

VNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



IMPLICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ARGINASA EN LA  
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA INDUCIDA EN  
LOS PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDIACA CON  
BYPASS CARDIOPULMONAR

TESIS DOCTORAL

JOSÉ LUIS IGLESIAS GONZÁLEZ

SALAMANCA, 2015



**Prof. Dr. D. Francisco Sánchez Lozano. Director del Departamento de Cirugía.**

**Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.**

**CERTIFICA:**

Que la presente Tesis Doctoral, titulada:

**“Implicación de la actividad Arginasa en la respuesta inflamatoria sistémica inducida en los pacientes sometidos a Cirugía Cardíaca con Bypass Cardiopulmonar”**, ha sido realizada por D. José Luis Iglesias González, en el Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca, cumpliendo todos los requisitos para su presentación y defensa ante el Tribunal Calificador.

Y para que así conste y obre a los efectos oportunos, expido el presente certificado en, Salamanca a 25 de mayo de 2015.

**Fdo. Prof. Dr. D. Francisco Sánchez Lozano.**

Director del Departamento de Cirugía.





**D<sup>a</sup>. Pilar Sánchez Conde**, Médico Adjunto del Servicio de Anestesia, Reanimación y Tratamiento del Dolor del Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Profesora Asociada de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

**D. José María Rodríguez López**, Médico Adjunto del Servicio de Anestesia, Reanimación y Tratamiento del Dolor del Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

**D. Miguel Ángel Palomero Rodríguez**, Médico Adjunto del Servicio de Anestesia, Reanimación y Tratamiento del Dolor del Hospital “Ramón y Cajal” de Madrid.

**CERTIFICAN:**

Que la **Tesis Doctoral** titulada “*Implicación de la actividad Arginasa en la respuesta inflamatoria sistémica inducida en los pacientes sometidos a Cirugía Cardíaca con Bypass Cardiopulmonar*” ha sido realizada bajo su dirección y supervisión por D. José Luis Iglesias González.

Un vez finalizada, la presente Memoria ha sido revisada por los que suscriben, encontrándola apta para ser presentada y defendida ante el tribunal que en su día se designe.

Salamanca, 25 de mayo de 2015.

D<sup>a</sup>. Pilar Sánchez Conde

D. José M<sup>a</sup> Rodríguez López

D. Miguel Ángel Palomero Rodríguez



## AGRADECIMIENTOS

Deseo dar mi agradecimiento a todos los profesionales que con su esfuerzo han hecho posible la realización de este trabajo.

A la Prof. Dra. Dña M<sup>a</sup> Pilar Sánchez Conde, al Prof. Dr. D. José María Rodríguez Médicos Adjuntos del “Hospital Clínico Universitario de Salamanca”, profesores de la Facultad de Medicina Universidad de Salamanca, y a Miguel Angel Palomero Rodríguez Médico Adjunto del Servicio de Anestesia, Reanimación y Tratamiento del Dolor del Hospital “Ramón y Cajal” de Madrid, como directores de esta tesis por su asesoramiento, ayuda y permitirme hacer realidad este reto. A todo el Servicio de Anestesia del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, compañeros y amigos, con quienes comparto tanto tiempo.

A todo el departamento de Cirugía, a su director Prof. Dr. D. Francisco Santiago Lozano Sánchez por permitirme desarrollar este análisis.

A José Luis Poveda Marina graduado en estadística por las muchas horas compartidas en la realización de este estudio.

A Faustino Mollinedo y Rósula García Navas por su inestimable ayuda a la hora de realizar este trabajo.

A Carlos Moyano Maza miembro del servicio de Análisis del Hospital Clínico Universitario de Salamanca por su colaboración y ayuda a la hora de obtener los datos y a todos los miembros del Laboratorio del Hospital Clínico Universitario de Salamanca por su paciencia y colaboración.

No voy a olvidarme de mi familia, mi esposa Julia, y mis hijos José Luis y Miguel por su sacrificio, comprensión, colaboración y saber estar en todo momento.





# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>17</b>
<b>1.1. Estado actual del problema</b>	<b>17</b>
<b>1.2. Respuesta inflamatoria sistémica</b>	<b>18</b>
<b>2. RESPUESTA INFLAMATORIA A LA CIRUGÍA CARDÍACA</b>	<b>23</b>
<b>2.1. Fisiopatología de la respuesta inflamatoria a la cirugía con bypass cardiopulmonar</b>	<b>24</b>
<b>2.1.1. Factores que activan la respuesta inflamatoria</b>	<b>24</b>
<b>2.1.2. Mecanismos implicados en la respuesta inflamatoria</b>	<b>25</b>
<b>2.1.3. Componentes clave de la respuesta inflamatoria</b>	<b>25</b>
• Fase temprana	26
• Fase tardía	47
<b>2.1.4. Factores que influyen en la extensión de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca</b>	<b>48</b>
<b>2.2. Implicaciones clínicas de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca</b>	<b>63</b>
<b>2.2.1. Efectos beneficiosos potenciales</b>	<b>63</b>
<b>2.2.2. Efectos perjudiciales</b>	<b>63</b>
<b>3. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA MODULAR LA RESPUESTA INFLAMATORIA</b>	<b>73</b>
<b>3.1. Técnicas quirúrgicas cardíacas noveles</b>	<b>73</b>
<b>3.2. Estrategias para mejorar la biocompatibilidad del circuito de circulación extracorpórea</b>	<b>75</b>
<b>3.3. Estrategias para reducir la endotoxemia</b>	<b>76</b>
<b>3.4. Estrategias para mantener la estabilidad hemodinámica y perfusión de Órganos</b>	<b>77</b>
<b>3.4.1. Técnicas de filtración (ultrafiltración, filtración de leucocitos)</b>	<b>78</b>
<b>3.5. Medicamentos que pueden suprimir la respuesta inflamatoria</b>	<b>81</b>
• Inhibidores de proteasa sérica	81
• Pentoxifilina	82
• Eliminadores de radicales libres y antioxidantes	82
• La inmunomodulación: La controversia de los corticoides	84
• Inhibidores de la ciclooxigenasa	84

• Terapias dirigidas al complemento	85
• Terapias antimediodor	86
• Terapias para disminuir el daño endotelial	86
• Inhibidores de la fosfodiesterasa	86
<b>4. COMPLEJO RECEPTOR DE CÉLULA T O COMPLEJO TCR</b>	<b>89</b>
<b>4.1. Estructura del complejo TCR/CD3</b>	<b>89</b>
<b>4.2. Funcionamiento del complejo TCR/CD3</b>	<b>89</b>
<b>4.3. Funciones del complejo TCR/CD3</b>	<b>91</b>
<b>5. ARGININA, ARGINASA, NOS, PCR, ROS</b>	<b>99</b>
<b>5.1 La L-Arginina</b>	<b>99</b>
<b>5.1.1. Metabolismo de la L – Arginina</b>	<b>99</b>
<b>5.2. La Arginasa</b>	<b>104</b>
<b>5.2.1. Introducción</b>	<b>104</b>
<b>5.2.2. Estructuras y tipos</b>	<b>105</b>
<b>5.2.3. Consecuencias de las alteraciones en los niveles de Arginasa</b>	<b>111</b>
<b>5.2.3.1. Altas concentraciones</b>	<b>113</b>
<b>5.2.3.2. Bajas concentraciones</b>	<b>114</b>
<b>5.2.4. Funciones de la Arginasa</b>	<b>114</b>
<b>5.2.4.1. Hidrólisis de L-Arg</b>	<b>114</b>
<b>5.2.4.2. Regulación de la función inmune</b>	<b>114</b>
• Embarazo	123
• Transfusión	124
• Inflamación	125
• Traumatismo y cirugía	128
• Sépsis	130
• Disfunción endotelial	133
• Cáncer (Modulación farmacológica)	139
• ARG y disfunción del músculo liso vascular	154
• ARG1 después del IAM	154
<b>5.2.5. Células supresoras de origen mieloide (MDSC)</b>	<b>155</b>
<b>5.3. Óxido Nítrico Sintetasa (NOS)</b>	<b>161</b>
<b>5.4. Proteína C Reactiva (PCR)</b>	<b>163</b>
<b>5.5. Especies reactivas de oxígeno (ROS)</b>	<b>169</b>

<b>6. HIPOTESIS Y OBJETIVO DE TRABAJO</b>	<b>173</b>
<b>6.1. Introducción</b>	<b>173</b>
<b>6.2. Hipótesis de trabajo</b>	<b>173</b>
<b>6.3. Objetivos planteados</b>	<b>174</b>
<b>7. MATERIAL Y METODOS</b>	<b>177</b>
<b>7.1. Material</b>	<b>177</b>
<b>7.1.1. Instalaciones</b>	<b>177</b>
<b>7.1.2. Instrumental y equipo</b>	<b>177</b>
<b>7.2. Método</b>	<b>179</b>
<b>7.2.1. Métodos</b>	<b>179</b>
<b>7.2.2. Técnica anestésica</b>	<b>179</b>
<b>7.2.3. Variables estudiadas</b>	<b>182</b>
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>187</b>
<b>8.1. ARG: Comportamiento en los distintos momentos temporales</b>	<b>189</b>
<b>8.2. Comportamiento del resto de las variables orgánicas en los distintos momentos temporales</b>	<b>191</b>
<b>8.3. Severidad de la cirugía y variables orgánicas en el preoperatorio</b>	<b>197</b>
<b>8.3.1. Relación de la severidad de la cirugía con la actividad ARG a las 24 horas</b>	<b>202</b>
<b>8.3.2. Relación de las variables orgánicas en el preoperatorio con ARG a las 24 horas</b>	<b>206</b>
<b>8.4. Tiempo de clampaje y tiempo de circulación extracorpórea</b>	<b>210</b>
<b>8.4.1. Analizar la relación entre tiempo de clampaje y tiempo de circulación extracorpórea con la ARG a las 24 horas</b>	<b>211</b>
<b>8.4.2. Analizar la relación entre el tiempo de clampaje y el tiempo de circulación extracorpórea con el SIRS</b>	<b>212</b>
<b>8.5. PCR preoperatorio</b>	<b>213</b>
<b>8.5.1. Analizar la relación entre los niveles de la PCR preoperatoria con mayor incidencia de complicaciones post-operatorias</b>	<b>214</b>
<b>8.5.2. Analizar la relación entre los niveles de la PCR preoperatoria con SIRS</b>	<b>218</b>
<b>8.6. Valorar la implicación de la actividad ARG en el comportamiento del resto de variables orgánicas</b>	<b>220</b>

8.6.1. Actividad ARG & L – Arg	220
8.6.2. Actividad ARG & CD3ζ	222
8.6.3. Actividad ARG & leucocitos	225
8.6.4. Actividad ARG & linfocitos	227
8.6.5. Actividad ARG & plaquetas	228
8.6.6. Actividad ARG & lactato	230
8.6.7. Actividad ARG & procalcitonina	232
8.6.8. Actividad ARG & PCR	234
8.7. Implicación de la actividad ARG en la respuesta inflamatoria sistémica (Actividad ARG24 & SIRS)	236
8.8. Construcción del índice de inflamación y del índice de inmunidad	237
8.9. Analizar la relación del índice de inflamación con actividad ARG y PCR	240
8.9.1. Índice de inflamación & actividad ARG	240
8.9.2. Índice de inflamación & PCR	242
8.10. Analizar relación del índice de inmunidad con distintas variables	243
8.10.1. Relación de la CD3zeta con el índice de inmunidad	243
8.10.2. Relación del índice de inmunidad con la presencia de SIRS	246
8.11. Analizar relación existente entre ARG y variables relacionadas con la estancia en el hospital (UCI y estancia hospitalaria)	247
8.11.1. Ver relación de la actividad ARG con las complicaciones postoperatorias hasta el 7º día	248
8.11.2. Ver relación de la actividad ARG con estancia hospitalaria: Estancia total y estancia en UCI	250
8.11.2.1. Actividad ARG & Estancia en UCI	250
8.11.2.2. Actividad ARG & Estancia hospitalaria	252
9. DISCUSIÓN	257
10. CONCLUSIONES	283
11. BIBLIOGRAFIA	287
12. ANEXOS	359
ANEXO 1. Documento de consulta preanestésica	359
ANEXO 2. Gráfica anestésica intraoperatoria	360
ANEXO 3. Gráfica de constantes de reanimación	362

<b>ANEXO 4. Abreviaturas utilizadas en el texto</b>	<b>363</b>
<b>ANEXO 5. Leyenda de tablas</b>	<b>369</b>
<b>ANEXO 6. Leyenda de figuras</b>	<b>371</b>
<b>ANEXO 7. Consentimientos informados</b>	<b>374</b>



# **INTRODUCCIÓN**





## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Estado actual del problema.

La cirugía cardíaca, con o sin circulación extracorpórea (CEC), provoca una respuesta inflamatoria vigorosa en todos los pacientes.<sup>1-13</sup> Esta respuesta inflamatoria es bien tolerada por la mayor parte de ellos pero puede resultar en consecuencias deletéreas en algunos individuos, con consecuencias clínicas serias en una minoría, a pesar de los avances en farmacología, técnicas de perfusión, monitorización cardiovascular y técnica anestésica y quirúrgica. La sepsis y fallo multiorgánico son las principales causas de morbilidad y mortalidad en los pacientes críticos. Alteraciones en el sistema inmunitario del paciente, con una respuesta inflamatoria sistémica excesiva por un lado y la parálisis de la inmunidad mediada por células en el otro, parecen ser los elementos clave en la patogénesis de la insuficiencia orgánica múltiple y la susceptibilidad a la infección.<sup>14, 15</sup> Esto es claramente más evidente con respecto a la disfunción pulmonar y cardiovascular postoperatoria. La etiología de esos sucesos es probablemente una combinación de inestabilidad hemodinámica peribypass, isquemia miocárdica global, perfusión orgánica subóptima durante el bypass, y sucesos inmunes por la exposición a la circulación extracorpórea per se. Los siguientes elementos de la cirugía cardíaca y bypass cardiopulmonar (CPB) predisponen a los pacientes a una respuesta inflamatoria indeseable, por lo que conviene recordar: traumatismo quirúrgico, fluctuaciones de la temperatura corporal, lesiones por isquemia/reperfusión (I/R), transfusiones de productos sanguíneos, hemodilución y exposición de la sangre a superficies no endoteliales.<sup>8</sup>

El papel de L - Arginina (L - Arg) en el sistema inmune ha sido sugerido por la disminución marcada de las respuestas de las células T encontradas en pacientes operados de cirugía cardíaca, trasplante hepático, sepsis y algunos tumores, donde el contenido de L - Arg está disminuido por los altos niveles de Arginasa 1 (ARG 1).<sup>4, 16-25</sup> Las condiciones inflamatorias resultan en una disminución significativa de las concentraciones de L - Arg para NOS3 (eNOS; NOS endotelial), debido a un aumento inducido por los patógenos de la ARG 1 y NOS2 (iNOS; NOS inducible) en macrófagos.<sup>26-28</sup> La disminución de L - Arg mediada por ARG 1 y la disminución de NOS3 inducida por endotoxinas afecta a la biodisponibilidad de NO en la microvasculatura,<sup>22, 29, 30</sup> lo que resulta en disfunción endotelial.<sup>16, 31, 32</sup> La disminución

o supresión de la actividad ARG 1 intensifica la producción de NO. Por consiguiente la modulación de la actividad ARG 1 puede ser una opción terapéutica interesante para tratar condiciones inflamatorias como la sepsis, la cual se caracteriza por un aumento de actividad ARG 1, aumento de iNOS, (aumenta el NO; Oxido Nítrico) y una afectación de la NOS3 (eNOS) con disminución de la biodisponibilidad de NO derivado de ella (en condiciones normales la L - Arg de las células endoteliales es convertida por la e NOS (NOS 3) a NO y L - citrulina.<sup>16</sup>

## **1.2.Respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).**

La inflamación es la respuesta del organismo a la lesión tisular y es una respuesta celular y humoral altamente amplificada.<sup>2</sup> El término de “SIRS” es un proceso inflamatorio generalizado no específico, sin una fuente de infección demostrada.<sup>6</sup>

La clasificación de la severidad del SIRS, en SIRS no complicado, sepsis, sepsis severa, y shok séptico basado en la existencia de infección documentada o hipotensión tiene significado pronóstico. Una complicación frecuente del SIRS es el desarrollo de disfunción orgánica, incluyendo lesión pulmonar aguda, shock, fallo renal y síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS). La supervivencia a largo plazo de los pacientes que desarrollan SIRS también puede estar afectada. Esto está bien documentado en el contexto de la sepsis con el riesgo de muerte aumentado 5 años después del episodio séptico.

Criterios para el diagnóstico de SIRS, Sepsis, and MODS:

-SIRS: Es un proceso inflamatorio generalizado, no específico, independiente del factor causal; para su diagnóstico se requiere la presencia de 2 ó más de los siguientes: <sup>2</sup>

Temperatura  $>38^{\circ}$  o  $< 36^{\circ}$ C.

Frecuencia cardíaca  $>90$ latidos /minuto.

Frecuencia respiratoria  $> 20$  respiraciones /minuto o  $\text{PaCO}_2 < 32$  mmHg.

Leucocitos  $> 12.000$ ,  $< 4.000/\text{mm}^3$  o  $> 10\%$  de formas inmaduras.

-SEPSIS: SIRS con infección documentada.

## INTRODUCCIÓN

-SEPSIS SEVERA: Sepsis asociada con disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión.

-SHOCK SEPTICO: Sepsis con hipotensión a pesar de las adecuadas medidas de resucitación con la presencia de anomalías de la perfusión.

-MODS: (Síndrome de disfunción orgánica múltiple): Estado de función orgánica alterada en un paciente enfermo agudo, tal que la homeostasis no puede ser mantenida sin intervención.

Según Laffey la incidencia de MODS después de CEC, en su estudio, fue del 11%, con una mortalidad del 41%.<sup>2</sup> El fallo multiorgánico es el principal predictor de mortalidad en los pacientes cardíacos críticos que requieren ventilación mecánica postoperatoria prolongada.<sup>2, 33</sup> Una respuesta inflamatoria excesiva seguida por una disminución dramática de la inmunidad celular después de la cirugía parece ser responsable de la mayor susceptibilidad a la infección de la herida y posterior sepsis.<sup>34</sup>

Durante la reacción inflamatoria los macrófagos usan L - Arg para producir NO, al inducir la iNOS; un poco más tarde de su activación los macrófagos inducen la formación de poliaminas y ornitina a partir de L - Arg, vía ARG 1; esto induce la producción de colágeno por los fibroblastos y la cicatrización del tejido dañado. Las células tumorales (cáncer de colon, linfoma, leucemia) también producen ARG; por tanto los macrófagos tumorales activados y las células tumorales podrían regular los niveles de L - Arg en el medio ambiente tumoral y como consecuencia alterar la expresión de la cadena  $\zeta$  en la célula T.<sup>35</sup> Tanto in vitro como in vivo el modelo animal ha mostrado que la pérdida de L - Arg induce una baja expresión de la cadena CD3 $\zeta$  y una producción disminuida de citoquinas, como el IFN- $\gamma$ .<sup>4</sup> La proteína C reactiva (PCR) es una proteína de fase aguda sintetizada en el hígado y liberada en procesos inflamatorios; los niveles elevados de PCR se asocian con un pronóstico adverso en pacientes con enfermedad de arteria coronaria, y en estudios previos en pacientes de cirugía cardíaca sugieren que los niveles preoperatorios elevados de PCR están asociados con complicaciones y una mortalidad aumentada a corto y largo plazo. Se elaboró una extensa revisión de los estudios publicados, con estrictos criterios para incluirlos en un metaanálisis, concluyendo que las concentraciones de L - Arg plasmática estaban disminuidas en pacientes con sepsis en ausencia de traumatismo o cirugía.<sup>36</sup>

Surge entonces la hipótesis de que la proporción L - Arg/dimetilL - Arg, inhibidora endógena de L - Arg, (ratio Arg / DMA) se reduce en pacientes con sepsis grave y se asocia con la gravedad de la enfermedad y los resultados.<sup>37</sup>

**RESPUESTA INFLAMATORIA  
A LA CIRUGÍA CARDÍACA**



## **2. RESPUESTA INFLAMATORIA A LA CIRUGÍA CARDÍACA.**

La cirugía cardíaca provoca una respuesta inflamatoria vigorosa con implicaciones clínicas importantes. Aunque a veces esta respuesta inflamatoria se resuelve rápidamente, en las formas extremas puede desarrollarse el SIRS que a veces lleva a la disfunción orgánica mayor y a la muerte.<sup>7</sup>

Tres perspectivas pueden contribuir a la comprensión de la relación entre la respuesta inflamatoria y las secuelas clínicas adversas:<sup>2</sup>

1/ La compleja interacción de las moléculas proinflamatorias y antiinflamatorias que influyen en la presentación y en el curso clínico del SIRS, con el equilibrio de las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias que determinan el curso clínico de la cirugía cardíaca.<sup>38</sup>

2/ Después de la cirugía cardíaca se pueden desarrollar secuelas graves como consecuencia de la infección o hipoperfusión de órganos.

3/ El estado proinflamatorio SIRS, puede ser sólo un aspecto de una respuesta multifacética. El estado contrario ha sido llamado síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria (CARS). La CEC induce una inmunosupresión generalizada que puede jugar un papel importante en el desarrollo de complicaciones infecciosas.<sup>39</sup> Estas respuestas representan el intento del organismo para restablecer la homeostasis y se pueden manifestar clínicamente como proinflamatorio (SIRS), antiinflamatorio (Síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria) o una respuesta mixta intermedia.<sup>2, 40</sup>

Los anestesiólogos están bien posicionados para disminuir el riesgo de secuelas adversas que resultan de la respuesta inflamatoria a la CEC reduciendo los factores de riesgo perioperatorios. Muchos fármacos administrados durante el periodo perioperatorio con el propósito de anestesia y sedación poseen importantes efectos inmunomoduladores.<sup>2</sup>

## 2.1. Fisiopatología de la respuesta inflamatoria a la cirugía con bypass cardiopulmonar.

### 2.1.1. Factores que activan la respuesta inflamatoria.

Activadores inespecíficos de la respuesta inflamatoria incluyen el traumatismo quirúrgico, la pérdida de sangre, transfusión y la hipotermia.<sup>12</sup> La CEC puede activar específicamente la respuesta inflamatoria a través de al menos tres mecanismos distintos.<sup>2, 9</sup> (Figura nº1) Un primer mecanismo implica “activación por contacto” directo siguiendo la exposición de la sangre con las superficies exteriores del circuito de CEC. Un segundo mecanismo consiste en la lesión por I/R en el cerebro,<sup>41</sup> corazón,<sup>41</sup> pulmones,<sup>42</sup> riñón<sup>43</sup> e hígado como resultado del pinzamiento aórtico. La restauración de la perfusión con la liberación del pinzamiento aórtico está asociada con la activación de los índices clave de la respuesta inflamatoria.<sup>44, 45</sup> Un tercer mecanismo sería la endotoxemia que puede activar indirectamente la cascada inflamatoria. La hipoperfusión esplácnica puede dañar la barrera de la mucosa, permitiendo la translocación intestinal de endotoxinas; las concentraciones de endotoxinas sistémicas se correlacionan con el grado de disfunción cardiovascular posterior a la CEC.<sup>46, 47</sup>

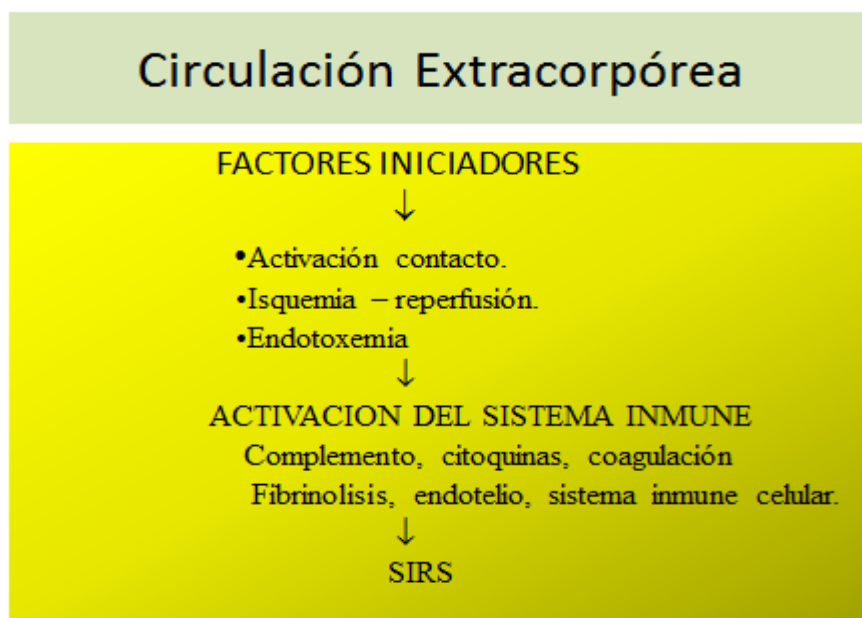


Figura nº1. Secuencia de hechos por los que la CEC puede conducir a desarrollar el SIRS.



