a valid option in certain cases characterized by extensive endocarditis. Heart transplantation is effective in fully eradicating the infectious focus, avoiding the use of complex surgical techniques and preventing the irremediable spread of the endocardial infection and sepsis.

When associated with aggressive specific antibiotic treatment and decrease of immunosuppression in immediate postoperative period, transplantation can offer acceptable results in many cases superior to those afforded by any other management option, once an evolution of the disease similar to our case has been reached [4, 5], even though it involves patients with 'chronic' prosthetic endocarditis with recurrent leakage, in which transplantation was mainly indicated due to congestive heart failure, in the absence of severe sepsis. Only in our case has the indication essentially been due to uncontrolled sepsis secondary to extensive endocardial destruction caused by aggressive micro-organisms in a young man, and the emergency heart transplantation was regarded as the only management option, despite its theoretical contraindication in such patients.

Heart transplantation in such circumstances may have ethical implications, given the theoretically limited possibilities of success, the contraindication of the technique in patients with active systemic infectious processes, and the high mortality rate among individuals who are waiting to receive an organ, given the scarcity of donors. These factors make it necessary to judge carefully whether to use organs in patients where transplantation has questionable indications or is potentially contraindicated.

The present case shows that in experienced centres, active infection might not be an absolute contraindication to heart transplantation. The intervening healthcare professionals and official organ transplant organizations must evaluate the true possibilities of success on an individualized basis in those patients for whom transplantation may be considered questionable or unsuitable.

Conflict of interest: none declared.

REFERENCES

- [1] Byrne JG, Rezaei K, Sanchez JA, Bernstein RA, Okum E, Leacche M et al. Surgical management of endocarditis: the Society of Thoracic Surgeons clinical practice guideline. *Ann Thorac Surg* 2011;91:2012-9.
- [2] Perrotta S, Afjassim O, Jeppsson A, Béch-Hanssen O, Svensson G. Survival and quality of life after aortic root replacement with homografts in acute endocarditis. *Ann Thorac Surg* 2010;90:1862-7.
- [3] Inoue H, Iguro Y, Kinjo T, Matsumoto H, Yotsumoto G, Sakata R. Acquired left ventricular-right atrial communication and severe aortic valve regurgitation caused by infective endocarditis. *Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 57:54-6.
- [4] DiSesa VJ, Sloss LJ, Cohn LH. Heart transplantation for intractable prosthetic valve endocarditis. *J Heart Transplant* 1990;9:142-3.
- [5] Pulpón LA, Crespo MG, Sobrino M, Segovia J, Ortigosa J, Burgos R et al. Recalcitrant endocarditis successfully treated by heart transplantation. *Am Heart J* 1994;127:958-60.

en comparación con el resto. Asimismo, la disfunción cardíaca preoperatoria aislada asoció a menor tasa de eventos cardiovasculares postoperatorios (9,1%) de los 4 sistemas analizados. De hecho, la disfunción cardíaca dejó de ser un factor predictivo independiente de mortalidad tras ajustar con la edad, la esternotomía previa, el índice de masa corporal, el sexo, la raza blanca, la diabetes, la coronariopatía asociada y la cirugía urgente.

Los autores destacan que los efectos deletéreos asociados a la presencia de una o varias disfunciones orgánicas preoperatorias se manifestaron fundamentalmente a partir de los 3 años de seguimiento. La peor combinación de disfunciones orgánicas específicas fue la renal y cardíaca, con una *hazard ratio* ajustada de 5.395. Sin embargo, de acuerdo con los datos de las disfunciones individuales, es más probable que la combinación más deletérea sea la disfunción renal y pulmonar, aunque en este estudio no resultó estadísticamente significativa, ya que solo 3 pacientes presentaron esta asociación.

Resultados similares han sido previamente descritos por otros autores. En una revisión sistemática sobre la mortalidad postoperatoria en la sustitución valvular aórtica, Tjang et al.² encontraron una clara evidencia científica de que la cirugía emergente incrementa la mortalidad postoperatoria precoz, mientras que la mortalidad tardía aumenta con la edad y la presencia de fibrilación auricular. De forma análoga, dentro del grupo de pacientes octogenarios y reportando una mortalidad precoz del 9%, Melby et al.³ señalaron como factores independientes de mortalidad la insuficiencia renal, el ACV postoperatorio con secuelas y la necesidad intra/postoperatoria de balón aórtico de contrapulsación.