### **2.1.2. Mecanismos implicados en la respuesta inflamatoria.**

La CEC induce profundas alteraciones fisiológicas que pueden provocar una intensa respuesta inflamatoria sistémica:<sup>1, 2, 5-12</sup>

- La sangre está en contacto directo con una gran superficie artificial del circuito de CEC. La cirugía de revascularización coronaria con el corazón latiendo, sin bomba, (OPCAB) evita la respuesta inflamatoria de la CEC y reduce el estímulo proinflamatorio de la esternotomía.
- El flujo pulsátil es convertido a flujo laminar.
- El corazón está expuesto a una isquemia fría global con protección cardiopléjica.
- Se baja la temperatura corporal en varios grados.<sup>1, 2, 10</sup>

Como resultado se produce el SIRS que puede llevar a veces al MODS y muerte.<sup>7</sup>

### **2.1.3. Componentes clave de la respuesta inflamatoria.**

La CEC está asociada con una reacción inflamatoria indeseable;<sup>48</sup> es la respuesta inicial, no específica del tejido vascularizado a una variedad de lesiones y representa el intento del cuerpo para protegerse de un agente lesivo. Independientemente de la causa, la respuesta inflamatoria sigue patrones de activación similares cualitativamente, que implican ambas vías inflamatorias humorales y celulares. La cirugía mayor y su anestesia prolongada asociados hacen que el cuerpo sufra una respuesta inflamatoria importante. La CEC, un proceso intrínsecamente antinatural, magnifica esta reacción. La bomba y el oxigenador funcionan de una manera no fisiológica (sin ninguna respuesta de los mecanismos homeostáticos normales); por lo tanto, las presiones intravasculares y composición de los gases en sangre se desvían de los rangos normales.<sup>48</sup> Ocurre una hemodilución significativa causando cambios intercompartimentales con retención significativa de líquidos, dilución y desnaturalización de proteínas plasmáticas;<sup>3</sup> la sangre se expone a superficies no endoteliales y tensiones de cizallamiento anormales, se activan los elementos sanguíneos para producir un número de mediadores vasoactivos, alterando la permeabilidad de capilares, y provocando hemólisis. El sistema de la coagulación se activa y se deteriora. Como resultado, se produce SIRS. La mayoría de las veces, la disfunción de órganos resultante es transitoria y autolimitada porque los mecanismos

homeostáticos son capaces de compensar. Sin embargo, en ocasiones, el paciente puede experimentar complicaciones mayores, aumento de la estancia en UCI y la duración de la estancia hospitalaria.

-El complemento se activa durante la CEC,<sup>10</sup> con la reperfusión de los tejidos isquémicos y durante la neutralización de la heparina con protamina.<sup>49</sup>

-Las citoquinas, que son proteínas solubles y polipéptidos que actúan como mensajeros paracrinos del sistema inmune, son producidas por una gran variedad de células como monocitos activados, macrófagos tisulares, linfocitos y células endoteliales.<sup>2</sup>

-El Oxido Nítrico.<sup>2</sup>

-La cascada coagulación- fibrinólisis.<sup>1</sup>

-El endotelio.<sup>1,2</sup>

-La respuesta celular inmune.<sup>2,50</sup>

La respuesta inflamatoria a la CEC se divide en dos fases clave: temprana y tardía.<sup>1,9</sup>

- **Fase temprana.**

La fase temprana ocurre al iniciarse la CEC, como resultado de que la sangre se pone en contacto con superficies no endoteliales y la fase tardía se produce por lesión I/R y endotoxemia (figura nº2).

En circunstancias normales la sangre sólo se pone en contacto con la célula endotelial lisa que reviste el vaso, superficie con un importante papel en el mantenimiento del equilibrio de la circulación. Por la producción balanceada de sustancias procoagulantes y anticoagulantes, la célula endotelial asegura que la sangre se mantiene en su forma fluida, hasta que la lesión del vaso ocurre y se puede formar el coágulo sanguíneo. Las superficies no endoteliales de la máquina de CEC desplazan este equilibrio en la dirección de la trombosis y para evitar esto es necesario que sean administradas las dosis adecuadas de heparina antes de iniciar la circulación extracorpórea. Cuando la sangre heparinizada se pone en contacto con los tubos del circuito de CEC, las proteínas plasmáticas son adsorbidas instantáneamente formando una monocapa.<sup>48</sup> Algunos de esos pacientes experimentan cambios al exponer a los receptores a las células sanguíneas y a las proteínas circulantes. Esto lleva a la activación de 5 sistemas

proteicos del plasma (contacto, coagulación intrínseca, coagulación extrínseca, sistema fibrinolítico y complemento) y 5 grupos de células (células endoteliales, linfocitos, monocitos, neutrófilos y plaquetas); <sup>51</sup> los papeles de esos 5 sistemas proteicos y 5 grupos celulares son complejos e interrelacionados y todavía no son entendibles completamente, pero las sustancias vasoactivas, enzimas y microémbolos producidos por los mediadores activados inician la respuesta inflamatoria corporal total y son responsables de la mayor parte de las complicaciones asociadas con el CPB llamadas coagulopatía, edema tisular y disfunción orgánica temporal.

### COMPONENTES HUMORALES.

#### 1) SISTEMA CONTACTO.

El sistema contacto consta de 4 proteínas plasmáticas primarias: factor XII (factor de Hageman), factor XI, Precalicerina, y Quinínogeno de alto peso molecular (HK). Cuando la sangre se pone en contacto con la superficie celular no endotelial cargada negativamente, el factor XII, en presencia de Precalicerina y HK, se autoactiva y se parte en 2 proteasas séricas, el factor XIIa y el factor XIIf (término colectivo para llamar a los fragmentos que quedan). El factor XIIa hace que el factor XI pase a XIa, el factor XIIa activa al XIa iniciándose por consiguiente la vía intrínseca de la coagulación.



Figura n°2. Componentes de la respuesta inflamatoria a la CEC

El factor XIIa también activa al HK para formar bradiquinina, un potente péptido vasoactivo que causa vasodilatación y contracción del músculo liso no vascular.<sup>52</sup> Finalmente el factor XIIa rompe la precaliceína para producir caliceína que activa directamente los neutrófilos, impulsa la fibrinólisis, acelera por consiguiente la ruptura del factor XII en un feed-back positivo y amplifica por consiguiente la respuesta inflamatoria.<sup>53</sup>

Está claro que durante el CPB el sistema contacto activa directamente la vía intrínseca de la coagulación y los neutrófilos y esto parece activar indirectamente las plaquetas, el sistema fibrinolítico, complemento y células endoteliales.<sup>48</sup> (Figura nº3)

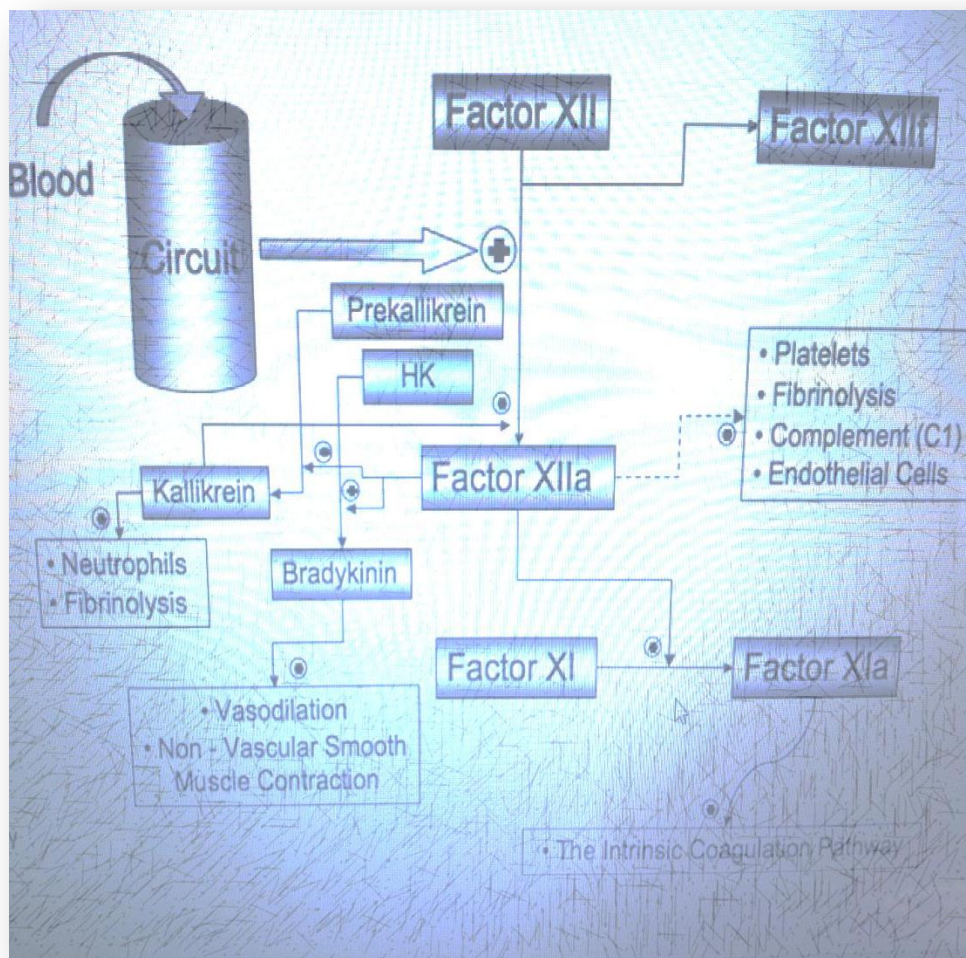


Figura nº 3. Activación del sistema contacto por la circulación extracorpórea.

## 2) VIA INTRÍNSECA DE LA COAGULACION.

La activación de la vía intrínseca comienza con la activación del sistema contacto cuando la sangre es expuesta a una superficie artificial o al colágeno dentro de una pared vascular dañada. El paso inicial lo da el factor XIIa, que en presencia de HK, activa el factor XI en XIa, el cual sigue a través del factor IX, que en presencia de  $Ca^{2+}$ , fosfolípidos y factor VIII activa el factor X. El factor Xa es el punto clave en el cual la vía intrínseca y extrínseca se encuentran. El factor Xa en presencia de factor V,  $Ca^{2+}$  y fosfolípidos convierte la protrombina a trombina. La trombina activa a los factores V, VIII y IX; activa el factor VII y estimula la constricción del musculo liso.<sup>54</sup>

Sin embargo la principal acción de la trombina durante el CPB es partir el fibrinógeno (factor I) a fibrina, activar el factor XIII para reticular fibrina, activar las plaquetas a través de los receptores específicos de la trombina y estimular a la célula endotelial a producir factor Von Willebrand (Factor vW), que ayuda a la agregación de las plaquetas. Esto crea una superficie que soporta la unión de los factores de la coagulación y por tanto facilita la acción de la trombina. Más allá de la coagulación la trombina es uno de los mediadores inflamatorios clave, estimula la producción de factores de crecimiento e induce la producción de sustancias vasoactivas que promueven la adhesión de neutrófilos, atracción de macrófagos y aumento de la permeabilidad vascular.<sup>54</sup>

La vía intrínseca de la coagulación es la vía predominante durante la circulación extracorpórea.

## 3) VIA EXTRINSECA DE LA COAGULACION.

La vía extrínseca se activa por un traumatismo de la pared del vaso (lesión del endotelio)<sup>1, 2</sup> y por consiguiente es la principal vía implicada en la hemostasia de las heridas; aunque las dos vías se superponen la vía intrínseca juega un papel menor en esta situación.

La lesión vascular expone al tejido celular tisular no vascular a la sangre; el factor tisular (FT), una glicoproteína de membrana de esas células, se une al factor VII circulante formando el complejo TF-FVII, que en presencia de  $Ca^{2+}$  y fosfolípidos cataliza la conversión del factor X en su forma activa Xa. Recientes trabajos han llevado a pensar que esa interacción factor VIIa –TF vista en condiciones fisiológicas puede no ser cierta durante la respuesta inflamatoria sistémica de la CEC. Bajo esas condiciones

es altamente improbable que la expresión del TF se restrinja al subendotelio. Aunque varios grupos de investigadores han informado la presencia de TF fisiológicamente activo en condiciones proinflamatorias incluyendo la cirugía cardíaca.<sup>55-57</sup> El TF transmitido por la sangre ha sido informado estar situado en las células sanguíneas, siendo una mezcla de micropartículas procoagulantes, o siendo fragmentos de TF procoagulante soluble.<sup>58-60</sup> Las citoquinas proinflamatorias liberadas durante la CEC pueden estimular a los neutrófilos y monocitos para producir y presentar TF en su superficie;<sup>61, 62</sup> el factor tisular sanguíneo en combinación con los monocitos activados pueden activar el factor VII en pacientes de cirugía cardíaca más que cuando se combina con plaquetas activadas.<sup>55, 63</sup>

Independiente de la fuente del TF, una vez que se genera el factor Xa se produce trombina y las dos vías de la coagulación siguen un curso común.

La cirugía usando CEC, activa ambos brazos de la cascada de la coagulación,<sup>64</sup> necesita heparinización sistémica para prevenir la formación de coágulos dentro del circuito de bypass. La heparina potencia la actividad de la antitrombina III inhibiendo la formación de trombina. La heparinización sistémica activa las plaquetas llevando a la trombopenia inducida por heparina y posiblemente hiperpotasemia secundaria a la inhibición de la aldosterona.<sup>65, 66</sup> La heparinización puede inhibir la formación del coágulo pero actúa en el estadio final común de ambas vías intrínseca y extrínseca.

Hay una progresiva generación de trombina localizada predominantemente dentro de la herida pericárdica,<sup>67</sup> que produce una coagulopatía de consumo que es responsable de muchas de las complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas no quirúrgicas asociadas con estas operaciones.<sup>68</sup> Un inhibidor directo de la trombina, la bivalirudina, puede inhibir completamente la generación de trombina.<sup>69, 70</sup>

#### 4) EL COMPLEMENTO.

El complemento es un sistema proteico activado durante la CEC. Es un sistema de defensa del huésped, citotóxico e innato compuesto de 35 proteínas plasmáticas.

Este sistema inicia y amplifica la respuesta inflamatoria y actúa como un complemento a la inmunidad mediada por anticuerpos contra la infección microbiana. Contenido dentro de este sistema hay varias proteínas reguladoras que protegen al huésped del

ataque mediado por el complemento no deseado.<sup>71, 72</sup> El complemento no se activa de forma espontánea. La activación del complemento ocurre por 3 vías (figura n°4):

-La vía clásica, la cual es inmunocomplejo dependiente (anticuerpos unidos a antígenos).

-La vía alterna la cual puede ser activada solamente por la célula microbiana o por superficies que no son del huésped.

-Y la vía de la manosa unida a la lectina (MBL); esta vía es activada por la lectina que se une a residuos de manosa de los microbios.<sup>73</sup>

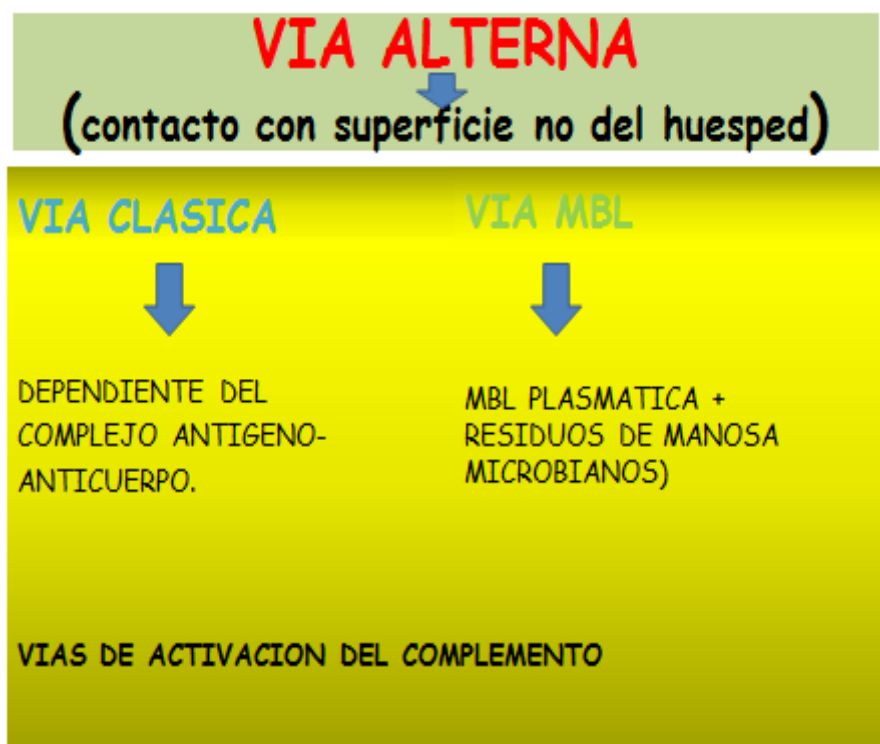


Figura n°4. Vías de activación del complemento.

La vía alterna y la vía MBL son no dependientes de anticuerpos. Las 3 vías eventualmente generan variantes de una proteasa llamada C3 convertasa, punto después del cual el sistema del complemento sigue la misma vía a pesar de los medios de activación (alterna, clásica o MBL). El papel de la C3 convertasa es partir y activar C3 creando C3a y C3b que causan una cascada de productos y activación de sucesos.

La vía alterna es la principal vía por la que la cascada del complemento es activada durante la CEC.<sup>51</sup> (Figura n°5) La activación ocurre inmediatamente después de la puesta en contacto de la sangre con los materiales sintéticos extraños del circuito de bypass y ocurre por la hidrólisis espontánea de C3 para formar C3a y C3b.

El Complejo de ataque de membrana (MAC) está constituido por C5b, C6, C7, C8 y C9 polimérico. El MAC es el producto final de la cascada del complemento y es un canal transmembrana capaz de producir la lisis osmótica de la célula y su muerte.

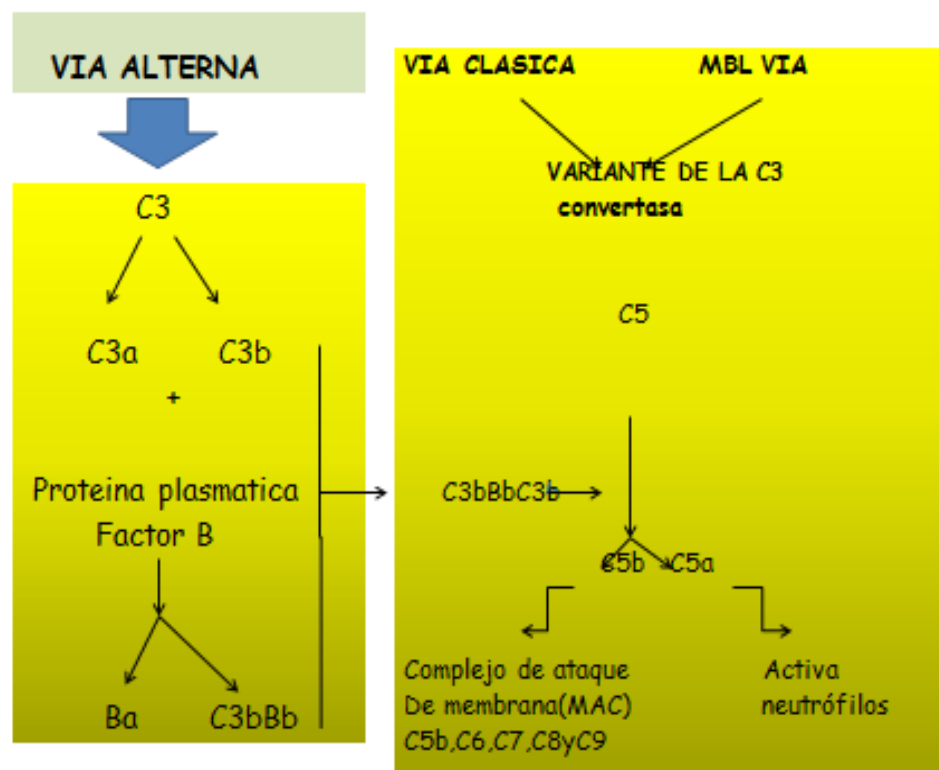


Figura n° 5. Activación del complemento en el CPB principalmente por la vía alterna.

El CPB también activa el complemento por la vía clásica. Hay 3 desencadenantes para ello:

-La formación de los complejos heparina-protamina después de revertir la heparina con protamina al final de la CEC.<sup>74</sup>

-La liberación de endotoxinas por la flora intestinal durante la I/R.<sup>75</sup>



-La activación de C1 por el factor XIIa producido por el sistema contacto.

La activación del complemento juega un papel importante en el desarrollo de lesiones tisulares perioperatorias. C3a, C4a y C5a son anafilotoxinas (C5a es especialmente potente), que alteran el tono vasomotor, aumentan la permeabilidad capilar resultando en contracción del músculo liso de la vía aérea e hipotensión; <sup>76</sup> C5a se une rápidamente a los neutrófilos <sup>77</sup> y en combinación con el MAC estimula su activación y algunos aspectos de la activación de las plaquetas; por consiguiente el MAC causa lisis celular y puede dañar las plaquetas, células endoteliales y miocitos cardíacos. <sup>78</sup> La inhibición del MAC previene la regulación al alza de los receptores de los neutrófilos CD11b, la expresión de los receptores de las plaquetas GMP-140 y la formación de conjugados plaquetas-neutrófilos y plaquetas-monocitos. <sup>48</sup>

La activación del complemento durante la CEC se asocia con la producción de radicales libres de oxígeno y morbilidad significativa. <sup>48, 79</sup> La PCR activa el complemento principalmente por la vía clásica en respuesta a los complejos heparina-protamina en los 5 primeros días siguiendo a la cirugía cardíaca.

El grado de activación del complemento en pacientes programados para CPB tiene significado clínico:

-El grado de shunt pulmonar postoperatorio se correlaciona con la activación del complemento por la vía clásica, por los complejos protamina-heparina. <sup>80</sup>

-Los niveles postoperatorios de C4b-PCR, se correlacionan con la incidencia de arritmias postoperatorias siguiendo al CABG. <sup>81-82</sup>

-Las concentraciones postoperatorias de C3a pueden predecir la probabilidad de disfunción cardíaca, pulmonar, renal y hemostática y la probabilidad de desarrollar MODS en niños. <sup>83</sup>

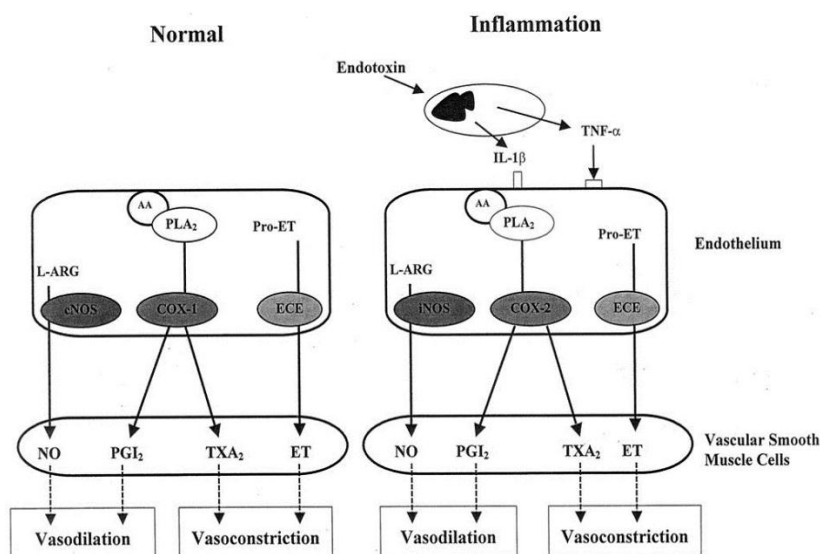
-Las estrategias que mejoran la biocompatibilidad del circuito de CEC reducen los índices de activación del complemento y pueden disminuir la morbilidad postoperatoria particularmente en pacientes de alto riesgo. <sup>84</sup>

-Los anticuerpos Anti-C5a, que reducen la formación de C5b-9, reducen significativamente la lesión miocárdica, pérdida de sangre y déficit cognitivos postoperatorios en pacientes programados para cirugía cardíaca. <sup>85</sup>

5) LA CASCADA DE LAS CITOQUINAS.

Las citoquinas son proteínas solubles y polipéptidos que actúan como mensajeros paracrinos del sistema inmune y son producidas por una gran variedad de células, como monocitos activados, macrófagos tisulares, linfocitos y células endoteliales. Las citoquinas individualmente pueden ejercer tanto efectos pro-inflamatorios como efectos anti-inflamatorios. Son citoquinas pro-inflamatorias la IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 y el TNF- $\alpha$ , que inician la elaboración y liberación de otras citoquinas y estimulan la respuesta hepática de fase aguda. Las citoquinas anti-inflamatorias, IL-4, IL-10, IL-13, sirven para inhibir la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias. Aunque una relación directa de causa y efecto no ha sido demostrada, elevaciones de citoquinas proinflamatorias han sido fuertemente asociadas con resultados adversos después de la cirugía cardíaca. Los pacientes que desarrollan SIRS demuestran elevaciones significativas en las concentraciones de citoquinas en comparación con los pacientes con un curso sin complicaciones después de la cirugía cardíaca.<sup>86-87</sup> Las citoquinas pro-inflamatorias juegan un papel primordial en estimular el proceso inflamatorio, así la IL-1 $\beta$  y la IL6 son predictivas de salidas en pacientes críticamente enfermos.

El TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$  se elevan pronto siguiendo a la cirugía cardíaca, con un pico más tardío de la IL-6 y la IL-8. Dentro del subgrupo de pacientes quirúrgicos de cirugía cardíaca que desarrollan SIRS, los no supervivientes tenían concentraciones más altas de IL-8 y IL-18 comparados con los supervivientes.<sup>87</sup>



**Figura nº 6: La cascada de las citoquinas.** El endotelio regula el tono vascular local y adapta el flujo sanguíneo orgánico a las necesidades metabólicas, alterando el balance de 4 mediadores clave: óxido

nítrico (NO), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) y la endotelina (ET). La endotoxina (lipopolisacárido) se une a los macrófagos para liberar citoquinas, las cuales se unen y activan el endotelio. Esto aumenta la producción de agentes vasoactivos en particular el óxido nítrico, por la regulación al alza de la iNOS. Esto altera el balance dinámico de esos 4 agentes vasoactivos y parece jugar un papel central en las secuelas hemodinámicas del SIRS.

Las concentraciones en suero de IL-6 se correlacionan con mortalidad siguiendo la cirugía cardíaca pediátrica.<sup>88</sup> La respuesta de las citoquinas pro-inflamatorias a la cirugía cardíaca es equilibrada por una respuesta de las citoquinas anti-inflamatorias, receptores solubles de citoquinas, antagonistas de los receptores de citoquinas. Las citoquinas anti-inflamatorias clave incluyen la IL-10, que limita la respuesta inflamatoria y es un potente inhibidor de la producción de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 y IL-8;<sup>89</sup> el antagonista del receptor de la interleuquina 1(IL-1ra) que antagoniza a la IL-1 $\beta$ ; los receptores solubles TNF 1 y 2 (TNF sr 1 y 2) que son los antagonistas específicos de la TNF- $\alpha$  limitando la respuesta inflamatoria al unirse a la TNF- $\alpha$  circulante y TGF- $\beta$ .<sup>2</sup>

La respuesta inmuno-inflamatoria es iniciada siguiendo a la cirugía. Los PMNs, el endotelio, los macrófagos y los linfocitos se activan por la secreción de varios mediadores incluyendo las citoquinas, el óxido nítrico, el factor activador de plaquetas, reactivos de oxígeno, factores de crecimiento y eicosanoides (figura nº6). Varios sucesos fisiológicos ocurren para regular la lesión padecida.

La liberación de adrenalina suprime la secreción de insulina pero estimula la secreción de hormona del crecimiento y de renina, proteolisis y glucogenólisis intensificando la neoglucogénesis hepática.

El glucagón liberado por los islotes pancreáticos aumenta la producción de glucosa hepática a partir de substratos que surgen del catabolismo tisular.

El hígado sintetiza reactantes de fase aguda como la PCR, inhibidores de proteasas, fibrinógeno y transferrina. El complemento es también activado en fase aguda resultando en disminución de la hemorragia. Las citoquinas son los mediadores llave mientras la unión a receptores específicos de las células diana inicia la cascada de un segundo mensajero intracelular llevando a un estado alterado en la célula diana. La respuesta inflamatoria a la lesión implica un juego entre catecolaminas, ACTH, cortisol, glucagón, citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18) y otros

productos celulares. Las alteraciones que tienen lugar en la respuesta hemodinámica, metabólica e inmune son reguladas por mediadores endógenos como las citoquinas.

Las citoquinas se unen a receptores celulares específicos resultando en la activación de señales intracelulares, que regulan la transcripción de genes. Por este mecanismo las citoquinas influyen en la respuesta celular inmune, diferenciación, proliferación y supervivencia. Estos mediadores regulan la producción y actividad de otras citoquinas, que pueden aumentar o disminuir la respuesta inflamatoria. La capacidad de las citoquinas para activar diversos tipos celulares y de incitar diversos tipos de respuesta apunta el pleiotropismo de esos mediadores inflamatorios.

#### 6) OXIDO NITRICO

El NO es un mediador biológico que actúa como un regulador fisiológico y que puede ser responsable de daño tisular. Las funciones fisiológicas reguladas por él incluyen:

-vasodilatación endotelial sistémica y pulmonar. La vasodilatación inducida por el NO previene el acúmulo de mediadores lesivos para el endotelio;

-funciones inmunomoduladoras;

-algún papel en la nocicepción, memoria y función eréctil.<sup>90</sup>

-función protectora en la respuesta inflamatoria; el NO puede eliminar los radicales libres y evitar la sobrerregulación de las moléculas CD11 / CD18 de neutrófilos (moléculas de adhesión). El suplemento de la cardioplejia y líquido de perfusión con el precursor del NO, la L - Arg, o un donante de NO (SPM-5185) tiene efectos beneficiosos sobre el acúmulo de neutrófilos tras la reperfusión, función endotelial y el rendimiento del miocardio después de la isquemia miocárdica a nivel experimental,<sup>91</sup> posiblemente inhibiendo la adhesión y citotoxicidad de los neutrófilos. La L - Arg juega un papel central en la función normal del sistema inmune, un descenso de sus niveles induce un profundo descenso de la función de los linfocitos T.<sup>25</sup> La liberación de NO durante el CPB depende del tipo de flujo, con disminución de su liberación basal durante el flujo no pulsátil, llevando al cierre funcional de los capilares por la disminución de la tensión de cizallamiento de la pared del vaso. La liberación de NO se produce por la eNOS y su liberación es función de la frecuencia y amplitud del flujo pulsátil.<sup>92</sup>

El papel del NO en la respuesta inflamatoria es complejo; el NO tiene varias acciones potencialmente perjudiciales. Sus propiedades proinflamatorias también podrían potencialmente causar lesiones del tejido y contribuir a la disfunción de las vías respiratorias en estados de enfermedad tales como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).<sup>93</sup> Los descensos, inducidos por las citoquinas, de la función miocárdica parecen estar relacionados con los aumentos de la iNOS, la cual está regulada al alza por la CEC. La prevención del aumento de la iNOS puede reducir la inestabilidad hemodinámica post CEC, mientras que la inhibición de la iNOS puede revertir la hipotensión refractaria del shock establecido. El NO es un radical libre altamente reactivo que se combina con una gran variedad de moléculas in vivo. Mientras que generalmente el papel de eliminación de radicales libres del NO es protector, se puede combinar con el radical superóxido para formar peroxinitrato, un radical más perjudicial; el NO también actúa como una toxina celular potente que inactiva enzimas de la glucólisis, ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones y reduce el ATP intracelular y las concentraciones de antioxidantes predisponiendo por lo tanto a la muerte celular. El NO es producido en pequeñas cantidades por la eNOS, que juega un papel importante en la regulación fisiológica del tono vascular basal, en la integridad del flujo sanguíneo capilar y adhesividad de los leucocitos y plaquetas al endotelio.<sup>90</sup> La actividad de la eNOS parece estar inhibida en las fases más tempranas de la respuesta inflamatoria, permitiendo vasoconstricción y aumento de la adhesividad de los leucocitos y plaquetas al endotelio. Sin embargo en 4-8 horas la iNOS es producida por una amplia variedad de tejidos como el músculo liso, hepatocitos y células de Kupffer y produce NO en cantidades más altas; la IL-1 $\beta$  juega un papel fundamental en el proceso de dilatación inflamatoria inducida por el NO.

Tanto la ARG 1 como la ARG 2 regulan un alto poder de producción de NO por la iNOS; sin embargo la ARG 1 fue más eficaz en la regulación de la producción de NO por la eNOS.<sup>94</sup>

El NO es un vasodilatador derivado del endotelio. La CEC puede inducir de forma transitoria disfunción endotelial pulmonar con disminución de la liberación de NO, que contribuye a la hipertensión pulmonar postoperatoria y a la lesión pulmonar.<sup>95</sup> Los niveles de NO pueden reflejar, en parte, la producción endógena del endotelio vascular pulmonar. La disminución de los niveles de NO exhalado sugiere reducción de la síntesis de NO como resultado de la lesión endotelial vascular pulmonar o lesión

epitelial del pulmón. Esto puede explicar la eficacia del NO inhalado en el tratamiento de la hipertensión pulmonar postoperatoria.<sup>95</sup> En respuesta a la estimulación de citoquinas, la iNOS produce grandes cantidades de NO con consecuencias potenciales en la fisiopatología de la arteriosclerosis. Investigaciones anteriores han demostrado la presencia de iNOS en las lesiones arterioscleróticas humanas.<sup>96, 97</sup> Los cambios en la producción del NO podrían ser el primer paso en el desarrollo de ateroma. La arteriosclerosis es un proceso inflamatorio crónico de la íntima de las arterias, lo que altera la regulación del tono del endotelio vascular por el NO (que relaja el músculo liso del endotelio); la pérdida del NO formado por la eNOS, predispone al vasoespasmo e isquemia coronaria; la disfunción de la vía eNOS predispone a la arterioesclerosis al perder los efectos protectores del NO contra la adhesión de los leucocitos, procesos oxidativos, migración y proliferación de las células del músculo liso; por tanto la disfunción endotelial es un suceso temprano en la aterogénesis, que también puede implicar a la microcirculación. Por otra parte el ambiente inflamatorio en las placas arterioescleróticas puede resultar en la expresión de la iNOS. El NO generado por la iNOS puede ser beneficioso sustituyendo el fallo de la producción endotelial, pero su liberación excesiva puede dañar las células de la pared vascular, especialmente en combinación con grupos intermedios reactivos de oxígeno.<sup>98</sup>

Algunos trastornos incluyendo alteraciones neuronales, del sistema inmunológico y cardiovasculares están asociados con una producción excesiva de NO. La inhibición de la síntesis de NO por medio de las metilL - Argininas como la dimetilL - Arg asimétrica (ADMA), así como la inhibición de la eNOS en patologías como la hipertensión, lesiones por I/R, diabetes y otras enfermedades cardiovasculares podría ser una estrategia terapéutica útil.<sup>99, 590</sup>

La venodilatación es una característica de endotoxemia y sepsis. Se vió que tres citoquinas (IL-1 beta, TNF- $\alpha$  e IL-6) generadas durante la endotoxemia afectan el tono venoso, produciendo venodilatación en seres humanos in vivo, mediante el aumento de la generación de NO y viendo que el NO proviene de la isoforma iNOS o eNOS.<sup>100</sup> Se demostró que había un acúmulo de metabolitos de NO en el plasma humano durante la sepsis. Esto coincidió con un aumento de los niveles de endotoxina en la circulación y disminución de las resistencias vasculares sistémicas (como una medida de la vasodilatación excesiva).<sup>101</sup>

## 7) LA FIBRINOLISIS.

Activada durante la CEC, es el contrapeso al sistema de la coagulación. Si la coagulación fuera activada sin mecanismos regulatorios, la producción continua de fibrina causaría trombosis generalizada; el sistema fibrinolítico limita este proceso localizando la formación del coágulo en el lugar del tejido o vaso lesionado y por tanto previene la amplia oclusión del vaso trombótico e isquemia tisular secundaria.

El plasminógeno es una proteína inactiva sintetizada en el hígado y en la célula endotelial; es incapaz de adherir fibrina pero tiene afinidad por ella que es incorporada dentro de los coágulos cuando ellos se forman. El plasminógeno es convertido a su forma activa la plasmina, principalmente por el activador tisular del plasminógeno (t-PA). La plasmina es una proteasa sérica que corta la fibrina en hilos produciendo varios productos de degradación, los más pequeños son los dímeros-D y eventualmente llevan a la solubilización del coágulo.<sup>102</sup> En circunstancias normales, t-PA se libera lentamente por el endotelio de los vasos sanguíneos dañados, de tal manera que se produce la disolución del coágulo durante varios días, sin interrupción de la reparación local de vaso. Durante la CEC la fibrinólisis se produce dentro del circuito,<sup>103</sup> mostrado al aumentar progresivamente los niveles de dímeros-D, en toda su duración.<sup>64</sup> La activación e inhibición de la plasmina son reguladas por la  $\alpha_2$ -antiplasmina,  $\alpha_2$ -macroglobulina y el inhibidor de la fibrinólisis. La fibrinólisis ocurre de forma continua en la cirugía cardíaca particularmente en la herida pericárdica.<sup>104, 105</sup> La trombina estimula a la célula endotelial a producir t-PA,<sup>106</sup> así como factor XIIa y niveles elevados de calicreina.<sup>73</sup> La medida en la que la fibrinólisis ocurre, como indicado por los niveles de dímeros-D, se correlaciona con el aumento de la hemorragia perioperatoria.<sup>107</sup> La activación del sistema fibrinolítico disminuye la capacidad de adhesión y agregación de las plaquetas por la redistribución de los receptores de la glicoproteína Ib y IIb/IIIa.

## COMPONENTES CELULARES

### 1) LAS CELULAS ENDOTELIALES.

El endotelio controla el tono y la permeabilidad vascular, regula la coagulación y la trombosis, y dirige el paso de leucocitos a áreas de inflamación a través de la expresión

de proteínas de superficie y la secreción de mediadores solubles. La respuesta inflamatoria a la CEC se caracteriza por una activación endotelial generalizada y difusa disfunción del mismo.<sup>15, 108</sup> Los mediadores inflamatorios, incluyendo el TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$  se unen a receptores específicos del endotelio, iniciando varias vías de transducción de señal que a su vez activan un conjunto específico de genes dentro del núcleo de la célula endotelial. Aunque las células endoteliales no llegan a estar en contacto directo con el circuito de CEC, están en contacto directo con la sangre. Ellas juegan un buen papel en la respuesta inflamatoria a la CEC, manteniendo la fluidez de la sangre, la influencia del tono vascular, manteniendo la integridad del sistema vascular, implicándose en la adhesión y migración de los leucocitos a los tejidos; todo ello al responder a una serie de agonistas sanguíneos, principalmente la trombina, C5a, IL-1 $\beta$ , TNF -  $\alpha$  y produciendo o inactivando otras sustancias.

La IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$  estimulan a la célula endotelial a producir y expresar las moléculas de adhesión celular E-selectina y P-selectina. Estas se unen con alta afinidad a los ligandos en los leucocitos activados y median "balanceo" de leucocitos. También inducen la expresión de moléculas de adhesión intracelular 1 (ICAM 1) y moléculas de adhesión celular vascular 1, las cuales unen firmemente neutrófilos y monocitos al endotelio y facilitan la migración de leucocitos a través del endotelio al espacio extravascular para mediar muchas de las manifestaciones inflamatorias de la CEC; dando como resultado la adhesión, activación y degranulación del neutrófilo; se daña el endotelio provocando fuga capilar difusa y edema. La lesión del endotelio activa el factor tisular, se activa la vía extrínseca de la coagulación y puede resultar en coagulación intravascular diseminada.<sup>2</sup>

Durante la CEC las células endoteliales producen una gran variedad de agentes hemostáticos y anticoagulantes <sup>109</sup> incluyendo sulfato de heparina, antitrombina, trombomodulina y proteasa nexin 1 (ambas extraen trombina), proteína S (que acelera la Proteína C, anticoagulante natural), t-PA, y finalmente factor tisular inhibidor de la vía, un polipéptido de cadena sencilla que inhibe de forma reversible al factor Xa e indirectamente inhibe al complejo factor VIIa-FT que conduce la vía extrínseca de la coagulación.<sup>110</sup> Ellos también influyen el tono vasomotor a través de la producción o inactivación de sustancias químicas como el NO (factor relajante derivado del endotelio), la endotelina-1, histamina, noradrenalina y bradicinina.<sup>1</sup>



El aumento de las resistencias vasculares pulmonares siguiendo a la CEC es debido a la disminución de la producción del NO por el endotelio pulmonar disfuncional.<sup>2</sup> Además la disfunción del endotelio puede comprometer a largo plazo el éxito de la cirugía cardíaca por contribuir a la producción de estrechamientos en los lugares de anastomosis del injerto como consecuencia de la hiperplasia de la media y mediante la aceleración de la progresión de la arterioesclerosis. La disfunción del endotelio activa la respuesta inflamatoria, el reclutamiento de leucocitos y plaquetas a la pared arterial, lo que puede iniciar la formación de la placa arterioesclerótica.<sup>111, 112</sup> Este proceso es particularmente probable en los lugares de alteración del flujo sanguíneo, como en las anastomosis del injerto y está potenciado por la hipercolesterolemia.<sup>113</sup> La disfunción del injerto en pacientes con hipercolesterolemia es debido a la menor disponibilidad del NO; <sup>114</sup> las estatinas al bajar el colesterol restauran la función endotelial; esta restauración mejora la perfusión miocárdica, disminuye la isquemia miocárdica y revierte la arterioesclerosis.<sup>111</sup>

### 2) LOS LEUCOCITOS.

La CEC disminuye inicialmente el conteo de leucocitos por el efecto hemodilucional del líquido usado para cebar el circuito de circulación, sin embargo durante y después del CPB <sup>51</sup> aumentan en número y actividad. La CEC activa 3 tipos de leucocitos: neutrófilos, monocitos y linfocitos.

#### ●NEUTRÓFILOS.

Los neutrófilos son las células efectoras de la reacción defensiva, cuando son activados liberan enzimas citotóxicos de los gránulos intracelulares incluyendo elastasas, mieloperoxidasas y varios lisozimas. A través del estallido respiratorio son capaces de producir radicales libres de oxígeno (ROS), peróxido de hidrógeno, grupos ácidos y otras sustancias altamente citotóxicas.<sup>77</sup> La liberación de esas sustancias puede ocurrir dentro de los vasos o directamente dentro de los tejidos. La CEC activa los neutrófilos, mostrado por los niveles elevados de la elastasa neutrofilica, citoquinas proinflamatorias producidas por los neutrófilos y conjugados leucocitos-plaquetas.<sup>115</sup> Los neutrófilos son activados predominantemente por el C3a, C5a, kaliceina y factor XIIIf (complemento y sistema contacto), aunque otros mediadores como la trombina, TNF- $\alpha$ , heparina, endotoxina, histamina y péptido 2 activador de neutrófilos, liberados de las plaquetas han mostrado activar los neutrófilos durante el CPB; <sup>73, 75, 116</sup> los efectos

del complemento sobre la activación de los neutrófilos ocurre a los segundos de la exposición. Finalmente los neutrófilos son activados a través de la interacción directa con las células endoteliales, interacción que juega un papel importante en la fase tardía de la respuesta inflamatoria.

Los pasos implicados en la activación y extravasación de los neutrófilos al lugar de la lesión tisular son los siguientes: captura, rodamiento, adhesión y migración;

- Las células endoteliales son activadas por la exposición a citoquinas proinflamatorias, traumatismo, lesión por I/R y bacterias. Posteriormente las células endoteliales comienzan a reclutar neutrófilos desde la sangre; inicialmente los neutrófilos ruedan por la capa del endotelio medidos por el aumento de la expresión de la selectina-L de la superficie del neutrófilo y la selectina-E y P de la célula endotelial; éstas crean ligaduras de baja afinidad.

- Para que la adhesión completa y la migración ocurran, es necesario la creación de ligaduras de alta afinidad mediadas por las moléculas de adhesión celular. Los neutrófilos expresan una integrina, el receptor MAC-1 (que consta de 2 subunidades CD18 y CD11b) que es regulado al alza por la CEC; la célula endotelial expresa ICAM-1 e ICAM-2 y las plaquetas moléculas de adhesión molecular endotelial-1. La interacción entre esas moléculas de adhesión asegura la unión firme de los neutrófilos a la superficie endotelial. Aquí los neutrófilos pueden formar grupos produciendo oclusión microvascular y daño orgánico final.

- Una vez unidos, los neutrófilos experimentan cambios para facilitar su migración dentro del compartimento intersticial a través de la monocapa endotelial; esto se facilita por la expresión de moléculas de adhesión en las uniones de las células endoteliales y la liberación de agentes quimiotácticos dentro del espacio subendotelial, el cual crea un gradiente de concentración para que la migración pueda ocurrir.

- Una vez dentro de la matriz extracelular los neutrófilos liberan el contenido citotóxico de sus gránulos intracelulares, resultando en un aumento de la permeabilidad vascular, edema intersticial, trombosis y muerte de la célula.<sup>117-118</sup> Esto se ha visto que ocurre dentro de los pulmones, corazón y otros órganos durante y después de la CEC.<sup>119-121</sup>

La CEC activa los leucocitos y puede inducir disfunción orgánica debido a un reclutamiento aumentado de los leucocitos en diferentes órganos.<sup>5</sup> Se ha visto que el

CPB abolía el rodamiento lento de los leucocitos inducido por las selectinas e inducía un aumento de la migración de los mismos causado por una regulación al alza de las MAC-1 en los neutrófilos.

La mayor parte de los investigadores consideran que los neutrófilos pueden jugar un papel central en la lesión tisular y orgánica que resulta de la CEC, y por consiguiente ellos son el blanco de muchos esfuerzos terapéuticos tanto mecánicos<sup>122</sup> como farmacéuticos.<sup>123, 124</sup>

### ●MONOCITOS.

Los monocitos son también activados durante el CPB, pero más lentamente que los neutrófilos y el complemento, con niveles pico de actividad unas cuantas horas después de comenzar la CEC.<sup>125</sup> ¿Cómo se activan los monocitos?, no está completamente claro; la producción de C3b durante la activación del complemento puede ser un mecanismo pero es probable que otros factores como el contacto con el circuito de circulación extracorpórea, C5b-9, las interacciones con el factor tisular soluble y la endotoxina puedan intervenir en este proceso.<sup>51, 63, 117</sup>

Cuando son estimulados los monocitos producen citoquinas pro y antiinflamatorias incluyendo la IL-1, IL-2, IL-3, IL-6 y la IL-8.

Los niveles plasmáticos pico de esos mediadores de la respuesta inflamatoria ocurren algunas horas después de la CEC, sugiriendo que su impacto es grande en el periodo postoperatorio temprano. Los monocitos juegan un papel apreciado en la hemostasia durante la cirugía cardíaca, tanto independientemente como unidos a las plaquetas con quienes forman conjugados monocitos - plaquetas<sup>126</sup> a través del receptor de membrana proteína - 140; cuando son estimulados por las citoquinas proinflamatorias los monocitos producen y presentan un factor tisular en su superficie en la herida pericárdica y en el circuito.<sup>61, 62</sup> El FT sanguíneo en unión con los monocitos activados pueden activar el factor VII en cirugía cardíaca, más que cuando se combina con las plaquetas activadas.<sup>55,63</sup> La expresión del TF inicia la vía extrínseca de la coagulación.