En 2012, Ranucci et al.⁴ publicaron un estudio con 979 pacientes sometidos a sustitución valvular aórtica aislada en el que encontraron que el tiempo de pinzamiento aórtico era un factor predictor independiente de morbilidad cardiovascular severa postoperatoria, con un incremento del riesgo de 1,4% por minuto. En dicho estudio los autores concluyeron además que el subgrupo de pacientes que potencialmente más se puede beneficiar de una reducción del tiempo de pinzamiento aórtico son los pacientes ≥ 80 años, los

pacientes con insuficiencia renal crónica con creatinina ≥ 2 mg/dl, los pacientes diabéticos y aquellos con una fracción de eyección $\leq 40\%$. Todos estos pacientes potencialmente podrían beneficiarse más de abordajes menos invasivos y/o tiempos más cortos de pinzamiento aórtico.

Los resultados de este estudio de Thourani et al. reafirman la importancia de identificar correctamente las comorbilidades preoperatorias de los pacientes antes de indicar la cirugía de sustitución valvular aórtica y seleccionar el tipo de estrategia terapéutica. La presencia de disfunciones orgánicas preoperatorias específicas, destacando la afección renal y pulmonar, asocia una mayor morbilidad postoperatoria, especialmente cuando se produce un efecto sumatorio de distintas afecciones. En esta población de alto riesgo quirúrgico, especialmente cuando se asocia una edad avanzada, opciones terapéuticas menos invasivas, como el recambio valvular transcáteter o el empleo de prótesis *sutureless*, pueden resultar especialmente atractivas.

Bibliografía

1. Iung B, Cachier A, Baron G, Messika-Zeitoun D, Delahaye F, Tornos P, et al. Decision-making in elderly patients with severe aortic stenosis: Why are so many denied surgery? *Eur Heart J*. 2005;26(24):2714-20.
2. Tjang YS, van Hees Y, Körfer R, Grobbee DE, van der Heijden GJ. Predictors of mortality after aortic valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;32(3):469-74.
3. Melby SJ, Zierer A, Kaiser SP, Guthrie TJ, Keune JD, Schuessler RB, et al. Aortic valve replacement in octogenarians: Risk factors for early and late mortality. *Ann Thorac Surg*. 2007;83(5):1651-6. discussion 1656-7.
4. Ranucci M, Frigiola A, Mancani L, Castelvécchio S, de Vincentiis C, Pistuddi V. Aortic cross-clamp time, new prostheses, and outcome in aortic valve replacement. *J Heart Valve Dis*. 2012;21(6):732-9.

Victor X. Mosquera Rodríguez
Departamento de Cirugía Cardíaca, Complejo Hospitalario
Universitario de A Coruña, A Coruña, España

Correos electrónicos: Victor.X.Mosquera.Rodriguez@sergas.es,
vxmr@yahoo.es

<http://dx.doi.org/10.1016/j.circv.2013.04.003>

Supervivencia a largo plazo de pacientes ancianos de alto riesgo después de la sustitución de válvula aórtica en Estados Unidos: tomado de la Base de datos de 1991 a 2007 de Cirugía Cardíaca del Adulto de la Sociedad de Cirujanos Torácicos

Long-term survival after aortic valve replacement among high-risk elderly patients in the United States: insights from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database, 1991 to 2007

Brennan JM, Edwards FH, Zhao Y, O'Brien SM, Douglas PS, Peterson ED. Long-term survival after aortic valve replacement among high-risk elderly patients in the United States: insights from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database, 1991 to 2007. *Circulation*. 2012;126:1621-9.

Objetivo: El reemplazo quirúrgico de la válvula aórtica continúa siendo el tratamiento estándar para la enfermedad de la válvula aórtica sintomática operable; sin embargo, hasta el momento no hay suficientes datos en Estados Unidos sobre los resultados a largo plazo después del reemplazo de válvula aórtica en las personas mayores.