### ●LINFOCITOS.

La concentración total de linfocitos cae durante la CEC, un efecto reflejado en todas las subespecies, incluyendo los linfocitos B, células NK, células T helper y linfocitos T

supresores. Este descenso permanece alrededor de 3-7 días después de la cirugía.<sup>127</sup> El descenso en el número se combina con una afectación de la fagocitosis de las células blancas y una inhibición de la habilidad de los monocitos para presentar el antígeno y sintetizar IL-1, y resulta en una debilidad de la respuesta celular inmune y un aumento en la susceptibilidad de los pacientes a adquirir infecciones postbypass.<sup>128</sup>

### 3) LAS PLAQUETAS.

El CPB activa las plaquetas produciendo un descenso en el número de un 30% a un 50% y afectando su función lo cual contribuye a coagulopatía postoperatoria. El número de plaquetas disminuye casi instantáneamente por la dilución de los líquidos de cebado del circuito, pero este mecanismo sólo no es suficiente para explicar la trombopenia presenciada en el CPB; otros factores que probablemente contribuyen al consumo de plaquetas incluyen la destrucción mecánica, adhesión a la superficie del circuito, secuestro en ciertos órganos y la coagulopatía de consumo.<sup>73</sup>

La activación de las plaquetas es multifactorial con mediadores, dosis de heparina, hipotermia y contacto directo con el circuito de CEC.<sup>116</sup> Una vez que la bomba se pone en marcha, bajas concentraciones de trombina se generan en la herida pericárdica y dentro del circuito. La trombina es un potente agonista plaquetario y probablemente inicia la activación de las plaquetas; sin embargo como la cirugía continúa, C5b-9, los leucotrienos, la plasmina, el factor activador de plaquetas, superficie de contacto y las colagenasas activan las plaquetas. Una vez activadas, se adhieren a la superficie adsorbida de fibrinógeno, Factor vW, y fibronectina, se adhieren a la superficie del circuito. Ellas expresan el complejo receptor glicoproteína IIb/IIIa el cual les permite adherirse a otras por medio de puentes de fibrinógeno y también expresan la selectina - P, que contribuye a la formación de conjugados de monocitos y de neutrófilos por la unión selectina - P glicoproteína I. La expresión de la selectina - P también estimula a los monocitos a expresar FT que contribuye a la evolución de la formación del trombo. Algunas plaquetas, tanto agregadas como circulantes, liberan sus gránulos que contienen sustancias quimiotácticas, proteínas de la coagulación (HK, Factor vW) y sustancias vasoactivas (tromboxano A2). Las plaquetas también contribuyen a la formación de microémbolos, como fragmentos rotos que se han separado de los agregados de plaquetas adsorbidos a la superficie, como parte de los conjugados de plaquetas - leucocitos o como parte de émbolos de plaquetas - fibrina. Como la función y los niveles de plaquetas bajan, unas cuantas plaquetas nuevas entran en la circulación

desde la médula ósea; con lo que al final de la CEC la población de plaquetas llega a ser altamente heterogénea.

La circulación extracorpórea produce trombopenia y aumento del tiempo de hemorragia que se normalizará dentro de 4-12 horas.<sup>129</sup>

### **LA RESPUESTA CELULAR INMUNE**

El proceso de adhesión del neutrófilo al endotelio es un componente esencial de la respuesta inflamatoria llevando al daño endotelial amplio, implicando distintas fases de la adhesión primaria y secundaria.<sup>95</sup> En el estado no inflamatorio los leucocitos viajan junto con los hematíes en el centro de la vénula postcapilar.

Con la exposición del plasma del paciente al circuito de CEC se activan los monocitos y macrófagos, aumenta la expresión de las moléculas de adhesión de los leucocitos (selectinas e integrinas); en la primera fase de adhesión primaria el movimiento libre de los neutrófilos es convertido a un estado rodante en el que el neutrófilo se mueve lentamente a lo largo del endotelio. Esto es mediado por la expresión de moléculas de adhesión llamadas Selectina P y Selectina E expresadas en el endotelio y la Selectina L que está expresada en los neutrófilos; estas Selectinas están implicadas en la formación de cadenas móviles entre el endotelio y los neutrófilos, las cuales enlketen el paso de los leucocitos a lo largo de la pared del vaso. Al ponerse en contacto la sangre con el circuito de CEC, se activa la cascada del complemento liberándose C5a que es un potente estimulante de la expresión de la selectina P. La selectina P se almacena en vacuolas citoplásmicas y rápidamente alcanza la membrana plasmática, por exocitosis, después de la activación de la célula endotelial; este puede ser el mecanismo subyacente del secuestro repentino de leucocitos en la circulación pulmonar, que ocurre al iniciarse la CEC. Este proceso de adhesión primario es mantenido más tarde por la selectina E. En un segundo estadio la adhesión secundaria del neutrófilo al endotelio requiere la acción de las integrinas; las integrinas activadas se unen a moléculas expresadas en la superficie endotelial; el neutrófilo se adhiere fuertemente al endotelio y se aplana. En este segundo estadio las integrinas, CD11a/CD18 y CD11b/ CD18 se expresan abundantemente en los neutrófilos; (la integrina CD18 se expresa sólo en los leucocitos).

En un tercer estadio el neutrófilo se adhiere al endotelio y emigra a través de él fuera de la circulación estimulando su activación y degranulación y por consiguiente la liberación de proteasas citotóxicas como la elastasa y mieloperoxidasa así como ROS resultando en daño del endotelio vascular y de los tejidos circundantes, como el pulmón.<sup>130</sup> Este complejo de adhesión y migración de los neutrófilos es modulado por el factor activador de plaquetas, IL-8 y C5a. En ausencia de shock o infección las células endoteliales regresan a su estado de reposo, pierden sus propiedades adhesivas, regresando la C5a a concentraciones normales; esto limita la respuesta inflamatoria en la mayor parte de los pacientes programados para cirugía cardíaca. El sistema celular inmune es fundamental para la respuesta inflamatoria después de la cirugía cardíaca. Se observó un aumento de la activación espontánea de los granulocitos y los macrófagos después de la CEC. La CEC activa los monocitos y macrófagos a través del aumento de la producción del factor quimiotáctico de monocitos, sobrerregulación de la adhesión de los macrófagos, liberación de citoquinas y expresión de las moléculas de adhesión de neutrófilos. Se ha demostrado un aumento de la concentración de moléculas de adhesión de leucocitos, selectinas e integrinas después de la circulación extracorpórea. Durante la CEC los neutrófilos están preparados para la generación de radicales libres.

El aumento del número de neutrófilos circulantes, el aumento de la agregabilidad de los mismos, la producción de superóxidos y liberación de elastasas ocurre a las 12- 24 horas de la cirugía,<sup>131, 132</sup> con la función oxidativa de los neutrófilos afectada a las 48 horas de la cirugía.<sup>133</sup> Esto sugiere una respuesta bifásica con una citotoxicidad tisular temprana seguida de una disfunción de los neutrófilos tardía.

La CEC es un estado inmuno-reactivo donde se activan los neutrófilos y se acumulan en diferentes tejidos. El edema y necrosis de los tejidos son las secuelas más comunes observadas, principalmente en los pulmones, los riñones y el corazón, que anuncia un riesgo potencial de complicaciones postoperatorias.

La importancia clínica de los leucocitos en la respuesta inflamatoria a la CEC es subrayada por hallazgos como el secuestro de leucocitos en el pulmón asociado a lesión pulmonar histológica severa;<sup>134</sup> la inhibición de la actividad de los neutrófilos mejora la función miocárdica siguiendo a la cirugía cardíaca;<sup>135</sup> el bloqueo de la adhesión de los neutrófilos disminuye la lesión pulmonar después de la CEC; finalmente las estrategias

que disminuyen los leucocitos circulantes pueden atenuar la lesión orgánica y pueden mejorar la salida del paciente siguiendo la CEC.

- **Fase tardía.**

A medida que la duración del CEC aumenta, la activación de los componentes humorales y celulares descritos disminuye. Se piensa que es debido a que la superficie del circuito de CEC se hace más biocompatible por la adsorción de proteínas en su superficie interna. Sin embargo la fase tardía de la respuesta inflamatoria se relaciona con la lesión por I/R durante y después de la CEC y con la endotoxemia después de la liberación de endotoxinas desde la flora intestinal.<sup>136</sup>

- 1) LESION POR I/R.

Durante la cirugía cardíaca, el clampaje cruzado de la aorta suprime el aporte completo de sangre al corazón y a la mayor parte de los pulmones (que reciben algo de sangre oxigenada a través de las arterias bronquiales no alteradas); consecuentemente el corazón y menos los pulmones llegan a estar isquémicos y al liberarse el clamp, completamente reperfundidos; esto se asocia con una reacción inflamatoria que causa aumento de la permeabilidad capilar, acúmulo de líquido intersticial, leucocitosis, coagulopatía y disfunción orgánica final. La lesión por I/R está mediada principalmente por interacciones neutrófilo-endotelial: la fase isquémica produce lesión del endotelio que causa activación de los neutrófilos y secuestro en la fase de reperfusión.

Sin embargo hay un componente independiente de los leucocitos que implica la producción de ROS, (especies reactivos de oxígeno muy tóxicas, peróxido de hidrógeno y aniones superóxido), la liberación de metabolitos del ácido araquidónico (protaciclina), liberación de citoquinas proinflamatorias por las células isquémicas (TNF- $\alpha$ , interleuquinas), y la activación del complemento y la coagulación.<sup>137</sup> La reintroducción del oxígeno durante la reperfusión crea una concentración alta de ROS, en células isquémicas previamente; situación agravada por la depleción de los almacenes de energía (ATP) y defensas antioxidantes durante el periodo isquémico. Estudios recientes han demostrado sobre-regulación de diversas moléculas de adhesión y de las respuestas inflamatorias en las células endoteliales sometidas a la proteína C reactiva. El factor-kappa B nuclear juega un papel clave en la expresión de estas entidades proaterogénicas.<sup>138</sup>

Las ROS afectan particularmente a las células endoteliales en la microcirculación, aunque pueden dañar cualquier membrana celular, desnaturalizar proteínas, o entrar en la circulación para actuar como segundos mensajeros estimulando la respuesta inflamatoria aguda.<sup>75</sup>

#### 4) LA ENDOTOXINA.

La endotoxina es un LPS de la pared celular de las bacterias gram negativas que es un estímulo mayor para el desarrollo de SIRS y sepsis.<sup>139</sup> Hay algunas fuentes de liberación de la endotoxina durante el bypass, sin embargo la traslocación intestinal se piensa que sea la principal; los niveles de endotoxina relativamente más bajos observados en la cirugía sin bomba podrían contribuir a una mejor recuperación postoperatoria.<sup>140</sup> La vasoconstricción esplácnica que ocurre durante el CPB causa isquemia de la mucosa intestinal que produce cambios de la permeabilidad intestinal y viabilidad microbiana; los niveles elevados de endotoxina durante el CPB activan el complemento a través de la vía alterna, estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ ), NO y aumentan el consumo de oxígeno postoperatorio.

### **2.1.4. Factores que influyen en la extensión de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca.**

#### **1/ Factores preoperatorios.**

En la actualidad, la cirugía de revascularización coronaria, cirugía valvular aórtica y mitral, y cirugía de la arteria aorta se realiza en pacientes de edad avanzada. El riesgo de estos pacientes sólo es aceptable en ausencia de comorbilidades. En particular, la disfunción renal, enfermedad cerebrovascular, y el pobre estado clínico se asocian con un peor resultado. La cuidadosa selección de pacientes, la cirugía sin defectos, hemostasia meticulosa, la anestesia perfecta, y la protección miocárdica adecuada son requisitos básicos para el éxito de la cirugía cardíaca en pacientes de edad avanzada.<sup>141</sup>

Los pacientes con disfunción ventricular izquierda preoperatoria programados para CEC parecen tener un mayor grado de liberación de citoquinas pro-inflamatorias, lo cual está asociado con alteraciones hemodinámicas y una incidencia más alta de complicaciones perioperatorias.<sup>142</sup>

La diabetes pobremente controlada afecta la respuesta inflamatoria, la CEC parece causar un estrés oxidativo mayor en pacientes con diabetes.<sup>143</sup>



El curso perioperatorio de liberación de citoquinas pro-inflamatorias y antiinflamatorias en un paciente adulto programado para CABG no difiere con la edad.

## **2/ Factores hemodinámicos perioperatorios.**

-La inestabilidad hemodinámica perioperatoria predice morbi-mortalidad siguiendo al CBP, <sup>144,145</sup> siendo el suceso más frecuente un síndrome de bajo gasto que lleva a la muerte del paciente.<sup>146</sup>

-La hipoperfusión esplácnica postoperatoria está unida al desarrollo postoperatorio de complicaciones como el SDRA.<sup>42</sup>

-Experimentalmente la I/R esplácnica induce reclutamiento y secuestro de neutrófilos en el pulmón, aumentando la expresión de la iNOS pulmonar <sup>147</sup> y la lesión por radicales libres.

-La traslocación de toxinas y flora microbiana puede ocurrir después de la isquemia de la mucosa.

-El ph de la mucosa gástrica, medido por tonometría gástrica, proporciona un índice de perfusión esplácnica.<sup>148</sup> La acidosis de la mucosa gástrica indica oxigenación inadecuada del tejido esplácnico y es común siguiendo el destete de la CEC incluso en ausencia de inestabilidad hemodinámica importante; <sup>149,150</sup> es un índice de complicaciones independientemente del riesgo clínico incluso durante la cirugía cardíaca sin complicaciones.<sup>151</sup>

Las estrategias terapéuticas para mantener la estabilidad hemodinámica y disminuir la isquemia esplácnica postoperatoria pueden reducir las complicaciones postoperatorias.

## **3/ Técnicas anestésicas. La anestesia epidural torácica.**

La anestesia epidural torácica combinada con anestesia general para la CABG, disminuye la respuesta al estrés perioperatorio, medida por la adrenalina plasmática y puede disminuir la lesión miocárdica, disminuye la incidencia de arritmias supraventriculares y complicaciones respiratorias postoperatorias; no había diferencia en cuanto a riesgo de muerte, IAM y complicaciones neurológicas con respecto a la anestesia general sólo; <sup>152</sup> atenúa la respuesta inflamatoria después de la cirugía cardíaca

(disminuye la PCR y el fibrinógeno)<sup>9, 153</sup> sin embargo esto no se reflejó en un descenso de la incidencia de complicaciones, o acortamiento del tiempo de extubación.

#### **4/ Manejo pulmonar durante la circulación extracorpórea.**

La apnea durante la CEC puede llevar a la activación de los enzimas lisosomales en la circulación pulmonar, que se correlaciona con el grado de ALI.<sup>154</sup> Esto puede ser atenuado por una maniobra de capacidad vital realizada antes de terminar la derivación.<sup>155</sup> La PEEP no parece ser eficaz.

#### **5/ Agentes anestésicos y medicamentos adyuvantes.**

La mayor parte de los medicamentos usados para la inducción y mantenimiento anestésico así como para la sedación y analgesia postoperatorias tienen efectos inmunomoduladores. Las implicaciones clínicas de tales efectos, en el contexto de la CEC, permanecen desconocidas.

- El propofol puede intensificar la respuesta antiinflamatoria a la cirugía por varios mecanismos: puede preservar el flujo sanguíneo hepato - esplácnico ayudando a mantener la barrera de la mucosa, aumentando la producción de citoquinas antiinflamatorias IL-10 y IL-1ra,<sup>156</sup> mientras disminuye la secreción de IL-8 de los neutrófilos.<sup>157</sup> Bajas concentraciones de propofol reducen la captación de neutrófilos en la circulación coronaria siguiendo la isquemia miocárdica y reperfusión. Pero este efecto se suprimió con concentraciones más altas. Ciertos efectos como la supresión del estallido respiratorio de neutrófilos puede ser causado por el solvente Intralipid. Pero otras acciones como su habilidad para eliminar radicales libres es otra propiedad del propofol. La anestesia IV (propofol - remifentanilo) suprime la respuesta inflamatoria causada por la cirugía en mayor medida que una técnica inhalatoria usando isoflurano.<sup>158</sup>

- Tiopental Sódico, afecta al estallido respiratorio de neutrófilos,<sup>159</sup> inhibe la quimiotaxis, adherencia y fagocitosis de los neutrófilos siguiendo la isquemia - reperfusión miocárdica. El propofol disminuye significativamente sólo la quimiotaxis de PMNs pero no adherencia, fagocitosis y muerte.<sup>160</sup>

- Ketamina. Atenúa el aumento de la IL-6 durante y después de la CEC y reduce la captación coronaria de neutrófilos siguiendo la I/R miocárdica.<sup>161, 162</sup> Atenúa la respuesta inflamatoria inducida por la CEC.<sup>9</sup>
- Opioides. Tienen múltiples efectos sobre el sistema inmune, mediados indirectamente a través del S.N.C o a través de interacciones directas con el sistema inmune. Los opioides comparten muchas propiedades con las citoquinas; se han demostrado los receptores opioides  $\mu$  (mu),  $\delta$  (delta) y  $\kappa$  (Kappa) en las células inflamatorias;<sup>163</sup> los granulocitos contienen receptores  $\delta_2$  los cuales estimulan la quimiotaxis. Se observó una inhibición de la quimiotaxis de granulocitos humanos hacia la caseína en presencia tanto de agonistas de los receptores  $\mu$  y  $\kappa$  de opioides, que per se, exhiben actividad quimiotáctica.<sup>164</sup> El remifentanilo disminuye la respuesta inflamatoria a la cirugía cardiaca.<sup>9</sup>
- Morfina. En comparación con el fentanilo, la administración de morfina como parte de la técnica anestésica balanceada suprime varios componentes de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca y bypass cardiopulmonar (IL-6, CD 11b, CD18, la hipertermia posoperatoria).<sup>165</sup> Inhibe la actividad de los linfocitos, granulocitos y macrófagos; suprime la respuesta de los anticuerpos;<sup>2</sup> aumenta la secreción de sustancias antiinflamatorias como el CRH, ACTH y glucocorticoides. Estimula la liberación de NO<sup>166</sup> e inhibe la adhesión celular, fagocitosis y el estallido respiratorio de los neutrófilos, efectos mediados por el receptor  $\mu_3$ .<sup>166</sup>
- Fentanilo. Aumenta las concentraciones de IL-1ra en cultivos de monocitos.<sup>167</sup>
- Midazolam. Tiene poca influencia sobre los mecanismos de defensa del huésped. Disminuye la secreción de IL-8 (pero no altera la producción) en respuesta al lipopolisacárido.
- Los anestésicos volátiles (Sevoflurano, isoflurano y enflurano) disminuyen las citoquinas proinflamatorias IL-8 y TNF -  $\alpha$ . El isoflurano disminuye la fagocitosis de los macrófagos alveolares. El sevoflurano disminuye el secuestro pulmonar de neutrófilos y leucocitos y preserva el consumo pulmonar de citoquinas en el momento de la reperfusión pulmonar temprana.<sup>2</sup> El sevoflurano disminuye la respuesta sistémica del huésped a la CEC. El óxido nitroso inspirado tiene propiedades antioxidantes que reducen los niveles de células muertas.<sup>9</sup>

•Clonidina; tiene acciones antiinflamatorias en campos como el dolor agudo, asma extrínseco que ejerce a través de la activación de los receptores  $\alpha_2$ .<sup>2</sup>

•Los corticoides atenúan la respuesta inflamatoria a la CEC.<sup>3, 138, 168</sup> Los corticoides, las estatinas y los IECA puede atenuar la respuesta inflamatoria e inmune post - CEC, al hacerlo, ya sea directa o indirectamente, reducen la incidencia de complicaciones postoperatorias.<sup>169</sup> Los corticoides pueden ser beneficiosos en el CPB incluyendo un efecto protector en la integridad de las células miocárdicas, pulmonares y disminuyendo el desplazamiento de líquidos.<sup>3</sup> Otros estudios han demostrado que disminuyen la expresión de las moléculas de adhesión al endotelio, y por consiguiente disminuyen la lesión tisular mediada por neutrófilos; disminuyen la activación del complemento y la liberación de citoquinas. Algunos grupos han descrito disminución de la respuesta inflamatoria inducida por el CPB; la administración de glucocorticoides antes de la CEC puede disminuir la liberación de endotoxina<sup>170</sup> y la activación del complemento.<sup>171</sup> La metilprednisolona disminuye las concentraciones de citoquinas proinflamatorias post - CEC, TNF -  $\alpha$ , IL-8, IL-6, y<sup>172</sup> aumenta las concentraciones de las citoquinas antiinflamatorias IL-10 e IL-1ra,<sup>172</sup> pero no la IL-4.<sup>173</sup> Los corticoides también disminuyen la activación de los leucocitos después de la CEC,<sup>44</sup> las molécula de adhesión de neutrófilos,<sup>174</sup> y el secuestro pulmonar de neutrófilos;<sup>171</sup> algunos autores informaron de la disminución de fiebre en el postoperatorio y disminución de la fuga capilar, pero no acortaron la duración del soporte ventilatorio en UCI ni la estancia hospitalaria. La administración prebypass de metilprednisolona en pacientes tratados con aprotinina mejoró los índices postoperatorios de función pulmonar, cardiovascular, hemostático, y renal.<sup>175</sup> El pretratamiento con glucocorticoides puede mejorar el rendimiento cardíaco y reducir la inflamación bronquial después de la CEC. Bajas dosis de metilprednisolona en la solución de cebado de la bomba parecen atenuar el daño celular miocárdico.<sup>176</sup> Otros autores que los utilizaron durante y después de la cirugía cardíaca demostraron disminución de la IL-6 y la IL-10 pero no demostraron mejora del flujo espiratorio, mejora del gradiente alveolo-arterial de oxígeno, de las puntuaciones de dolor y uso de analgésicos, así como la duración del soporte ventilatorio en UCI,<sup>3</sup> aunque en estudios con animales el tratamiento previo con corticoides mejoró varios índices de función pulmonar, incluyendo la distensibilidad pulmonar, gradiente alveolo-arterial, la resistencia vascular pulmonar y el acúmulo de líquido extracelular.

Algunos autores mostraron una disminución significativa de la incidencia postoperatoria de FA después de la administración de hidrocortisona, pero no comentaron el uso de insulina por la hiperglucemia resultante.<sup>177</sup> Morariu et al<sup>178</sup> encontraron, que la dexametasona usada en pacientes programados para cirugía de injerto coronario con CEC, a pesar de inhibir el SIRS, no protegía contra la disfunción pulmonar postoperatoria e incluso se alargaba la extubación.<sup>178</sup> No se ha establecido un papel definitivo de los corticoides en el tratamiento del SDRA en adultos. Se ha sugerido la posibilidad de disminuir la mortalidad y aumentar los días sin ventilador después del inicio del SDRA. Los corticoides profilácticos, posiblemente, aumenten la incidencia de SDRA en adultos gravemente enfermos.<sup>179</sup> Bajas dosis de corticoides tenían una probabilidad alta de producir dependencia en el paciente de riesgo.<sup>180</sup> El tratamiento con corticoides se ha utilizado en dosis variadas para el tratamiento de la sepsis y síndromes relacionados durante más de 50 años, sin ningún beneficio claro sobre la mortalidad; pero desde 1998, los estudios realizados por Annane et al<sup>181</sup> y Minneci et al,<sup>182</sup> quienes han utilizado sistemáticamente la terapia con corticoides a dosis bajas prolongadas, sugirieron un efecto beneficioso del fármaco sobre la mortalidad a corto plazo.<sup>181, 182</sup> En otro estudio Chaney<sup>183</sup> publicó que los corticoides no ofrecían beneficios clínicos para los pacientes sometidos a cirugía cardíaca con CEC y de hecho podían ser perjudiciales.<sup>183</sup> Sprung et al,<sup>184</sup> informaron en sepsis grave o shock séptico, que dosis bajas de corticoides no mejoran la supervivencia en los pacientes con shock séptico severo tardío, pero pueden ser útiles al inicio del curso y en ciertos subgrupos de pacientes. Las probabilidades de desarrollar efectos secundarios inducidos por los corticoides (sobreinfecciones, sangrado e hiperglucemia) fueron altas en todos los análisis.<sup>184</sup>

Metaanálisis recientes demostraron pruebas débiles de que la terapia corticoidea redujera la duración de la ventilación mecánica y duración de la estancia hospitalaria, en cirugía cardíaca pediátrica. Dos ensayos observacionales multicéntricos recientes no detectaron ningún resultado beneficioso debido a los corticoides en cirugía cardíaca pediátrica. De hecho, estos dos grandes ensayos sugirieron que la terapia corticoidea podría aumentar la morbilidad perioperatoria en niños.<sup>11</sup> Fue revisada la literatura existente con respecto al uso profiláctico de corticoides en pacientes pediátricos programados para CPB y se concluyó que la evidencia existente no apoya el uso profiláctico en este grupo de pacientes<sup>185</sup> ya que la profilaxis con corticoides en el

perioperatorio puede aumentar la morbilidad.<sup>11</sup> Tres grandes metanálisis recientes han demostrado que los corticoides perioperatorios disminuyen significativamente la FA y duración de la estancia hospitalaria. Aunque los corticoides no tuvieron efecto sobre la mortalidad y la infección, se asociaron con hiperglucemia perioperatoria.<sup>11</sup> En otro estudio el tratamiento con corticoides (metilprednisolona) redujo el efecto proinflamatorio de la CEC e indujo un efecto antiinflamatorio a nivel celular y humoral en los pacientes pediátricos.<sup>9</sup> Sobienski et al<sup>4</sup> estudiaron si una sola dosis de corticoides (dexametasona) después de la inducción de la anestesia podría cortar el SIRS producido por la CEC, viendo como disminuían los niveles de IL-6 necesitando más estudios posteriores.<sup>4</sup> La cirugía cardíaca con CEC desencadena una respuesta inflamatoria sistémica vigorosa caracterizada por fases temprana y tardía que involucran las vías tanto humoral y celular. Los corticoides amortiguan la respuesta inmune a la CEC de una manera multimodal. La profilaxis con corticoides perioperatorios ofrece la posibilidad de manipular la respuesta inflamatoria a la CEC para beneficiar la salida de la cirugía. En la cirugía cardíaca para adultos con CEC, los corticoides han sido rigurosamente evaluados en numerosos ensayos clínicos aleatorios y metaanálisis. El tratamiento con corticoides en este aspecto puede reducir significativamente la morbilidad perioperatoria. Aunque los beneficios de los corticoides en cirugía cardíaca para adultos con CEC son evidentes, grandes ensayos aleatorios multicéntricos están en curso para determinar si estos agentes deben convertirse en un componente de rutina de un enfoque anti-inflamatorio para optimizar los resultados clínicos. La aplicación actual de los corticoides en adultos en bypass cardiopulmonar es muy variable, con el mayor uso posible en entornos de alto riesgo, tales como la parada circulatoria hipotérmica profunda. Los resultados de 2 ensayos multicéntricos aleatorizados en CEC de adultos probablemente determinarán si los corticoides deban convertirse en el tratamiento habitual en estos casos. Es probable que se pongan en marcha ensayos multicéntricos similares en cirugía cardíaca pediátrica en un futuro.