Métodos y resultados: Se ha estudiado la supervivencia a largo plazo de 145.911 pacientes ≥ 65 años de edad sometidos a sustitución de válvula aórtica en 1.026 centros, obtenidos de la base de datos de cirugía cardíaca en adultos de la Sociedad de Cirugía Torácica de 1991 a 2007. Las complicaciones intrahospitalarias y la supervivencia a largo plazo fueron estratificadas por edad, riesgo perioperatorio de mortalidad y comorbilidades según la Sociedad de Cirujanos Torácicos. La edad media de los pacientes fue de 76 años; el 16% tenían enfermedad pulmonar crónica; el 6%, insuficiencia renal preoperatoria; el 38%, insuficiencia cardíaca, y el 12%, cirugía cardíaca previa. La media de supervivencia en pacientes de 65 a 69, 70 a 79 y ≥ 80 años de edad sometidos a sustitución de válvula aórtica aislada fue de 13, 9 y 6 años, respectivamente. Para sustitución de válvula aórtica asociada a procedimientos de revascularización miocárdica la supervivencia media fue de 10, 8 y 6 años, respectivamente. Sin embargo, solo en el 5% de los pacientes con sustitución de válvula aórtica aislada que tenían, según la Sociedad de Cirujanos Torácicos, un riesgo perioperatorio alto de mortalidad ($\geq 10\%$), la supervivencia media fue de 2,5 a 2,7 años. La enfermedad pulmonar grave y la insuficiencia renal fueron asociadas cada una con una reducción de $\geq 50\%$ en la supervivencia media entre todos los grupos de edad en comparación con aquellos que no tenían estas comorbilidades, mientras que la disfunción ventricular izquierda y la cirugía cardíaca previa se asociaron con una reducción del 25% en la supervivencia media.

Conclusión: La supervivencia a largo plazo después de sustitución de válvula aórtica quirúrgica en los ancianos es excelente; sin embargo, la mortalidad de los pacientes con un alto riesgo perioperatorio, según la Sociedad de Cirujanos Torácicos, y con ciertas comorbilidades es de peor pronóstico a largo plazo.

Comentario

El aumento de la esperanza de vida de la población ha llevado a que un número creciente de pacientes de edad avanzada presenten enfermedad valvular aórtica sintomática, con malos resultados en los pacientes sin tratamiento, en términos de supervivencia y calidad de vida¹. En contraste, con la supervivencia después de la sustitución de válvula aórtica quirúrgica aislada o asociada con revascularización coronaria en los ancianos es excelente², y actualmente muchos estudios avalan los buenos resultados perioperatorios y a largo plazo^{1,3,4}.

Las válvulas transcáteter aparecen como alternativa para pacientes inoperables, y aunque no existen series con seguimiento prolongado, sus resultados son superiores al tratamiento médico y similares a los de cirugía en pacientes de alto riesgo¹; sin embargo, es muy importante la adecuada selección de pacientes y la valoración por un equipo multidisciplinar (cirujano y cardiólogo).

La magnitud de la muestra analizada, así como la calidad del análisis, da al estudio una gran importancia. Además, la categorización de pacientes es muy completa, y la agrupación de los casos en grupos numerosos por tipos de intervención, rangos de edad y patología concomitante da a las conclusiones del estudio la imparcialidad de interpretaciones que analizan subgrupos menores.

La estancia postoperatoria es sorprendentemente baja (entre 6 y 10 días) en función de los subgrupos de pacientes, con reingresos en 30 días tras el alta (previsiblemente urgentes y relacionados con la intervención realizada) entre el 9,7 y el 11,7%. Estas cifras son muy estimables, pues suponen que, a pesar de tratarse de un grupo de pacientes con importantes comorbilidades, se ha conseguido una evolución exitosa y con una importante disminución de recursos hospitalarios comparados con otros sistemas de salud, donde se obtienen cifras de estancia hospitalaria sensiblemente más altas. Ello, además, supone con bastante certeza la inexistencia de ingresos hospitalarios prequirúrgicos y estancias sumamente cortas en unidades de postoperatorio inmediato (no se menciona ese dato), lo cual tiene gran impacto en las complicaciones postoperatorias, fundamentalmente en infecciones respiratorias e infecciones generales, con gran repercusión en los resultados clínicos finales.

Las readmisiones en 30 días deben considerarse un tanto elevadas, aunque habría que depurar el dato, en el sentido de conocer cuántos de estos reingresos fueron urgentes y debidos al conjunto

de diagnósticos directamente relacionados con la intervención realizada a los pacientes. Sería de relevancia, puesto que se analiza la calidad asistencial, excluir los reingresos programados, los de unidades de día o los debidos a contingencias no directamente relacionadas con la intervención realizada, frecuentes por otra parte en estos rangos de edad y de comorbilidad.

Los resultados a largo plazo, en función de edad, tipo de intervenciones realizadas y factores de comorbilidad, confirman las series publicadas^{2,4} y tienen el gran valor de acreditarse en una serie tan numerosa de pacientes, procedentes de un gran número de centros, por lo que parece más fruto de toda una filosofía asistencial y de gestión clínica que del proceder de una institución o un área asistencial de una comunidad concreta.

Numerosos estudios sugieren que, en los pacientes sometidos a sustitución de válvula aórtica aislada, el EuroSCORE altamente sobrestima la mortalidad, mientras que la puntuación de la *Society of Thoracic Surgeons* (STS) parece ser más adecuada para evaluar la mortalidad perioperatoria en estos pacientes⁵.

A la vista de los resultados y del análisis de esta publicación, la edad avanzada no es un factor de riesgo de mortalidad en los pacientes sometidos a sustitución valvular aórtica aislada, y combinado con CABG, este procedimiento continúa siendo la terapia de elección en términos de resultados clínicos, seguridad de pacientes y costes sanitarios. Así pues, a la luz de los conocimientos actuales, únicamente en casos seleccionados deben contemplarse otras alternativas.

Bibliografía

- Harris RS, Yan TD, Black D, Bannon PG, Bayfield MS, Hendel PN, et al. Outcomes of surgical aortic valve replacement in octogenarians. *Heart Lung Circ*. 2013 Feb 16; doi:10.1016/j.hlc.2013.01.008 [Epub ahead of print].
- Fukui T, Bando K, Tanaka S, Uchimuro T, Tabata M, Takanashi S. Early and mid-term outcomes of combined aortic valve replacement and coronary artery bypass grafting in elderly patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2013 May 9 [Epub ahead of print].
- Shan L, Saxena A, McMahon R, Wilson A, Newcomb A. A systematic review on the quality of life benefits after aortic valve replacement in the elderly. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013;145:1173–89.
- Hosono M, Sasaki Y, Hirai H, Sakaguchi M, Nakahira A, Morisaki A, et al. Risk factors for late valve-related mortality after aortic valve replacement in elderly patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2012 Dec 13 [Epub ahead of print].
- Wendt D, Osswald BR, Kayser K, Thielmann M, Tossios P, Massoudy P, et al. Society of Thoracic Surgeons score is superior to the EuroSCORE determining mortality in high risk patients undergoing isolated aortic valve replacement. *Ann Thorac Surg*. 2009;88:468–74.

Diana M. Valencia Nuñez

UGC Cirugía Cardiovascular, Hospital Universitario Reina Sofía,
Córdoba, España

Correo electrónico: dianavalenciaes@yahoo.es

<http://dx.doi.org/10.1016/j.circv.2013.06.003>



Anexo 7. Premios de estudios realizados durante estudio de Doctorado

1967 Torácica - Cardiovascular

La Sociedad Española de Cirugía Torácica - Cardiovascular

Certifica que:

la comunicación titulada **"RESCATE MEDIANTE CIRUGÍA CORONARIA CONVENCIONAL EN PACIENTES EN ESTUDIO PARA TRASPLANTE CARDIACO"** fue seleccionada para el XXI Congreso Nacional de la Sociedad, celebrado en Junio de 2012 en la ciudad de Sevilla. Presentada en la sesión de Comunicaciones Orales I, firmada por los autores, PASQUALE MAIORANO IULIANO, JAVIER MOYA GONZALEZ, JUAN JOSE OTERO FORERO, DIANA VALENCIA NUÑEZ, GUADALUPE SAUCHELLI FAAS, ISABEL PERNIA OREÑA, PEDRO ALADOS ARBOLEDAS, JAIME CASARES MEDIAVILLA, MARIA TERESA CONEJERO JURADO, MIGUEL ANGEL GARCIA JIMENEZ, del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, resultando **ganadora del premio a la mejor comunicación en Cirugía Coronaria** patrocinado por OPTIMEDIC.

En Madrid, a 30 de Septiembre de 2013.