En cirugía cardíaca pediátrica con CEC, los corticoides son ampliamente utilizados a pesar de una base de evidencia limitada en comparación con adultos. Recientes estudios observacionales multicéntricos han allanado el camino para ensayos aleatorios más grandes definitivos dirigidos a la CEC pediátrica de alto riesgo, incluyendo el período neonatal.<sup>186</sup>

- Insulina. El tratamiento con insulina en el perioperatorio de cirugía cardíaca suprime la respuesta inflamatoria sistémica, reflejado por un descenso de la IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ , sin evidencia de hipoglucemia en esos pacientes.<sup>9</sup>
- Fenoldopam. El fenoldopam, un nuevo agonista dopaminérgico 1, disminuye la respuesta inflamatoria sistémica del huésped.<sup>9</sup>
- El tratamiento con estatinas perioperatorias está asociado con unos parámetros bioquímicos de respuesta sistémica del huésped y parámetros de daño miocárdico más bajos después de la cirugía cardíaca.<sup>187</sup> La administración de ulinastatina<sup>188</sup> o atorvastatina<sup>189</sup> antes de la CEC puede disminuir la respuesta inflamatoria del huésped durante el bypass de arteria coronaria y pudieran ser efectivas en prevenir complicaciones.<sup>188</sup>
- La amiodarona, para el tratamiento de la fibrilación auricular, no parece alterar la respuesta inflamatoria sistémica durante la CEC.<sup>9</sup>
- La pentoxifilina (PTX), derivado metilxantínico, inhibidor de fosfodiesterasas, posee propiedades antiinflamatorias y se usa para disminuir la respuesta inflamatoria siguiendo al estímulo séptico; también para cortar la disfunción orgánica que sigue a la lesión por I/R. Puede cortar la respuesta inflamatoria sistémica inducida por la CEC; el pretratamiento con pentoxifilina oral antes de la cirugía cardíaca inhibe la liberación de citoquinas proinflamatorias causadas por la CEC y tiene algún efecto protector del miocardio durante la cardioplejia sin afectar la hemodinámica del postoperatorio.<sup>9</sup>
- Manitol. La supresión de la respuesta inmune después de la CEC puede ser mitigada con manitol o hemofiltración.<sup>9</sup>
- Ácido tranexámico. Las dosis adicionales postoperatorias de ácido tranexámico inhiben de forma prolongada la fibrinólisis,<sup>138</sup> disminuyen la hemorragia y reducen la respuesta sistémica del huésped.<sup>9</sup>
- El nitroprusiato de sodio, un donante de NO, se ha investigado como un agente antiinflamatorio potencial. El mecanismo subyacente de acción no está claro, pero parece reducir la activación del complemento y disminuir los niveles de ciertas citoquinas inflamatorias.<sup>3</sup>

•Otros fármacos, como inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), han demostrado potencial antiinflamatorio. La co-prescripción de IECA y AINEs en el paciente mayor debe estar bien justificada y su administración cuidadosamente monitorizada con parámetros de función renal, para evitar la aparición de insuficiencia renal.<sup>190</sup>

## **6/ Factores quirúrgicos.**

La concentración de las citoquinas pro-inflamatorias son mayores en los pacientes programados para trasplante cardíaco, ya que padecen disfunción ventricular izquierda, que en los pacientes programados para bypass de arteria coronaria. Los pacientes sometidos a cirugía valvular parecen tener perfiles de respuesta inmunológica similar al de los pacientes sometidos a cirugía de arteria coronaria. En general los índices de inflamación parecen correlacionarse con la severidad de la enfermedad más que con el proceder quirúrgico específico.<sup>2</sup>

## **7 / Factores de la perfusión extracorpórea.**

Son factores que influyen la respuesta inflamatoria, la composición de la solución de cebado, la cardioplejia, la presencia de una solución pulsátil o no, tipo de oxigenador y bomba, tipo de circuito de CEC y temperatura. En condiciones fisiológicas el flujo de sangre es pulsátil, pero durante la CEC cambia y puede empeorar la respuesta inflamatoria; las bombas centrífugas disminuyen la agregación plaquetaria, y por consiguiente la susceptibilidad a fenómenos trombóticos postoperatorios, disminuyen la incidencia de complicaciones neurológicas<sup>191</sup> y renales, disminuyen el drenaje de los tubos torácicos y la necesidad de transfusión.<sup>8</sup>

-En un circuito aislado la duración de la CEC se correlaciona con la concentración de la IL-8 y la molécula de expresión de adhesión de neutrófilos. El uso rutinario de un bypass hipotérmico puede no ser requerido en la población pediátrica. Sin embargo niveles circulantes altos de lactato en la reperfusión del adulto, indican que la protección orgánica es menos efectiva a 30° que a 20° después de 60 minutos de parada circulatoria hipotérmica.<sup>9</sup>

-No está claro cuál es la temperatura óptima a la cual llevar a cabo la CEC;<sup>3</sup> la liberación de mediadores inflamatorios parece ser dependiente de la temperatura; algunos grupos se refieren a una temperatura de 33°C a 34°C pero otros a una



normotermia fisiológica de 36°C a 37°C que requiere mantenimiento activo por medio de un intercambiador de calor. Las reducciones significativas en los niveles de mediadores inflamatorios (por ejemplo, p - selectina, IL-1, IL-8, y elastasa) se han demostrado al comparar los pacientes con hipotermia (28°-30°C) con los pacientes a 34°C. Sin embargo, a pesar de que la hipotermia parece retrasar esta reacción, no la impide por completo, y otros grupos que buscan marcadores moleculares similares no han encontrado ninguna diferencia entre las 3 temperaturas diferentes. Los datos de los resultados clínicos no son más convincentes. Algunos estudios sugieren que la hipotermia moderada (32 °C) puede reducir el daño neuropsicológico. La CEC caliente está asociada con un aumento de la respuesta inflamatoria en comparación con la CEC hipotérmica.<sup>2</sup> Sin embargo hay datos que sugieren que la CEC hipotérmica puede retrasar la liberación de citoquinas y la activación de neutrófilos, y que la temperatura de la CEC de 32-34° C puede atenuar más eficazmente la respuesta inflamatoria. Aunque existe un importante nivel de conocimientos que sugieren que la hipertermia debe evitarse en pacientes en CEC,<sup>192</sup> en la actualidad no existe evidencia suficiente para identificar claramente la temperatura óptima a la que la CEC debe llevarse a cabo. La cardioplejia con sangre caliente reduce la respuesta inflamatoria en comparación a la cardioplejia con cristaloides fría.

-El recubrimiento de las superficies artificiales del circuito de CEC con heparina se sugirió inicialmente a finales de 1960, debido principalmente a su conocida propiedad antitrombótica. Desde entonces, sin embargo, se ha demostrado que tiene muchas otras propiedades de biocompatibilidad, incluyendo la inhibición de contacto, complemento y la activación de neutrófilos, reducción de la liberación de citoquinas proinflamatorias,<sup>193</sup> y la mejora de la función plaquetaria. Además, se adsorben lipoproteínas para crear una superficie que pueden simular las membranas celulares. Los circuitos recubiertos de heparina han demostrado reducir la necesidad de transfusión, lesiones pulmonares, disfunción neurocognitiva,<sup>194</sup> y marcadores de daño miocárdico oculto en pacientes sometidos a CEC. Mangoush et al, en 2007, realizaron un meta-análisis de 41 ensayos aleatorios, que incluyeron 3.434 pacientes y encontraron reducciones significativas en la duración de la ventilación mecánica, de la incidencia de transfusión postoperatoria, tasas de reesternotomía, UCI y estancia en el hospital. El circuito de CEC recubierto de heparina y fosforilcolina induce menos respuesta inflamatoria y estrés oxidativo que otros circuitos;<sup>195</sup>

- Los oxigenadores de membrana pueden producir una menor activación del sistema inflamatorio y mejorar la función cardíaca, renal y pulmonar en el postoperatorio; sin embargo un estudio posterior no demostró ninguna ventaja sobre el oxigenador de burbuja en términos de activación inflamatoria o de función respiratoria postoperatoria.

En pacientes pediátricos el uso de bombas centrífugas produce menor activación de la respuesta inflamatoria, mientras que en pacientes adultos las bombas centrífugas inducen una respuesta inflamatoria mayor que las bombas rodillo.

El flujo pulsátil está asociado con menor endotoxemia, concentraciones más bajas de citoquinas y endotelina 1, y aumento de la producción de NO.<sup>2</sup> Aunque un estudio reciente confirmó que la cirugía de arteria coronaria sin bomba tiene menos efectos negativos sobre la respuesta inflamatoria y sobre el sistema nervioso central que las técnicas de CEC con flujo pulsátil y no pulsátil.<sup>196</sup>

Recientemente se ha desarrollado un nuevo sistema de circulación extracorpórea, la mini circulación extracorpórea (MECC), que ha mostrado resultados prometedores para disminuir la respuesta inflamatoria. No tiene reservorio venoso, el volumen de cebado está reducido y la superficie de contacto entre la sangre y el material sintético del circuito de CEC es menor. La MEEC reduce las citoquinas en el postoperatorio y otros marcadores de la inflamación; reduce el daño orgánico, las complicaciones postoperatorias y la necesidad de transfusión. Con el uso de los recientes circuitos biocompatibles recubiertos de polímeros, la respuesta inflamatoria estimada por el bypass de arteria coronaria con bomba es similar en magnitud al bypass de arteria coronaria sin bomba. Los circuitos de CEC lineares promueven la activación del endotelio y secreción de citoquinas, que pueden retrasar la recuperación. La cirugía de arteria coronaria sin bomba se asocia con una ligera activación del endotelio y secreción de citoquinas. El CPB pulsátil disminuye la fuga de citoquinas del endotelio consiguiendo resultados comparables a esos obtenidos después de la cirugía de arteria coronaria sin bomba.<sup>9</sup> En los últimos años, la cirugía de revascularización coronaria sin CEC (OPCABG) ha ganado la atención general como técnica alternativa a la cirugía de revascularización coronaria convencional con bomba miocárdica (CRM con CEC);<sup>8, 13, 197</sup> aunque sin CEC no se pueden realizar todas las intervenciones cardíacas, los estudios controlados si han demostrado que la OPCABG disminuye la necesidad de transfusión, la lesión miocárdica, complicaciones neurológicas así como estancia

hospitalaria.<sup>8</sup> Varias estrategias que incluyen el uso de corticoides, insulina, el uso de aprotinina, antioxidantes, estatinas,<sup>187</sup> inhibidores del complemento, inhibidores de la fosfodiesterasa, los circuitos de CEC recubiertos de heparina, filtros de leucocitos, hipotermia, evitar transfusiones, la ultrafiltración modificada así como la OPCABG se han informado para reducir la reacción inflamatoria inducida por la CEC y sus consecuencias.<sup>8, 9, 138, 187, 197, 198</sup> En un estudio en animales la ultrafiltración de la sangre de cebado antes de la CEC disminuyó la activación de la coagulación y la respuesta inflamatoria y mantuvo la función cardiovascular en cerdos.<sup>199</sup> En estudios en niños la ultrafiltración se ha visto que puede extraer de forma efectiva algunos de los mediadores inflamatorios liberados durante la CEC, incluyendo el complemento, FNT- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, y mieloperoxidasas. También se ha informado de beneficios clínicos como aumento del hematocrito (Hct) y mejora del funcionamiento cardiovascular. La ultrafiltración modificada en la población pediátrica ha sido ampliamente aceptada; en los adultos, es menos usada, en quienes no parece mejorar el Hct post-CEC.<sup>8</sup> Una forma más radical y eficaz de contrarrestar los efectos de la reacción inflamatoria puede ser la omisión de la propia CEC. El desarrollo y la aplicación de la OPCABG ha sido impulsada para evitar la reacción inflamatoria sistémica y así disminuir la incidencia y/o severidad de los efectos adversos. Cirujanos que apoyan la cirugía sin bomba, afirman que evitar la CEC conduce a reducir significativamente el daño miocárdico por I/R, la respuesta inflamatoria sistémica postoperatoria y otras alteraciones biológicas, una característica que puede mejorar los resultados clínicos. Sin embargo, la perfección en la atención perioperatoria, la técnica quirúrgica y los métodos de atenuación de los efectos adversos de la CEC se ha traducido en un mejor resultado clínico de la CRM con CEC.<sup>13</sup>

## **8/ Estrés.**

Durante la circulación normal, la sangre dentro de la vasculatura está expuesta a varios estímulos físicos y fuerzas mecánicas. Esto se llama “tensión de cizallamiento” y puede tener la función de liberación del NO por parte del endotelio. Una tensión por cizallamiento excesiva puede desarrollarse durante la CEC como resultado de grandes cambios de presión en el circuito, causando daños a los componentes sanguíneos y activando la respuesta inflamatoria. La tensión de cizallamiento parece ser especialmente importante a lo largo de la cánula arterial. La tensión de cizallamiento disminuye la deformabilidad de los eritrocitos y aumenta la hemólisis; aumenta la

adhesividad de los leucocitos, la rotura mecánica y degranulación de los neutrófilos y liberación de productos citotóxicos. El exceso de tensión de cizallamiento también aumenta la activación de las plaquetas y puede contribuir a la lesión del endotelio.

Las estrategias para disminuir la tensión de cizallamiento tales como el uso de oxigenadores de membrana de fibra hueca, pueden reducir la activación de los leucocitos.

## **9 / Transfusión.**

•Transfusión homóloga. La transfusión homóloga de productos sanguíneos es uno de los factores que contribuyen a la respuesta inflamatoria observada durante y después de la CEC y se asocia con peores resultados. En el trabajo de Engoren et al<sup>200</sup> la transfusión de sangre homóloga aumentaba la mortalidad. La transfusión homóloga de concentrados de hematíes en el intraoperatorio aumenta la concentración de mediadores inflamatorios y estimula la respuesta inflamatoria. La transfusión de sangre provoca inmunosupresión, aunque por que método y en qué medida ocurre sigue siendo controvertido. Hay publicaciones que informan que los hematíes de sangre almacenada liberan ARG que metaboliza L - Arg y altera la función del linfocito T. Las manifestaciones incluyen un mayor riesgo de complicaciones infecciosas postoperatorias y de lesión pulmonar aguda<sup>201</sup> relacionada con la transfusión (TRALI, como síndrome de distress respiratorio agudo).<sup>201</sup> La enfermedad de injerto contra el huésped asociado a la transfusión es una complicación de la sangre entera homóloga fresca no irradiada. Los hematíes se transfunden para aumentar el aporte de oxígeno; sin embargo los investigadores postularon que los hematíes transfundidos poco deformables provocan la oclusión de la microcirculación y la isquemia tisular en algunos órganos. Las intervenciones que aumentan la posibilidad de evitar la transfusión de sangre homóloga de un paciente son, por tanto, parte de la solución a la respuesta inflamatoria a la CEC. Las guías de práctica clínica resultantes ponen de relieve tanto las intervenciones preoperatorias y perioperatorias para reducir la transfusión de sangre.<sup>202</sup> Antes de la cirugía, estas intervenciones incluyen la identificación del paciente de alto riesgo, la limitación de los fármacos antitrombóticos y el uso de medicamentos que aumenten el volumen de sangre en el preoperatorio (por ejemplo, la eritropoyetina), luego, en el postoperatorio fármacos que disminuyan la hemorragia postoperatoria (por ejemplo, los antifibrinolíticos), donación autóloga previa y hemodilución

normovolémica, el uso selectivo de la cirugía de injerto coronario sin bomba, el uso habitual de un dispositivo recuperador de sangre intraoperatorio, y la implementación de algoritmos para guiar la terapia transfusional.<sup>202</sup>

•La autotransfusión de sangre derramada en las cavidades torácicas durante y después de la CEC es una práctica clínica común usada para reducir la necesidad de transfundir sangre alogénica. En un ensayo controlado aleatorio, la autotransfusión de sangre succionada desde la cavidad torácica durante el proceder quirúrgico aumenta el complejo trombina-antitrombina III circulante, el t-PA, los PDF y la hemoglobina libre en plasma. Por lo tanto la autotransfusión puede deteriorar la hemostasia y aumentar el sangrado postoperatorio.<sup>3</sup>

La sangre recuperada del mediastino contiene una alta proporción de leucocitos activados con un riesgo alto de producción de TNF- $\alpha$  e IL-6. La autotransfusión estimula la respuesta inflamatoria.

## **10/ Factores postoperatorios.**

### **•ULTRAFILTRACION.**

La CEC causa hemodilución significativa. Esto provoca un aumento del agua corporal total, exacerba los cambios de líquidos y promueve la afectación pulmonar, neurológica, renal y alteración hemostática después de la CEC.<sup>203-205</sup> Después de la CEC la hemodilución se puede reducir usando ultrafiltración (UF), para eliminar el exceso de agua libre y sustancias de bajo peso molecular del plasma.<sup>206</sup> Estos dispositivos se pueden integrar en paralelo a los circuitos existentes y se ejecutan ya sea durante la CEC (UF convencional) o una vez que se ha completado la CEC (UF modificada; MUF). La hemodilución asociada a la CEC es más marcada en la población pediátrica. Varios estudios han sugerido que la UF pediátrica puede eliminar eficazmente algunos de los mediadores inflamatorios liberados durante la CEC, incluyendo el complemento, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-8 y mieloperoxidasa.<sup>3</sup> Sin embargo, estos hallazgos no siempre se han demostrado.<sup>3</sup> Se han informado beneficios clínicos incluyendo el aumento del Hct,<sup>206</sup> mejora del rendimiento cardiovascular,<sup>207</sup> y reducción del drenaje torácico postoperatorio.<sup>208</sup> Los beneficios de la UF, especialmente la MUF, dentro de la población pediátrica parecen haber sido aceptados<sup>209</sup> en la medida en que en 2005 se adoptó como práctica habitual en el 75% de los centros pediátricos en América del

Norte. La UF se usa con menos frecuencia en la CEC de los pacientes adultos, y cualquier beneficio potencial sigue siendo controvertido. La UF parece mejorar el Hct después de la CEC,<sup>206, 210</sup> y en algunos casos disminuye la necesidad de transfusión postoperatoria.<sup>210, 211</sup> Luciani et al<sup>211</sup> han realizado el ensayo controlado aleatorizado más grande de adultos y mostraron una reducción significativa de la morbilidad hospitalaria y una caída estadísticamente no significativa de la mortalidad con MUF. Se ha demostrado en los adultos una reducción de las citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión por MUF durante o después de la CEC.<sup>212</sup> Pero no siempre se ha asociado con ventajas clínicas en cuanto a complicaciones postoperatorias o estancia hospitalaria. Por último, un meta-análisis reciente de ensayos aleatorios investigaron el efecto de la UF en la coagulopatía perioperatoria en cirugía cardíaca de adultos y encontraron que la UF reduce la hemorragia postoperatoria y disminuye la necesidad de transfusión postoperatoria.<sup>213</sup> La UF no está exenta de riesgos como aumento de las concentraciones de heparina en plasma, el arrastre de aire a través de la cánula aórtica, un aumento en la duración de la exposición de la sangre del paciente a las superficies no endoteliales, la inestabilidad hemodinámica.<sup>208, 214, 215</sup> El uso de MUF después de la CEC invierte la hemodilución y disminuye el edema tisular que resulta en la mejoría de la función pulmonar con una disminución de la duración de la ventilación mecánica postoperatoria, mejorando la función ventricular izquierda, disminuyendo la hemorragia postoperatoria, y disminuyendo la incidencia y duración del derrame pleural siguiendo al procedimiento de cirugía cardíaca congénita en niños.<sup>216, 217</sup> Un estudio clínico demostró que la filtración arterial más la filtración de leucocitos del líquido de cardioplejia disminuía la liberación de citoquinas proinflamatorias después de la CEC, por tanto mejoraba los índices de función pulmonar y las salidas respiratorias.<sup>9</sup>

- Las estrategias ventilatorias que implican la distensión de unidades pulmonares no reclutadas (volumen tidal altoVt, baja PEEP), parecen causar o potenciar ALI, por la traslocación de bacterias intrapulmonares a través de la barrera alveolo-capilar, acúmulo de citoquinas intrapulmonares y su liberación a la circulación sistémica.

Sin embargo en pacientes con SDRA, las estrategias ventilatorias que disminuyan la sobredistensión y reclutamiento-desreclutamiento del pulmón atenúan la respuesta inflamatoria, ya que disminuyen la liberación de citoquinas proinflamatorias originadas por la distorsión mecánica.

## 2.2. Implicaciones clínicas de la respuesta inflamatoria en la cirugía cardíaca.

### 2.2.1. Efectos beneficiosos potenciales.

RESPUESTA INFLAMATORIA	
<b>EFFECTOS BENEFICIOSOS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación del sistema inmune.</li> <li>• Prevención de infecciones.</li> <li>• Mejora la cicatrización de las heridas.</li> </ul>	<b>EFFECTOS PERJUDICIALES</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pulmonar.</li> <li>• Cardiovascular.</li> <li>• Neurológico.</li> <li>• Renal.</li> <li>• Hepático.</li> <li>• Coagulación.</li> <li>• Inmunológico.</li> </ul>

Figura 7. Efectos beneficiosos y perjudiciales de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca.

Una respuesta inflamatoria autolimitada, tiene un efecto beneficioso importante como activar al sistema inmune, (figura nº7) que puede ayudar a prevenir la infección peroperatoria y promover la cicatrización de las heridas; el cebado de neutrófilos de la CEC puede ser beneficioso en preparar al huésped para iniciar la respuesta al estrés del periodo perioperatorio, (el pre tratamiento a nivel experimental con endotoxinas inhaladas induce un reclutamiento de leucocitos a nivel pulmonar que protege contra la infección pulmonar subsecuente). El TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$  son necesarios para la cicatrización de las heridas. El pretratamiento con IL-1 $\beta$  puede reducir la severidad de la lesión por isquemia - reperfusión.

### 2.2.2. Efectos perjudiciales.

La respuesta inflamatoria no controlada juega un papel significativo en la morbimortalidad observada en los pacientes sometidos a CEC; contribuye en la

patogénesis de la disfunción pulmonar aguda, cardiovascular, neurológica, esplácnica, hematológica y del sistema inmune siguiendo a la cirugía cardíaca. No hay evidencia que sugiera que la respuesta inflamatoria contribuye a la aparición de fiebre postoperatoria, pericarditis post-cardiotomía y derrame pleural después de la CEC.

**•Pulmonar.**

La ALI definida por la tríada de hipoxemia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  mayor o igual de 300), infiltrados pulmonares bilaterales y presión capilar pulmonar normal es una complicación siguiendo a la cirugía cardíaca. El riesgo y severidad de ALI ha sido constantemente unido a la duración de la CEC, así como al tipo de oxigenador usado. El ALI severo, aunque poco frecuente (1-3%), ha sido asociado con un 50% de mortalidad. Grados menores de lesión pulmonar como el índice de oxigenación reducido, alteración de la relación ventilación/perfusión, descenso de la distensibilidad pulmonar se han visto en un 12% de pacientes. La disfunción pulmonar temprana después de cirugía cardíaca aumenta la morbilidad, aumenta la posibilidad de disfunción renal, neurológica y riesgo de infección; aumenta la duración de la ventilación mecánica, la estancia en UCI, estancia hospitalaria y riesgo de muerte.

La respuesta inflamatoria tiene efectos perjudiciales en la circulación pulmonar y en el parénquima pulmonar. Varias líneas de evidencia implican a la respuesta inflamatoria en la disfunción pulmonar postoperatoria. Evidencias histológicas demuestran que la CEC puede causar daño al endotelio, epitelio e intersticio pulmonar. Hasta el 50% de los neutrófilos circulantes son secuestrados en los capilares pulmonares durante el recalentamiento, con la consiguiente degranulación que contribuye al daño del endotelio vascular pulmonar. Las elevaciones postoperatorias de la elastasa de los granulocitos, un índice de degranulación de los lisosomas de los neutrófilos, se correlaciona con la alteración de la oxigenación, gradiente alveolo-arterial y con el shunt intrapulmonar. El aumento de la permeabilidad vascular pulmonar siguiendo a la CEC se correlaciona con marcadores de peroxidación lipídica y una reducción de los antioxidantes plasmáticos, ambos indicadores de una lesión inducida por radicales de oxígeno. Las estrategias que disminuyen la respuesta inflamatoria pueden reducir el ALI post-CEC. Mientras la concentración de mediadores pro-inflamatorios séricos y alveolares se correlaciona con disfunción pulmonar post-CEC, la eliminación mecánica de los mediadores puede disminuir la lesión pulmonar. La depleción de leucocitos durante la CEC o el bloqueo



de la adhesión de los neutrófilos disminuyen la disfunción pulmonar postoperatoria. La inhibición de la activación del complemento resulta en una inhibición significativa de la lesión pulmonar aguda post-CEC.

#### •Cardiovascular.

Las complicaciones cardiovasculares mayores perioperatorias (IAM, fallo cardíaco, muerte), ocurren en al menos un 10% de pacientes <sup>2</sup> tras CABG; la respuesta inflamatoria puede estar implicada en la patogénesis de la disfunción cardiovascular post-CEC. El aumento de la inestabilidad hemodinámica durante la cirugía cardíaca puede ser debido al aumento de las citoquinas pro-inflamatorias como la IL-6. Por tanto parece haber una relación clara entre los mediadores inflamatorios inducidos por la CEC y la isquemia, disfunción miocárdica post CEC y desensibilización  $\beta$  adrenérgica. El TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y la IL-6 han sido implicados en la refractariedad de los miocitos miocárdicos a la estimulación adrenérgica siguiendo la CEC; el funcionamiento miocárdico en los pacientes mayores después de la CEC es suprimido por el TNF- $\alpha$ , mientras que los anticuerpos anti-TNF- $\alpha$  revierten la depresión miocárdica vista en la sepsis. Las anomalías de la motilidad de la pared del ventrículo izquierdo y los episodios de isquemia miocárdica después de la CEC se correlacionan con las concentraciones de IL-6 e IL-8. Las alteraciones en la regulación del NO pueden jugar un papel importante en la patogénesis de sucesos cardiovasculares después de la cirugía cardíaca. El miocardio humano produce NO vía eNOS y está regulado por el estado contráctil del corazón, posiblemente por una vía  $\beta$ -adrenérgica. Este NO producido vía eNOS tiene importantes efectos cardioprotectores incluyendo la regulación del tono vascular, contractilidad miocárdica, coagulación y función del endotelio pulmonar; sin embargo la regulación de iNOS por las citoquinas pro-inflamatorias siguiendo a la CEC puede aumentar la producción de NO y aumentar el tamaño del infarto; en este contexto el NO puede contribuir a la disfunción miocárdica postoperatoria. La IL-1 $\beta$  regula al alza la producción de NO mediado por iNOS y se ha demostrado depresión de la contractilidad cardíaca a través del mecanismo dependiente del NO.

#### •Neurológico.

Las complicaciones neurológicas siguiendo a la cirugía cardíaca producen un aumento de la hospitalización y pueden aumentar la mortalidad <sup>2</sup> hasta 10 veces. Los déficits

cerebrales focales, como el ataque isquémico transitorio (AIT) y ACV ocurren en 1-3%, mientras que anomalías clínicas menos severas como las convulsiones se ven en un 5-10%. La disfunción neurológica postoperatoria, incluyendo la disfunción cognitiva y la incapacidad no relacionadas con la lesión focal, se ven en el 69% en el postoperatorio inmediato y persisten al menos 1 mes en un 36% de pacientes. Los pacientes con el alelo  $\epsilon$ -4 de la Apolipoproteína E o con lesión neurológica previa están predispuestos a complicaciones neurológicas después de la CEC. La respuesta inflamatoria juega un papel central en la patogénesis de la lesión neurológica post-CEC. En la lesión neurológica después de la CEC, está bien documentado el papel de la disfunción del endotelio y la interacción del endotelio con los neutrófilos. La pérdida de la vasodilatación cerebrovascular del endotelio puede contribuir en la patogénesis de los déficits de perfusión postoperatorios. El NO formado, a partir del nNOS (óxido nítrico sintetasa neuronal), en respuesta al glutamato ha sido implicado como potente neurotoxina en modelos animales de lesión neurológica post-CEC. La aprotinina un inhibidor de proteasas séricas con efecto hemostático y antiinflamatorio, disminuye la incidencia de ACV después de la CEC.

Los circuitos recubiertos de heparina disminuyen la activación por contacto de la respuesta inflamatoria, disminuyendo la incidencia de disfunción neurológica postoperatoria en los seres humanos. Las estrategias que disminuyen la respuesta inflamatoria pueden disminuir la lesión neurológica.

• **Renal.**

La disfunción renal perioperatoria ocurre en un 7-13% de los pacientes con un 1%-1,5% de pacientes que requieren alguna forma de terapia dialítica. La insuficiencia renal (IR) siguiendo a la cirugía cardíaca aumenta la estancia en UCI, aumenta la estancia hospitalaria y la mortalidad (27% vs 0,9%). La tasa de mortalidad para los pacientes que requieren rangos de diálisis postoperatoria, oscila del 28% al 64%. La incidencia de disfunción renal está relacionada directamente con la duración de la CEC. El papel de la respuesta inflamatoria en la patogénesis de la lesión renal sigue siendo definido. El daño renal por I/R, combinado con la respuesta inflamatoria a la CEC, puede ser una causa importante de disfunción renal después de la cirugía cardíaca. La hipoperfusión de la corteza renal se ha demostrado durante la fase de recalentamiento de la CEC en un modelo animal. La respuesta inflamatoria puede exacerbar la hipoperfusión renal, tanto

indirectamente como resultado de la inestabilidad hemodinámica, como directamente por la vasoconstricción arteriolar renal y alteración de la distribución intrarrenal de la perfusión, debido a alteraciones de las catecolaminas y concentración del NO. El TNF- $\alpha$ , liberado durante la CEC, induce depósitos de fibrina glomerular, infiltración celular y vasoconstricción llevando a la disminución del filtrado glomerular. Estrategias anti-TNF- $\alpha$  han sido propuestas para disminuir la IR post-CEC.

#### •Hepático.

La disfunción hepática postoperatoria está relacionada con la duración del CPB y puede aumentar la mortalidad. El mecanismo de la lesión hepática después de la CEC y el papel de la respuesta inflamatoria no están bien caracterizados.

La lesión hepática por I/R puede ser la consecuencia de la congestión venosa hepática durante el destete de la CEC; altas concentraciones de C3a y C4a han sido asociadas con la disfunción hepática post-CEC en seres humanos. Durante el bypass hipotérmico, las concentraciones portales de endotelina-1, un potente vasoconstrictor, se han asociado con una disminución del flujo sanguíneo hepático y disfunción hepática post-CEC en un modelo animal. En los pacientes después de la CEC la perfusión hepática puede disminuir durante un máximo de 24 horas. Existe evidencia creciente para pensar que el TNF- $\alpha$  y la IL-6 pueden contribuir en la patogénesis de la disfunción hepatocelular post-CEC.

#### •Coagulación.

Defectos hemostáticos inducidos por la CEC pueden contribuir a la morbilidad perioperatoria. Los mecanismos que pueden alterar la coagulación incluyen la activación de la coagulación y la fibrinólisis por contacto directo con el circuito de derivación, la disfunción plaquetaria y la fuga capilar debido a la lesión del endotelio. La respuesta inflamatoria puede ser fundamental para el desarrollo de esos defectos hemostáticos. La cantidad de pérdida sanguínea postoperatoria se ha correlacionado con el grado de activación de la cascada del complemento. La eliminación mecánica de citoquinas, como por hemofiltración se ha asociado con una disminución de la pérdida de sangre postoperatoria siguiendo a la cirugía cardíaca.

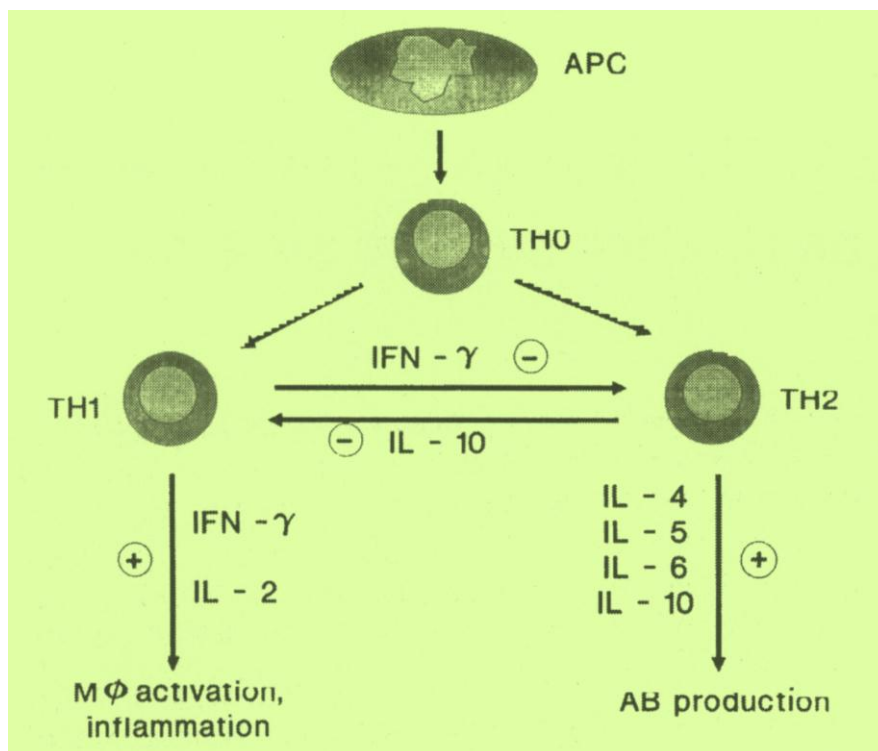
La afectación de la función plaquetaria asociada al CPB puede ser mediada por citoquinas. La endotoxina y la IL-1 $\beta$  estimulan la liberación del FvW desde el endotelio

vascular, el cual puede promover la activación y localización de plaquetas y mejorar la trombogenicidad en focos inflamatorios. La cosecha preoperatoria de plasma rico en plaquetas con su reinfusión después de la CEC puede mejorar la función hemostática, causar una menor disfunción pulmonar y una menor estancia en UCI. La CEC con circuitos más biocompatibles pueden disminuir la activación de las plaquetas, la fibrinólisis y la generación de trombina y mejorar la preservación de plaquetas.

#### •Inmunosupresión.

La inmunidad mediada por células se altera después de la cirugía cardíaca con CEC.<sup>218-223</sup> La inmunosupresión asociada al CPB puede jugar un papel importante en el desarrollo de complicaciones infecciosas postoperatorias.<sup>2</sup> La inmunosupresión puede resultar de un predominio de la producción de las citoquinas anti-inflamatorias. Después de la cirugía mayor, disminuye la producción de inmunoglobulinas (IG) y de INF- $\gamma$  (figura nº8) y muchos pacientes llegan a estar anérgicos estando expuestos a un riesgo aumentado de sepsis.

La inmunidad celular está alterada con descenso de los linfocitos T CD3+ y los T helper CD4+, aumento de los linfocitos CD8+<sup>223</sup> y disminución de los monocitos; la disminución de las células NK se vio al 1-3 días del postoperatorio; disminuye la respuesta de los linfocitos a mitógenos. El pretatamiento con Indometacina y Timopentina, las cuales estimulan la activación y diferenciación de los linfocitos, parece restaurar ciertos aspectos de esta respuesta. La IL-10 juega un papel importante en la inmunosupresión postoperatoria; la expresión del gen de la IL-10, se correlaciona con una disminución de los monocitos en un estudio realizado en pacientes sometidos a cirugía abdominal mayor. La L - Arg juega un papel central en la función normal del sistema inmune. La L - Arg es metabolizada en los macrófagos por la iNOS para producir NO (importante en mecanismos citotóxicos), y por la ARG 1 y 2 para sintetizar L - Ornitina y Urea. Se demostró que los macrófagos estimulados con IL-4 e IL-13 regulan al alza ARG 1 y el aminoácido catiónico transportador 2B causando un descenso rápido de los niveles de L - Arg, induciendo una disminución de la expresión de la cadena  $\zeta$  del TCR (CD3 $\zeta$ ) y disminución de la proliferación de los linfocitos T.



**Figura 8. Modelo de activación de la inmunidad celular.** La célula presentadora de antígeno (APC) activa a la célula T-helper (TH0) para diferenciarse en célula T helper 1 o célula T helper 2. La célula T helper 1 media una respuesta inflamatoria por la síntesis y liberación de IL-2 e INF- $\gamma$ . La célula T helper 2 es inhibida por INF- $\gamma$ . La célula T helper 2 media una respuesta que lleva a la producción de anticuerpos (AB) por la síntesis y liberación de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. La IL-10 inhibe la respuesta Th 1.<sup>218</sup>

La iNOS y la ARG 2 no inducen esos cambios. Al añadir inhibidores competitivos de la ARG 1 o un exceso de L - Arg se produce la reexpresión del CD3 $\zeta$  y la recuperación de la proliferación de la célula T. Los linfocitos T obtenidos de niños con LLA (Leucemia Linfática Aguda) cultivados en medios de cultivo sin L - Arg tienen un descenso rápido de la cadena  $\zeta$ , del complejo TCR, la principal señal de transducción de este receptor, y un descenso de la proliferación de los linfocitos T y de citoquinas como el IFN- $\gamma$ . Este fenómeno se revierte completamente con la reposición de L - Arg pero no con la reposición de otros aminoácidos. La disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  no está causado por la muerte celular sino por un descenso de la expresión del CD3 $\zeta$  mRNA (descenso de la síntesis de CD3 $\zeta$ ). Por consiguiente la regulación de la concentración de la L - Arg pudiera representar un mecanismo importante para modular la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ , del receptor de la célula T y de la función de la célula T.



**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA  
MODULAR LA RESPUESTA  
INFLAMATORIA**





### **3. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA MODULAR LA RESPUESTA INFLAMATORIA.**

Diversas técnicas, incluyendo el mantenimiento de la estabilidad hemodinámica, la disminución de los tiempos de CEC, y agentes farmacológicos e inmunomoduladores han sido examinadas en estudios clínicos. Varios índices clave de la respuesta inflamatoria parecen predecir la morbilidad postoperatoria después de la cirugía cardíaca y pueden ayudar a estratificar el riesgo del paciente mayor. En la fase preoperatoria, la elevación de las concentraciones de PCR predice una mayor probabilidad de complicaciones sépticas y la necesidad de tratamiento con catecolaminas, una mayor duración de la asistencia respiratoria, y el aumento de la duración de la estancia en la UCI.<sup>224</sup>

#### **3.1. Técnicas quirúrgicas cardíacas noveles.**

•OPCAB (Cirugía de revascularización coronaria sin bomba). Hay que considerar que una forma de reducir la respuesta inflamatoria a la CEC es omitir por completo la CEC. Aunque esto no será posible para todos los procedimientos debido a la necesidad de abrir las cavidades del corazón, la cirugía de revascularización coronaria sin bomba (OPCABG) elimina los efectos deletéreos de la CEC y la cardioplejia. Evitar el pinzamiento aórtico y la CEC puede disminuir la respuesta inflamatoria, mejorar la función de órganos en el postoperatorio y la evolución del paciente, sobre todo en pacientes de alto riesgo. OPCABG reduce la producción de los principales mediadores de la respuesta inflamatoria sistémica.<sup>2</sup> Varios ensayos aleatorios controlados y metaanálisis han informado que reduce la necesidad de transfusión, reduce la lesión del miocardio, complicaciones neurológicas y déficit neurocognitivo, reduce la disfunción renal, SIRS, estancia hospitalaria y costes.<sup>225-228</sup> Todavía se produce una respuesta de estrés fisiológica con aumentos resultantes en los marcadores pro - inflamatorios pero la magnitud de esta respuesta, sin embargo, es significativamente menor que la observada cuando se utiliza CEC.<sup>229</sup> Raja y Berg<sup>197</sup> recientemente revisaron 19 ensayos controlados aleatorios e informaron del impacto de OPCABG sobre cualquier aspecto de la inflamación sistémica.

En otros estudios se mostró que los niveles de estrés oxidativo,<sup>230</sup> de liberación de citoquinas<sup>231, 232</sup> de activación del complemento,<sup>231, 233</sup> de activación de neutrófilos,

aunque en la cirugía con bomba hay secuestro de neutrófilos con disminución del número <sup>234</sup> y de endotelina, <sup>235</sup> son significativamente menores con OPCABG que con CABG convencional.

Por último, OPCABG disminuye la lesión inducida por ROS.<sup>230</sup> Los ensayos clínicos realizados hasta la fecha sugieren que la OPCABG puede atenuar los índices de disfunción orgánica postoperatoria aunque no elimina el SIRS después de la cirugía cardíaca.<sup>230, 236, 237</sup>

La revisión sistemática de Moller et al <sup>238</sup> no demostró ningún beneficio significativo de OPCABG en comparación con CABG respecto a la mortalidad, ictus o IAM. En contraste, se observó una mayor supervivencia a largo plazo en el grupo de pacientes sometidos a CABG con bomba con el uso de CPB y parada cardiopléjica. En cambio Kuss et al <sup>239</sup> analizaron 38 estudios con 123.137 pacientes e informaron disminución muy importante del riesgo de mortalidad, accidente cerebrovascular, IR, ventilación prolongada y otros aspectos de la morbilidad de la cirugía sin bomba. Una posible explicación de las diferencias aparentes entre los ensayos aleatorizados y los registros, es la sugerencia de que los principales beneficios de la cirugía OPCABG aparecen cuando la mortalidad prevista para CABG es superior al 5%.

Jongman et al <sup>89</sup> concluyeron en su reciente estudio de 2014 que evitar la CEC y el pinzamiento aórtico en cirugía CABG reduce la respuesta inflamatoria sistémica; en cambio la OPCABG no conduce a un aumento de la liberación de moléculas de adhesión endoteliales solubles en la circulación (es decir no afecta la función del endotelio).<sup>89</sup>

Sobre la base de la evidencia actual, la cirugía con bomba con CEC debe continuar siendo el tratamiento quirúrgico estándar. Sin embargo, la cirugía sin bomba puede ser aceptable cuando hay contraindicaciones para la canulación de la aorta y la CEC.<sup>238</sup> Por otro lado, se están acumulando datos de que tanto el número y la calidad de los injertos es inferior con OPCABG y si esto simplemente refleja la mayor necesidad de experiencia técnica necesaria para OPCABG o pérdida del efecto antiagregante plaquetario del CPB (y por consiguiente la necesidad de terapia antiplaquetaria dual en pacientes OPCABG), no se ha resuelto. Si se confirma la inferior permeabilidad del injerto entonces habrá una reducción de la realización

rutinaria de OPCABG con la posible excepción de la técnica de la aorta para reducir las complicaciones neurológicas en pacientes con enfermedad de aorta ascendente.<sup>240</sup>

- Cirugía cardíaca mínimamente invasiva.

Los avances en la cirugía mínimamente invasiva en otras áreas, como la cirugía laparoscópica y toracoscópica, han impulsado el interés en los enfoques que evitan la esternotomía media completa.<sup>241</sup> Técnicas de cirugía cardíaca mínimamente invasivas se pueden utilizar en presencia o ausencia de CEC. La incisión quirúrgica puede influir en la respuesta inflamatoria generada, con una reducción de la activación del complemento tras la toracotomía anterolateral limitada en comparación con la esternotomía media.<sup>3</sup> En la actualidad, los tiempos quirúrgicos son considerablemente mayores con técnicas de mínimo acceso.<sup>3</sup>

- Técnica de Drew Anderson.

Un enfoque intermedio, menos invasivo puede ser utilizar los propios pulmones del paciente como un oxigenador a través de la circulación extracorpórea bilateral. Esta técnica, introducida por Drew y Anderson, permite un buen acceso quirúrgico, sin embargo evita la necesidad de un oxigenador artificial. Un reciente ensayo clínico aleatorizado, informó disminución de las concentraciones de IL-6 e IL-8 y una atenuación de la disfunción hemostática y pulmonar postoperatoria con esta técnica.<sup>242</sup>

### **3.2. Estrategias para mejorar la biocompatibilidad del circuito de circulación extracorpórea.**

La mejora de la biocompatibilidad del circuito de CEC con el fin de reducir la activación por contacto del sistema inmune, particularmente la cascada del complemento, puede ser una estrategia útil para limitar la respuesta inflamatoria. Los posibles enfoques incluyen el uso de materiales más biocompatibles en el circuito o modificaciones de la superficie del circuito mediante el recubrimiento con compuestos que sean menos inmunógenos.

- Circuitos recubiertos de heparina. Los circuitos de CEC recubiertos de heparina (HCC) mejoran la biocompatibilidad, reducen la activación del contacto, y pueden disminuir la disfunción cardiovascular, respiratoria, neurológica y hemostática

postoperatoria.<sup>243</sup> El Duraflo II HCC, que utiliza la heparina no fraccionada iónicamente unida (superficie Duraflo II; Baxter Healthcare Corp., Irvine, CA), reduce la calicreína y la activación del complemento,<sup>244</sup> pero es menos eficaz en la atenuación de la coagulación o fibrinólisis.<sup>245</sup> El sistema de superficie Carmeda bioactivo (CBAS; Medtronic Inc., Minneapolis, MN) utiliza heparina unida covalentemente que ha sido fragmentada por el tratamiento con ácido nítrico. El circuito Carmeda parece ser superior al de Duraflo II en la reducción de la activación del complemento,<sup>246</sup> de la activación de neutrófilos,<sup>247</sup> y las concentraciones de endotelina-1.<sup>247</sup> Los estudios clínicos, realizados hasta la fecha, sugieren que los efectos beneficiosos de los HCC se limitan a los pacientes de alto riesgo. En pacientes de bajo riesgo, los HCC disminuyen la activación de neutrófilos,<sup>248</sup> disminuyen el daño miocárdico,<sup>248</sup> y reducen la activación del complemento.<sup>249</sup> En un gran estudio de pacientes de alto riesgo los HCC Duraflo II disminuyeron la duración de la asistencia respiratoria, la estancia prolongada en UCI y la incidencia de muerte.<sup>244</sup> Los resultados se pueden mejorar si el circuito Duraflo se combina con el uso de oxigenadores de silicona recubiertos. Los HCC pueden atenuar la respuesta proinflamatoria de forma más marcada y pueden tener mayores efectos protectores del miocardio cuando se prolongan los tiempos de perfusión, sobre todo en el trasplante de corazón y el trasplante de corazón y pulmón.<sup>250, 251</sup>

- Otras estrategias para mejorar la biocompatibilidad incluyen recubrimiento de los circuitos con fosforilcolina (preserva plaquetas),<sup>252</sup> de silicona,<sup>253</sup> proteínas sintéticas<sup>254</sup> y polímeros,<sup>255</sup> o aditivos modificadores de superficie.<sup>256, 257</sup> La disminución del área de superficie del oxigenador también puede disminuir la activación de la respuesta inflamatoria.<sup>258</sup>

### **3.3.Estrategias para reducir la endotoxemia.**

- Descontaminación Digestiva selectiva (DDS). La DDS es una técnica para reducir el contenido intestinal de enterobacterias. Esto se logra mediante la administración preoperatoria de antibióticos no absorbibles orales tales como polimixina E, tobramicina, y la anfotericina B, y se ha demostrado que reduce las concentraciones plasmáticas de endotoxina, TNF- $\alpha$ , y la IL-6 en pacientes sometidos a CEC. Un metaanálisis reciente sugiere que reduce las tasas de infección postoperatorias, pero no las de mortalidad, en pacientes sometidos a cirugía cardíaca.<sup>259</sup>

- Nutrición enteral e inmunonutrición.