 Dra. Tomasa Centella Hernández
 Secretaria General SECTCV



C/ Príncipe de Vergara 211. 10º E. Izda. 28002 Madrid
 Telf. +34 917 450 383 | Fax: +34 917 450 124 | secretaria@sectcv.es | www.sectcv.es

Inscrita en el Registro Nacional de Asociaciones Código 1. Sección 1. Número Nacional 3.276. C.I.F.: G78264526



Sociedad Andaluza de
Cirugía Cardiovascular

COLEGIO OFICIAL DE MEDICOS

AVDA. DE LA BORBOLLA, 47

41013 - SEVILLA

www.saccv.org

*El Comité Científico del XII Congreso de la Sociedad Andaluza de
Cirugía Cardiovascular*

**Ha Otorgado el Premio Dr. Luis Castellón a la mejor
Comunicación Oral titulada**

**TRATAMIENTO INTEGRAL DE LA DISECCIÓN DE AORTA TIPO
B AGUDA, CRÓNICA Y RESIDUAL DE DISECCIÓN TIPO A**

Presentada por los Dres:

*Sauchelli Faas, Guadalupe; Alados Arboledas, Pedro; Maiorano Iuliano, Pasquale;
Pernía Orefla, Isabel; Hervás Sotomayor, Daniela; Arias Dachary, Javier; Otero Forero, Juan
José; Conejero Jurado, María Teresa; Valencia Núñez, Diana Marisol; Merino Cejas, Carlos;
Muñoz Carvajal, Ignacio*

*En el XII Congreso de la Sociedad Andaluza de Cirugía Cardiovascular,
celebrado en Málaga los días 26, 27 y 28 de Septiembre de 2013*

*Y para que así conste, expido el presente certificado en Málaga a veinte y
siete de septiembre de dos mil trece*

Fdo. Dr. Carlos Porras Martín
Secretario de la SACCV



Vº.B.º
El Presidente

-Inflamación y daño endotelial en cirugía coronaria-

ANEXO 8. Informes de estancia en el extranjero .

		
<p>Herzzentrum Leipzig GmbH - Postadresse: 04281 Leipzig</p>		<p>Universitätsklinik für Herzchirurgie</p>
		<p>Prof. Michael A. Berger, MD PhD Klinikdirektor Tel.: 0341 / 865-1421 Fax: 0341 / 865-1800/1452 chir.herzzentrum@helios-gesundheit.de</p>
		<p>Terminplanung Tel.: 0341 / 865-1424/1423</p>
<p>Confirmation: Diana M. Valencia Nuñez</p>		<p>Leipzig, May 18, 2018</p>
<p>To whom it may concern,</p>		
<p>This is to confirm that Diana M. Valencia Nuñez is a cardiac surgery resident ("Assistenzärztin") at the Leipzig Heart Center, Leipzig, Germany. She is employed since February 20, 2017 and works on a full-time base of 40 hours per week.</p>		<p>Stationen A3 Tel.: 0341 / 865-256146 B3 Tel.: 0341 / 865-2384 B4 Tel.: 0341 / 865-2484 B5 Tel.: 0341 / 865-2284 ITS I Tel.: 0341 / 865-1222 ITS II Tel.: 0341 / 865-1228 IC A Tel.: 0341 / 865-1130 IC B Tel.: 0341 / 865-1776</p>
<p>Ms. Valencia Nuñez is assigned to a ward for cardiac surgery with 32 beds and assists cardiac surgeries (such as coronary bypass surgeries) in the OR almost daily. She attends our weekly medical education lectures and participates in workshops.</p>		<p>Herzchirurgische Ambulanz/ Transplantationsambulanz Tel.: 0341 / 865-1021</p>
<p>Ms. Valencia Nuñez is currently working on the research study entitled "Inflammation and endothelial damage in coronary surgery".</p>		<p>Forschungsbereich Dr. rer. nat. Maja Theresa Dieterlen Tel.: 0341 / 865-1651</p>
<p>If you have any further questions, please do not hesitate to contact us.</p>		
<p>Yours sincerely,</p>		
		
<p>Professor Michael A. Berger, MD PhD Director of Cardiac Surgery</p>		
<p style="text-align: right;">Seite 1 / 1</p>		
<p>Herzzentrum Leipzig GmbH Strümpellstr. 39, 04289 Leipzig Tel.: 0341 / 865-0, Fax: -1405 info.herzzentrum@helios-gesundheit.de www.helios-kliniken.de/herzzentrum</p>	<p>Geschäftsführung: Dr. Roland Bantle Diana Lohmann Sitz der Gesellschaft: Leipzig RG: AG Leipzig / HRB 5708</p>	<p>HypoVereinbank Leipzig IBAN DE 7186 0200 8600 0671 9384 BIC/SWIFT HYVEDEMM495 Ust-IdNr: DE161982414</p>