La hipoalbuminemia y el bajo índice de masa corporal (IMC), predicen de forma independiente aumento de morbilidad y mortalidad después de las operaciones cardíacas.<sup>260</sup> En un estudio inicial, los pacientes bien nutridos sometidos a cirugía valvular tuvieron una estancia hospitalaria más corta y una mejor función miocárdica en comparación con aquellos con desnutrición preoperatoria.<sup>261</sup> Pruebas de laboratorio en animales y humanos sugieren que la desnutrición calórico-proteica disminuye la función ventricular izquierda,<sup>262</sup> y que la concentración de glucógeno miocárdico se correlaciona con la función ventricular izquierda después de la CEC.<sup>263</sup> El papel beneficioso de la implementación temprana de la nutrición enteral, particularmente "inmunonutrición", que contiene los suplementos tales como L - Arg, nucleótidos de purina, y los ácidos grasos  $\omega$ -3, considerados para mejorar la función inmune, se ha establecido en el postoperatorio de grupos de pacientes críticamente enfermos. En los pacientes críticos, la inmunonutrición redujo las complicaciones infecciosas, la duración del SIRS y la duración de la ventilación mecánica, la duración de la estancia en UCI y la duración de la estancia hospitalaria, en comparación con los pacientes que recibieron nutrición convencional.<sup>264</sup> El uso de suplementos de glutamina puede mejorar la supervivencia de los pacientes con insuficiencia de órganos que requieren nutrición parenteral.<sup>265, 266</sup>

### **3.4.Estrategias para mantener la estabilidad hemodinámica y perfusión de órganos.**

La inestabilidad hemodinámica perioperatoria, el síndrome de bajo gasto cardíaco, especialmente después de la CEC, es un indicador de resultados adversos tardíos y muerte. Alteraciones de la perfusión esplácnica, medida por tonometría del pH intramucoso gástrico y  $PCO_2$ , predicen fuertemente morbilidad postoperatoria en pacientes quirúrgicos cardíacos.<sup>267</sup> La hipovolemia puede exacerbar la hipoperfusión esplácnica durante y después de la CEC, y esto puede ser tratable mediante el aumento del volumen intravascular. La hemodilución excesiva durante la CEC puede desempeñar un importante papel en la patogénesis del síndrome de bajo gasto cardíaco post-CEC. Otras opciones terapéuticas incluyen soporte circulatorio farmacológico y mecánico. Los inhibidores de la fosfodiesterasa parecen limitar directamente la activación inflamatoria y disfunción de órganos en modelos de

sepsis.<sup>268</sup> La milrinona atenúa la reducción de pH gástrico intramucoso, reduce las concentraciones de endotoxinas tanto venosas como hepáticas, y puede disminuir las concentraciones postoperatorias de IL-6 en pacientes sanos sometidos a cirugía cardíaca,<sup>269, 270</sup> El uso electivo de la asistencia circulatoria mecánica, como el balón de contrapulsación preoperatorio en pacientes de alto riesgo, especialmente los ancianos<sup>271-273</sup> y aquellos con disfunción ventricular izquierda severa,<sup>274</sup> puede reducir la incidencia del síndrome de bajo gasto cardiaco postoperatorio, mortalidad y estancia en UCI.

### **3.4.1. Técnicas de filtración (ultrafiltración, filtración de leucocitos).**

Ultrafiltración. Ver página 61.

- Filtración de leucocitos. Los leucocitos desempeñan un papel central en la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca. La depleción de leucocitos durante la cirugía cardíaca, por medio de filtros específicos de leucocitos, atenúa los índices de estrés oxidativo y de inflamación.<sup>275</sup> Los beneficios parecen más consistentes en los pacientes con factores de riesgo tales como disfunción ventricular izquierda, cirugía urgente, o larga duración de la CEC. El NO aumenta en condiciones inflamatorias en los pulmones; el NO exhalado se ha propuesto como un marcador de inflamación pulmonar durante la CEC.

La leucodepleción reduce el número de leucocitos circulantes activados y la inflamación pulmonar durante la CEC. Esto parece limitar la lesión pulmonar y mejorar la oxigenación en pacientes de bajo riesgo sometidos a CABG.<sup>276</sup> Se realizaron ensayos clínicos estudiando la colocación de filtros de leucocitos en sitios diferentes dentro del circuito de CEC, incluyendo el catéter arterial,<sup>3</sup> catéter venoso, catéter de cardioplejia de sangre, y combinaciones de los mismos.<sup>3, 277</sup> Hay evidencia creciente de que el agotamiento de leucocitos puede atenuar la lesión pulmonar y miocárdica después de la CEC, aunque estudios recientes no han confirmado esos datos.<sup>278</sup> Aunque algunos ensayos informaron resultados positivos en términos de reducción de los diversos marcadores de lesión de órganos,<sup>279, 280</sup> la gran mayoría no informó mejoría estadísticamente significativa en la función renal postoperatoria,<sup>279</sup> episodios de rechazo en pacientes trasplantados, duración de la ventilación mecánica postoperatoria, estancia en UCI y estancia hospitalaria total.<sup>276</sup> Se ha informado una

pequeña mejoría de la función pulmonar postoperatoria<sup>281</sup> en pacientes que reciben leucodeplección sistémica, pero esto no conducirá a la disminución de la estancia hospitalaria o disminución de la mortalidad.<sup>277</sup> Hay evidencia sustancial de que la filtración de leucocitos de la solución cardiopléjica atenúa la lesión por reperfusión a nivel celular renal y miocárdico, pero esto no se ha traducido en mejora clínica.<sup>279, 280</sup> Loberg et al<sup>282</sup> vieron en su publicación que los parámetros bioquímicos de la inflamación y el daño miocárdico por reperfusión, se reducen en muchos estudios, lo que sugiere una atenuación de la lesión por reperfusión a nivel celular, pero esto no parece ser transferible a la mejoría clínica. Sin embargo, un estudio con pacientes con fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI), severamente disminuida encontró que aquellos que reciben tratamiento con leucodeplección requieren menos apoyo inotrópico y experimentaron un aumento significativo de la FEVI después de la cirugía en comparación con los pacientes control, lo que indica que el beneficio de la leucodeplección puede depender del estado preoperatorio y la susceptibilidad al daño por reperfusión.<sup>282, 283</sup> Sí se informó, que el agotamiento de leucocitos de la sangre de la solución de cardioplejia atenúa la lesión de la célula miocárdica y mejora la función del miocardio en pacientes con disfunción ventricular izquierda programados para revascularización coronaria con CEC.<sup>283</sup> La leucodeplección de la solución cardiopléjica sanguínea, (es decir, la cardioplejia sanguínea administrada durante 10 minutos inmediatamente antes del desbloqueo de la aorta como un complemento de cardioplejia cristaloides) disminuyó la lesión miocárdica y mejoró la función cardíaca en pacientes con hipertrofia ventricular izquierda programados para cirugía valvular. La lesión pulmonar mediada por leucocitos activados es una complicación reconocida de la CEC.<sup>284</sup> Warren et al<sup>284</sup> informaron que la leucofiltración sistémica aumentó significativamente la relación  $PaO_2 / FiO_2$  en las primeras 12 horas tras cesar la derivación, pero este efecto se perdió a las 24 horas. La leucofiltración redujo significativamente la duración del soporte ventilatorio en el postoperatorio,<sup>285</sup> pero no tuvo ningún impacto en la infección respiratoria postoperatoria, duración de la estancia en cuidados intensivos o duración de la estancia hospitalaria total;<sup>286</sup> concluyendo que la leucofiltración sistémica puede disminuir el daño pulmonar relacionado con el bypass en el período postoperatorio temprano, pero esto no parece traducirse en diferencias clínicamente significativas en los resultados.<sup>284</sup> Alexious et al<sup>276</sup> informaron que la leucodeplección reduce el número de leucocitos activados circulantes y la inflamación pulmonar durante la

CEC. Esto parece limitar la lesión pulmonar y mejorar la oxigenación en los pacientes de bajo riesgo sometidos a CABG. Existe evidencia que ciertos subgrupos de pacientes con comorbilidades específicas, como la disfunción pulmonar preoperatoria, pueden beneficiarse de la deplección de leucocitos; aunque estudios muy recientes afirman que la leucodeplección durante la CEC resulta en el secuestro de neutrófilos por un corto periodo de tiempo, disminución de los niveles séricos de IL-10, y menor empeoramiento de la función pulmonar sólo temporalmente.<sup>275</sup> Si la investigación futura se va a realizar, debería estar dirigida a estos subgrupos.<sup>284, 287</sup> En la actualidad, la evidencia no es lo suficientemente alta o consistente para abogar por el uso rutinario de leucofiltración como una estrategia anti-inflamatoria de rutina en la CEC. La evidencia actual sugiere que la deplección de leucocitos puede no tener un impacto significativo en la cirugía de revascularización coronaria electiva en pacientes de bajo riesgo, pero puede ser beneficioso en la cirugía valvular y cirugía cardíaca en pacientes de alto riesgo.<sup>288</sup> Grupos quirúrgicos de alto riesgo que pueden beneficiarse de la filtración de leucocitos son aquellos con hipertrofia ventricular izquierda (HVI; masa LV >300 g), fracción de eyección pobre (FE<40%), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC; FEV<sub>1</sub>predicho <75%), isquemia prolongada (tiempo>120 min o trasplante cardíaco), cirugía cardíaca pediátrica y los pacientes en shock cardiogénico que requieren cirugía de revascularización coronaria de emergencia.<sup>287</sup> Bilgin et al<sup>289, 290</sup> analizaron la mortalidad debido a la transfusión de sangre libre de leucocitos, en cirugía cardíaca valvular, viendo una reducción de la misma a corto plazo en aproximadamente un 50%. El mecanismo exacto para este efecto no se conoce. Las citoquinas proinflamatorias inducidas por las transfusiones de hematíes que contienen leucocitos en combinación con la respuesta inflamatoria originada después de la cirugía cardíaca pueden agravar la morbilidad y podría conducir al aumento de la mortalidad.<sup>289</sup> La respuesta inflamatoria inducida por la activación del leucocito durante la CEC es una de las principales causas de la disfunción de órganos.<sup>291</sup> Zhou et al<sup>292</sup> hablan de hibernación sanguínea, efectuada por la adición de NO, PGE1 y aprotinina a la sangre circulante durante la CEC, para atenuar la inflamación y la coagulación inducida por el CPB, mediante la inhibición de los compuestos intermedios comunes importantes entre los dos procesos. El bloqueo de la activación del leucocito puede atenuar la lesión pulmonar aguda y lesión renal. Por lo tanto, eliminar los leucocitos por filtración puede ser beneficioso para los pacientes. Sin embargo, los resultados clínicos han sido polémicos. Algunos



estudios han sugerido que los filtros de leucocitos a corto plazo, podrían reducir la expresión de CD11b/CD18 en los mismos, disminuir la respuesta inflamatoria sistémica y mejorar los resultados. Otros estudios han demostrado que los filtros de leucocitos a largo plazo pueden incluso aumentar, la liberación de citoquinas inflamatorias y proteasas, al adherirse los leucocitos a la membrana del filtro, y así causar un efecto negativo al inducir la respuesta inflamatoria y conducir así a la destrucción del leucocito y del tejido.<sup>291</sup> Por eso los autores sugieren evitar la filtración leucocitaria a largo plazo en la CEC.<sup>291</sup>

### **3.5. Medicamentos que pueden suprimir la respuesta inflamatoria.**

- **Inhibidores de proteasa sérica.**

La aprotinina, un inhibidor de polipéptidos y proteasas séricas no específica, se ha utilizado claramente para prevenir la pérdida excesiva de sangre durante la cirugía cardíaca.<sup>293</sup> Inhibe la tripsina, quimotripsina, plasmina, calicreína, elastasa y trombina.<sup>294</sup> Mediante la inhibición de la calicreína y plasmina reduce los niveles de activación de contacto y disminuye la fibrinólisis y así disminuye el sangrado en cirugía cardíaca con CEC.<sup>3</sup> Además, la aprotinina tiene múltiples acciones que pueden suprimir la respuesta inflamatoria,<sup>295</sup> particularmente a dosis más altas. Los efectos antiinflamatorios incluyen la atenuación de la activación de plaquetas y mantenimiento de la función plaquetaria,<sup>296</sup> disminución de la activación del complemento,<sup>296</sup> inhibición de la producción de la calicreína,<sup>296</sup> disminución de la liberación de TNF- $\alpha$ ,<sup>174</sup> IL-6, e IL-8,<sup>297</sup> inhibición endógena de iNOS inducida por las citoquinas,<sup>298</sup> disminución de la activación de leucocitos inducida por la CEC,<sup>296, 299</sup> y la inhibición de las moléculas de adhesión de los monocitos y granulocitos.<sup>300</sup> Un estudio observacional de Mangano et al,<sup>301</sup> informó de complicaciones cardíacas, renales y complicaciones cerebrales hasta del doble en los pacientes que recibieron aprotinina, contradiciendo así las conclusiones de metanálisis anteriores; así la aprotinina ya no debe utilizarse en pacientes sometidos a cirugía cardíaca de alto riesgo.<sup>302</sup> Este estudio de cohorte, BART, se creó para investigar comparando la aprotinina

y los análogos de la lisina (ácido tranexámico y ácido amino caproico), posteriormente aportó pruebas convincentes de la superioridad de los análogos de la lisina en este rol en cirugía cardíaca en pacientes de alto riesgo.<sup>302</sup>

- **Pentoxifilina.**

La pentoxifilina (PTX), es un inhibidor de fosfodiesterasa no específico con diversos efectos antiinflamatorios, muchos de los cuales pueden ser mediados por la inhibición de la fosfodiesterasa IV.<sup>303</sup> Estos incluyen la atenuación de la liberación de TNF- $\alpha$  en la sepsis, disminución de la activación de endotoxinas y citoquinas de los neutrófilos,<sup>304</sup> reducción de los índices de lesiones endoteliales y de permeabilidad,<sup>305</sup> disminución del secuestro de leucocitos en el pulmón,<sup>306, 307</sup> y la atenuación de los aumentos de la resistencia vascular pulmonar<sup>307</sup> así como el tiempo de ventilación mecánica y la estancia en la unidad.<sup>308</sup> Más recientemente, en pacientes quirúrgicos cardíacos de edad avanzada, la PTX disminuyó el aumento de la elastasa de los neutrófilos, la PCR y las citoquinas proinflamatorias (IL-6, IL-8). Estos pacientes también tuvieron menores necesidades de medicamentos vasoactivos y un menor tiempo para su extubación.<sup>62</sup> En un estudio paralelo, los mismos investigadores informaron de mejoría en la perfusión esplácnica, función hepática y renal con PTX.<sup>63</sup> En un estudio reciente Barkhordari et al<sup>309</sup> demostraron un efecto preventivo de la lesión renal aguda con PTX al disminuir la creatinina en orina y la gelatinasa neutrofílica urinaria asociada a la lipocalina, que muestra una débil correlación con la creatinina en orina.<sup>309</sup>

- **Eliminadores de radicales libres y antioxidantes.**

Una parte clave del daño celular presenciado durante la lesión por I/R que se produce durante la CEC es atribuible a las ROS, (también conocidos como radicales libres de oxígeno), liberados por los neutrófilos activados. Esto se agrava porque la CEC agota los eliminadores endógenos de ROS, tales como las vitaminas E y C. Estudios experimentales en animales han investigado la eficacia de los antioxidantes exógenos, tales como manitol, alopurinol, y N-

acetil cisteína, para prevenir o atenuar el daño mediado por ROS.<sup>310</sup>  
<sup>311</sup> Se observaron resultados alentadores con la enzima superóxido dismutasa (SOD) y catalasa, ambos eliminadores de radicales libres de oxígeno, para reperfundir trasplantes de corazón en un modelo de rata. Los antioxidantes se agotan después de la CEC, presumiblemente como resultado del consumo por los radicales libres. Cuando la producción de ROS supera la capacidad de eliminación, resulta la lesión celular.<sup>310, 312</sup> La reperfusión del miocardio humano con sangre en la solución cardiopléjica en lugar de cristaloides puede reducir la lesión por I/R, debido a los eliminadores de ROS endógenos presentes en los eritrocitos. Después de la CEC la disfunción endotelial coronaria parece ser parcialmente mediada por ROS.<sup>313</sup> Los eliminadores de radicales libres, como eliminadores enzimáticos, antioxidantes y quelantes de hierro, pueden ser complementos terapéuticos potencialmente útiles para controlar los efectos perjudiciales de la respuesta inflamatoria. La reoxigenación limita la peroxidación lipídica.<sup>314</sup> Pero a pesar de algunos resultados prometedores, la mayoría de los estudios en humanos no han demostrado ningún beneficio significativo, y por lo tanto, la terapia antioxidante no puede ser recomendada como una opción terapéutica regular.<sup>3</sup>

-Altas dosis de vitamina C (ácido ascórbico) se ha demostrado que secuestra eficazmente los radicales libres, disminuye la peroxidación de lípidos de la membrana celular,<sup>315</sup> disminuye la lesión miocárdica y mejora la hemodinámica con una estancia en UCI más corta y estancia hospitalaria menor.<sup>315</sup> Manitol o alopurinol, pueden minimizar los radicales libres disponibles para la peroxidación lipídica de las membranas biológicas.<sup>316</sup> La vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) reduce las concentraciones de peróxido de hidrógeno en plasma, un marcador de los niveles de radicales libres y disminuye la peroxidación lipídica de la membrana<sup>317</sup> tras la CEC.

-Las altas dosis de N-acetilcisteína antes o durante el CPB parecen actuar como eliminadoras de radicales libres,<sup>318</sup> reducen la respuesta de estallido oxidativo de los neutrófilos<sup>318</sup> y la actividad de la

elastasa.<sup>319</sup> En un ensayo intervencionista en pacientes con lesión pulmonar aguda establecida, la N-acetilcisteína mejoró la oxigenación y la mecánica pulmonar, aunque no se observó ningún impacto en la progresión del síndrome de dificultad respiratoria aguda<sup>320, 321</sup> por ello en este tipo de pacientes con SIRS y sepsis los médicos no usarán de forma sistemática N-acetilcisteína para su tratamiento porque es ineficaz para disminuir las complicaciones.<sup>322</sup> El tratamiento de la respuesta inflamatoria sistémica al CPB también es confundido por el hecho de que la inhibición de la inflamación podría interrumpir respuestas protectoras fisiológicas o resultar en la inmunosupresión.<sup>323</sup>

-El alopurinol es un inhibidor del enzima xantina oxidasa; puede disminuir la formación de radicales libres citotóxicos, y mejorar la recuperación de la función del miocardio después de la CEC.<sup>324</sup> La administración preoperatoria de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) y alopurinol se ha demostrado que mejora la función miocárdica y reduce la morbilidad perioperatoria después de CABG.

-Otros antioxidantes: El metabolismo celular genera el radical libre superóxido citotóxico  $O_2^-$ , y una familia de enzimas llamadas SOD, nos protegen catalizando su conversión a  $O_2$  y  $H_2O_2$ . Aumenta la producción de superóxido en una amplia variedad de estados patológicos, especialmente los que implican inflamación o lesión isquémica.<sup>325</sup> la depresión de la contractilidad cardíaca postbomba podría ser debido al aumento de los niveles de ROS. La superóxido dismutasa y catalasa, eliminadores de anión superóxido y peróxido de hidrógeno, respectivamente, podrían ser eficaces en la prevención de la disfunción cardíaca post-CEC<sup>326</sup>

- **La inmunomodulación: La controversia de los corticoides.**

Ver página 52.

- **Inhibidores de la ciclooxigenasa.**

-La aspirina, el fármaco prototipo antiinflamatorio no esteroideo (AINE), es ampliamente utilizado en pacientes de cirugía cardíaca

para aliviar el dolor y por su actividad antiplaquetaria. Los AINEs tradicionales, tales como indometacina, inhiben tanto la ciclooxigenasa constitutiva 1 (COX-1), como a la COX-2, la isoforma inducible activada por estímulos inflamatorios. La inhibición de la COX no específica atenúa el aumento de la RVP y ALI y revierte la disfunción microvascular pulmonar<sup>327</sup> en modelos de CEC. No obstante la inhibición de COX-1 parece aumentar la formación del radical libre isoprostano, que favorece la vasoconstricción coronaria y agrava la disfunción miocárdica postisquémica.<sup>120, 328</sup>

-Los inhibidores específicos de COX-2 exhiben un potencial considerable para atenuar la respuesta inflamatoria después de la cirugía cardíaca. COX-2 ha sido implicado en la patogénesis de sucesos adversos después de la cirugía cardíaca.<sup>329, 330</sup> Los productos de COX-2, en particular los tromboxanos<sup>331</sup> y la alteración de la liberación de NO, pueden contribuir al vasoespasmo coronario postoperatorio inducido<sup>329</sup> por la serotonina y al aumento de la RVP.<sup>332</sup> La inhibición de COX-2 atenúa la respuesta inflamatoria del miocardio durante el rechazo de aloinjerto cardíaco,<sup>333</sup> reduce la disfunción endotelial después de la isquemia miocárdica y la reperfusión,<sup>334</sup> y mejora la función cardíaca en el IAM experimental.<sup>335</sup> Además, la inhibición de COX-2 disminuye la depresión miocárdica inducida por la endotoxina<sup>327, 336</sup> y la lesión por I/R del pulmón. Sin embargo, la eficacia clínica de los inhibidores de COX-2 en la atenuación de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca queda por determinar.

- **Terapias dirigidas al complemento.**

La activación del complemento desempeña un papel clave en la fase temprana de la respuesta inflamatoria a la CEC. Inhibidores de terminales del complemento, tales como pexelizumab, un fragmento de anticuerpo recombinante que se une a C5, bloqueando la generación de C5a y C5b-9, están atrayendo mucho interés.<sup>85, 337, 338</sup> Ensayos randomizados y análisis retrospectivos realizados, sugieren

una posible reducción del riesgo de IAM y muerte dentro de los 30 días posteriores a la cirugía.<sup>312, 339-341</sup> Estos beneficios pueden ser especialmente notables en personas con alto riesgo de lesiones por I/R debido a largos períodos de pinzamiento aórtico.<sup>340, 341</sup> Las terapias que utilizan inhibidores de terminales del complemento solubles endógenos pueden ser un enfoque adecuado para reducir la activación de contacto y de ese modo controlar la respuesta inflamatoria.<sup>85, 337, 338</sup>

- **Terapias antimedidor.**

Se centran en la propia molécula de endotoxina y en la cascada de citoquinas proinflamatorias tras la CEC.

- **Terapias para disminuir el daño endotelial.**

El bloqueo de las moléculas de adhesión puede impedir la adherencia de neutrófilos durante las primeras 24 horas después de la CEC, evitando el daño orgánico mediado por neutrófilos. En este sentido, el bloqueo de la selectina endotelial y moléculas de adhesión de neutrófilos resultó en una disminución de la lesión cerebral en un modelo animal de CEC y parada circulatoria hipotérmica profunda. Sin embargo, el bloqueo de las moléculas de adhesión aumenta la susceptibilidad a la infección.

- **Inhibidores de la fosfodiesterasa.**

Los inhibidores de la fosfodiesterasa aumentan los niveles de adenosin monofosfato cíclico intracelular (AMPc), por lo que aumenta el inotropismo miocárdico y disminuyen las resistencias vasculares sistémicas (RVS), causando vasodilatación periférica. También han demostrado ejercer un efecto anti-inflamatorio, posiblemente a través del mismo mecanismo. La milrinona, un inhibidor específico de la fosfodiesterasa III, reduce la producción de IL-6 e IL-1 $\beta$  y puede aumentar la perfusión gastrointestinal y reducir la endotoxemia cuando se administra en perfusión a pacientes sometidos a CABG.<sup>3</sup>

**COMPLEJO RECEPTOR DE CÉLULA T O  
COMPLEJO TCR**





#### 4. COMPLEJO RECEPTOR DE CÉLULA T O COMPLEJO TCR.

El linfocito T únicamente reconoce al antígeno cuando éste se encuentra presente en la membrana de la célula presentadora de antígeno (MCH complejo mayor de histocompatibilidad). Cuando tiene lugar el reconocimiento antigénico entre el TCR y la molécula MCH, que porta el antígeno, se desencadenan una cascada de reacciones bioquímicas en el citoplasma de la célula T dando lugar al proceso de activación de la célula T.

##### 4.1. Estructura del complejo TCR/CD3.

El complejo receptor de célula T o complejo TCR está formado por dos partes bien diferenciadas tanto estructural como funcionalmente:

- TCR. Un heterodímero, formado por dos subunidades proteicas  $\alpha$  y  $\beta$ , unidas covalentemente por puentes disulfuro; es la porción específica, polimorfa que va a permitir el reconocimiento de los diferentes antígenos. Existe una variante de TCR, que se encuentra en unas pocas células T y está formado por cadenas  $\gamma$  y  $\delta$  en vez de cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ .<sup>342</sup> Este heterodímero no se asocia covalentemente y su función no está claramente determinada (figura nº9).
- CD3. Es la porción invariable del complejo y está formado por al menos 3 monómeros unidos no covalentemente, denominados gamma, delta y épsilon ( $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ ).<sup>343, 344</sup> Es el encargado de transmitir la señal del reconocimiento antigénico al interior de la célula y de regular los niveles de expresión del receptor en la superficie celular. Al complejo CD3 se le asocia un gran homodímero intracitoplásmico, la cadena  $\zeta\zeta$ , (CD247; cadena  $\zeta$  o cadena Z). La cadena  $\zeta$  es una molécula de 16 kDa asociada con el complejo receptor de células T, TCR/CD3, en los linfocitos T y Fc $\gamma$ RIII en CD3 (-) CD56 (+) CD16 (+) y células asesinas naturales (células NK) (figura nº10).

##### 4.2. Funcionamiento del complejo TCR/CD3.

El TCR está formado por dos cadenas polimórficas ( $\alpha\beta$  ó  $\gamma\delta$ ) que le confieren la especificidad por los antígenos y forman el sitio de unión al antígeno presentado en el complejo mayor de histocompatibilidad. Las cadenas polimórficas ( $\alpha\beta$  ó  $\gamma\delta$ ) son cadenas variables y glicosiladas que se asocian entre sí por un puente disulfuro. Estas cadenas están unidas covalentemente al complejo CD3, formado por las cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$

y  $\zeta$ . Las cadenas CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$  y CD3 $\epsilon$ , se encuentran unidas entre sí por uniones no covalentes.<sup>345</sup> La cadena CD3 $\zeta$  se asocia al complejo TCR, en forma de homodímeros  $\zeta\zeta$  (en el 90% de los complejos TCR/CD3) (figura nº11) ó formando heterodímeros con otras cadenas de su misma familia como  $\eta$ , derivada de un procesamiento alternativo del mRNA de la cadena CD3 $\zeta$ <sup>346</sup> (figura nº10). El reconocimiento del antígeno conduce a un cambio conformacional extracelular que se transmite intracelularmente a través del CD3. La interacción entre el CD3- $\zeta\zeta$  unido por enlaces disulfuro, es un componente esencial de la señalización del complejo TCR/CD3, y su entorno lipídico. La formación de enlaces disulfuro requiere la presencia absoluta de un ácido aspártico cercano.<sup>347</sup> Las cadenas CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$  y CD3 $\epsilon$  constan de una región extracelular grande con un dominio inmunoglobulina, una región transmembrana y un dominio intracelular pequeño con un dominio ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif). Sin embargo, la cadena CD3 $\zeta$  posee un corto dominio extracelular, de 9 aminoácidos necesario para el correcto ensamblaje del complejo TCR/CD3, una región transmembrana<sup>348</sup> y una región intracelular grande que contiene tres dominios ITAM. Los datos sugieren que se necesita un dominio extracelular corto de la cadena CD3 $\zeta$  del CD3, para montar correctamente el complejo TCR/CD3.

Cuando se amplía este dominio extracelular el complejo TCR/CD3 resultante se distorsiona y conduce a un fenotipo hiperactivo con aumento de la activación de la célula T.<sup>349</sup> La cadena  $\zeta$  juega un papel crucial en la transducción de la señal resultante de la unión TCR-CD3-MCH; inicia la cascada de transducción de la señal que lleva a la activación y proliferación de la célula T.<sup>348, 350</sup> La porción intracelular es la responsable de transmitir las señales resultantes de la unión TCR/MCH/CD3.<sup>349</sup> Los dominios ITAM de la región intracelular son secuencias conservadas YxxLx6-8YxxL que contienen residuos tirosina (Y) separados entre sí por 18 aminoácidos y son la diana para la fosforilación mediada por tirosina quinasas asociadas al receptor.<sup>351</sup>

La asociación del TCR con los ligandos adecuados tiene como consecuencia una rápida fosforilación de estos residuos de los dominios ITAM<sup>352</sup> y de proteínas tirosina quinasas asociadas a ellos como la familia Syk dando lugar a la señalización intracelular. Cuando la cadena CD3 $\zeta$  del CD3 se fosforila se une a ZAP70 (cadena  $\zeta$  asociada a la protein Kinasa de 70 kDa), que permite la fosforilación y la activación de la p56<sup>351</sup>lck quinasa. ZAP70 inicia la transducción de señales intracelulares resultando en la activación de la PKC, la movilización del calcio y la regulación de los genes

cruciales para la función de las células T efectoras (figura nº 10). Por otro lado la unión del ligando al TCR/CD3 induce un cambio conformacional tanto fuera como dentro de la membrana plasmática. Una de las consecuencias medibles es que se expone una secuencia de la porción intracelular de CD3ε rica en prolina. Dicha secuencia podría reclutar entonces a la ubicua proteína adaptadora Nck; a su vez, el reclutamiento de Nck parece necesario para una correcta señalización, maduración inmunológica de la sinápsis y activación de la célula T, y tiene lugar también durante la selección positiva y negativa en el timo.<sup>350</sup> (Figura nº9). Cualquier regulación negativa tanto de las cadenas del TCR como del CD3 ocasionaría graves consecuencias en la activación de la respuesta inmune, ya que la señalización intracelular no se llevaría a cabo correctamente.<sup>353</sup> Durante la última década, la expresión de ARG y el agotamiento de L - Arg han demostrado ser una poderosa ruta inmunosupresora en mamíferos.<sup>354</sup> Ochoa et al,<sup>355</sup> estudiaron el efecto de la disminución de la concentración extracelular de L - Arg en células T humanas. La ausencia de L - Arg induce la regulación negativa de la cadena CD3ζ del complejo TCR/CD3, un componente crítico en la señalización y activación de células T.<sup>355</sup> La carencia de L - Arg induce un arresto en la fase G0-G1 del ciclo celular de las células T,<sup>356</sup> asociado a una regulación negativa de la ciclina D3 y la Cdk4 (kinasa dependiente de ciclina).<sup>353, 357</sup> En humanos, la inmunosupresión asociada a la disminución de la CD3ζ es un evento recurrente en pacientes con cáncer, autoinmunidad o infecciones crónicas.<sup>25, 352, 358, 359</sup>

#### **4.3.Funciones del complejo TCR/CD3.**

La cadena ζ funciona como una molécula de señalización transmembrana de los linfocitos. La expresión y la transducción de señales por el receptor de células pre-T (TCR-PRE) y complejo TCR son críticas para el desarrollo normal de timocitos. Cómo las señales ambientales detectadas por estos dos complejos de receptores se traducen en respuestas biológicas que resultan en la generación de células T funcionalmente maduras, es cada vez mejor comprendido. Se revisaron las funciones de las cadenas CD3, particularmente CD3 gamma, delta y épsilon, en la diferenciación de timocitos en ratones y seres humanos.<sup>360</sup>

a)-La función del TCR/CD3 es crucial en dos momentos de la vida del linfocito T: participación primero en la selección positiva y negativa del linaje T durante la maduración en el timo; después en la perifería es responsable del reconocimiento de

antígenos exógenos, secuencias de péptidos extrañas, formando el paso inicial en la eliminación de células germinales extrañas. Estos fenómenos desembocan en la activación celular, durante la cual se inducen varios programas funcionantes en los linfocitos T: síntesis y maduración de factores de crecimiento, llamados linfoquinas, síntesis de perforinas, selección clonal, proliferación celular. En el reconocimiento antigénico además del TCR, juegan un papel fundamental otras moléculas de superficie como CD4, CD8, CD2 y CD45. Estudios recientes han demostrado que las membranas celulares proporcionan un ambiente único para interacciones proteína-proteína y proteína-lípido que son críticas para el ensamblaje y la función del TCR/CD3; interacciones polares altamente específicas entre dominios transmembrana (TM) que son únicamente favorables en el medio ambiente de lípidos. Estudios recientes también sugieren que las interacciones entre la membrana y los dominios citoplasmáticos de las proteínas CD3 pueden ser importantes para el receptor de activación.<sup>361</sup>

b)-Prácticamente todos los aspectos de la respuesta inmune humana están controlados por los linfocitos T. La cadena CD3 $\zeta$  del TCR/CD3 es un sensor y regulador de la respuesta de linfocitos.

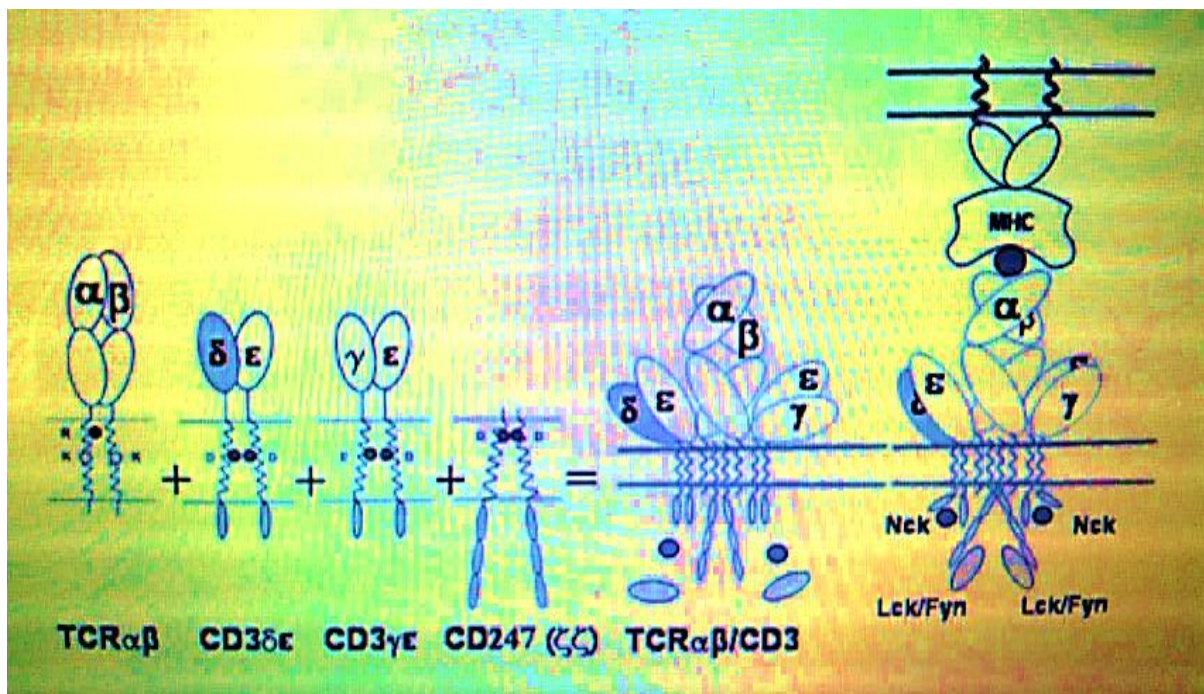
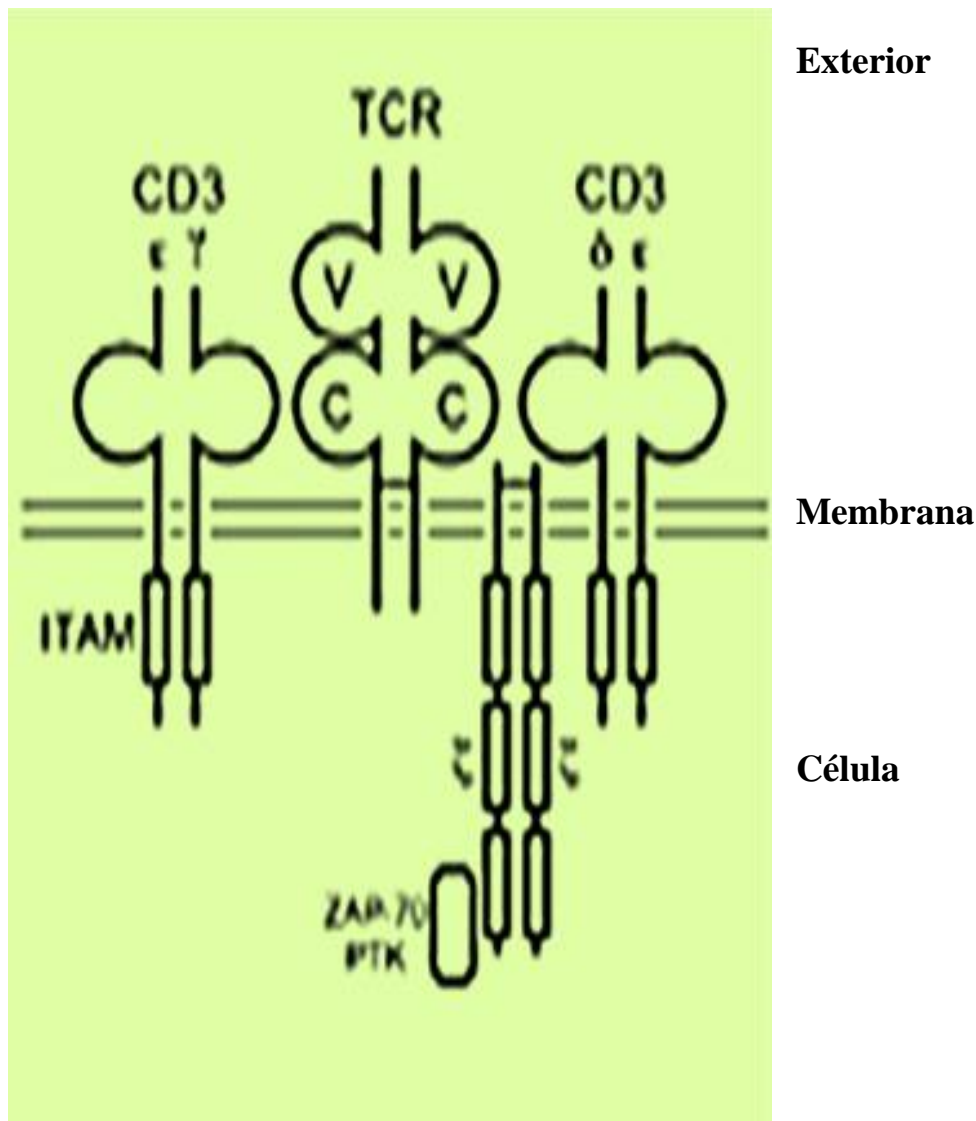


Figura 9. Complejo TCR: TCR cadena  $\alpha$  + TCR cadena  $\beta$  + CD3 $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $2\epsilon$  + cadena  $\zeta$ . Reconocimiento antigénico y activación de la célula T.

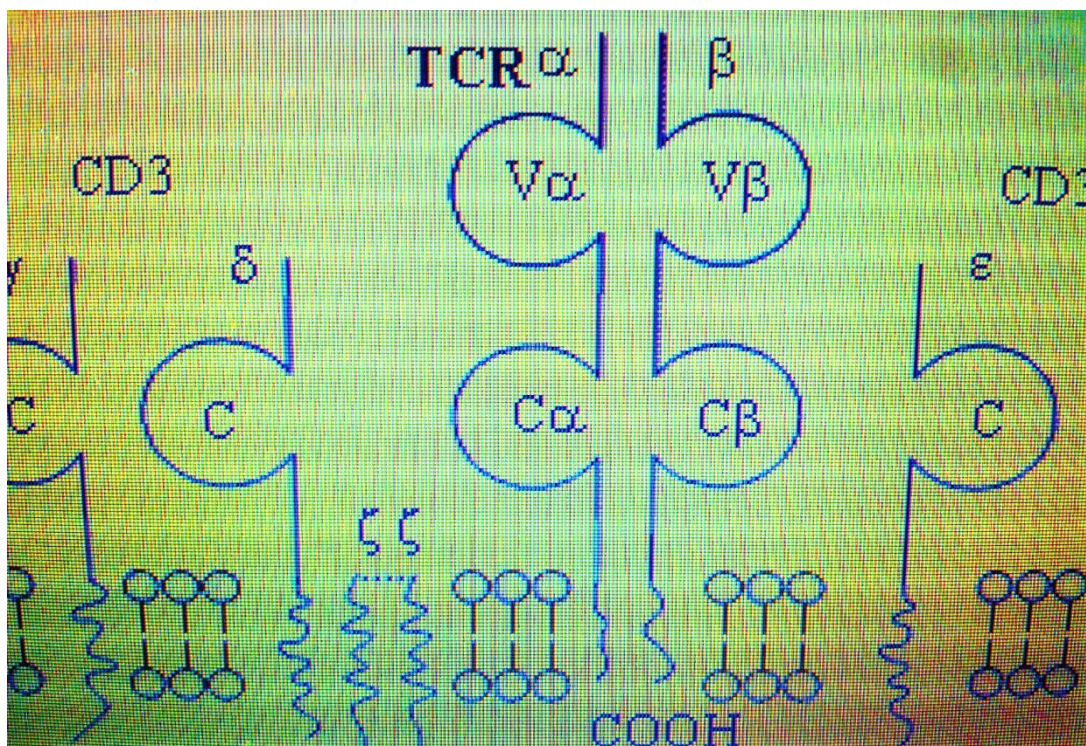


**Figura 10. Representación esquemática del complejo TCR/CD3 de la células T.**

El TCR es un complejo protéico multimérico que consiste en un heterodimero clonotípico  $\alpha$  y  $\beta$ . Estas cadenas son muy semejantes a las inmunoglobinas y tienen, al igual que éstas, un dominio constante (C) y un dominio variable (V), el cual se encuentra en la región apical de la porción extracelular. El complejo CD3 está compuesto por tres monómeros denominados  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$  unidos por enlaces no covalentes. El CD3 tiene una importante porción intracelular llamada cadena  $\zeta$  que es la responsable de transmitir las señales resultantes de la unión TCR: MCH-antígeno. La porción intracelular de las cadenas CD3 $\zeta$  (posee tres zonas fosforilables denominadas ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif) encargadas de la transducción de señales. La quinasa ZAP-70 PTK se une a la región ITAM de la cadena CD3 $\zeta$  y colabora en la cascada de señalización generada por la activación de los linfocitos T.

La pérdida de la cadena CD3 $\zeta$  es el único mecanismo dirigido por la actividad de la ARG que tiene relevancia comprobada en la función de células T. Sin embargo, el mecanismo mediante el cual la deficiencia de L - Arg afecta la expresión del CD3 $\zeta$ , no está completamente definido y requiere estudios más profundos.





**Figura 11. Componentes del complejo TCR y CD3 y su relación con la membrana celular.**

c)-Un subconjunto de células T que expresan bajos niveles de la cadena CD3 $\zeta$ , las células T efectoras TCR  $\zeta$  dim células T se han descrito en asociación con enfermedades infecciosas, malignas, e inflamatorias.<sup>25</sup> Las citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ ) y antiinflamatorias juegan un papel importante en la activación de la célula T a través de la cadena  $\zeta$  del CD3, vía Src-like adaptor protein (SLAP).<sup>362</sup> Hay una disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  en las células T y células NK de pacientes con cáncer, enfermedades infecciosas crónicas como el VIH, la lepra y enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide que contribuye a la inflamación tisular y daño orgánico.<sup>363</sup> El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno), derivado de los macrófagos podría inducir la pérdida de la expresión de la cadena  $\zeta$  del CD3;<sup>364</sup> la restauración de la expresión de la cadena  $\zeta$  del CD3 en la superficie de la célula T se esperaría que mitigara la inflamación tisular.<sup>53</sup>

Estas células T efectoras, TCR  $\zeta$  dim células T, con la capacidad para migrar a través del endotelio a los tejidos inflamados, están aumentadas en el síndrome coronario agudo y pueden estar implicadas en la inestabilidad coronaria.<sup>365</sup>

d)- CD3 $\zeta$  y cáncer. Disminuye la expresión de la cadena  $\zeta\zeta$  en situaciones de descenso de L - Arg,<sup>25, 53, 118, 354, 355, 363, 366, 367</sup> mecanismo que podría explicar la alteración de la

función de la célula T. Hallazgos recientes indican que el aumento del metabolismo de L - Arg por las células mieloides puede resultar en el deterioro de las respuestas del linfocito al antígeno durante la respuesta inmune y el crecimiento tumoral. Alternativamente, Rabinowich et al.<sup>368</sup> sugieren que la expresión del ligando Fas en las células tumorales podría inducir apoptosis de células T, con la pérdida de la cadena CD3 $\zeta$  en el cáncer de ovario siendo una manifestación temprana de muerte celular. Uzzo et al.<sup>369</sup> también demostraron que los gangliósidos derivados de tumores podrían desempeñar su papel en la inducción de la expresión disminuida de CD3 $\zeta$  en el cáncer renal. Recientemente, Maccalli et al.<sup>370</sup> mostraron que la clase soluble I del MHC podría inducir la pérdida de la cadena CD3 $\zeta$  en linfocitos infiltrantes derivados del melanoma. El descenso de L - Arg afecta solamente a la célula T activada y no al linfocito T en reposo.<sup>371</sup> Dos enzimas que compiten por L - Arg como sustrato, ARG y NOS son componentes cruciales de esta vía de supresión de linfocitos, y los productos metabólicos de estas enzimas son moderadores importantes de la función de células T.<sup>18, 354, 372</sup>

e)- Las células T Jurkatt (línea celular de CD4) cultivadas en un medio sin L - Arg tienen una rápida disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ ,<sup>363</sup> y una disminución de la proliferación de la célula T.<sup>355, 363, 366, 371</sup> Este fenómeno se invierte con la reposición de L - Arg, pero no de otros aminoácidos, y además aumenta el número de células CD4. Esto podría explicar como se alteraría la traducción de la señal en pacientes con cáncer o enfermedad inflamatoria crónica.<sup>363</sup> La expresión disminuida de CD3 $\zeta$  en ausencia de L - Arg no está causada por una disminución de CD3 $\zeta$  m RNA, un aumento de la degradación del CD3 $\zeta$  o apoptosis de la célula T (muerte celular desencadenada por señales celulares controladas genéticamente), sino por un descenso de la síntesis del CD3 $\zeta$ .<sup>35, 366, 371</sup> El acoplamiento del receptor de célula T, con el antígeno o anti CD3 resulta en un ciclo de internalización y re-expresión del CD3 $\zeta$ . Siguiendo a la internalización, el CD3 $\zeta$  es degradado y reemplazado por el nuevo CD3 $\zeta$  sintetizado en la superficie celular. La disponibilidad de L - Arg modula el ciclo de internalización y re-expresión de CD3 $\zeta$  y causa disfunción de la célula T. Las células T estimuladas y cultivadas en presencia de L - Arg experimentan el ciclo normal de internalización y re-expresión del CD3 $\zeta$ ; sin embargo las células T estimuladas y cultivadas en ausencia de L - Arg presentan una baja regulación de CD3 $\zeta$  impidiendo la expresión normal del complejo TCR, mostrando una proliferación y producción

disminuida de IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10 pero no de la IL-2. La reposición de L - Arg recupera la expresión del CD3 $\zeta$ .<sup>366</sup> Además, este proceso parece ser selectivo para la cadena CD3 $\zeta$ , porque no parece afectar a otras proteínas del TCR ni a otros receptores de membrana como al receptor IL-2. La función reguladora también parece ser aminoácido específico, porque el agotamiento de L - glutamina no conduce a una disminución de la cadena CD3 $\zeta$ .

Los datos demuestran *in vitro* que concentraciones de L - Arg por debajo de 40 $\mu$ M causan un rápido descenso de la cadena CD3 $\zeta$  del CD3 en células Jurkat y afectan la re-expresión de esta cadena en las células T estimuladas.<sup>355, 371</sup>

f)-Los pacientes que sufrieron un traumatismo o fueron programados para trasplante hepático tienen un rápido descenso de los niveles de L - Arg paralelo a la disfunción de la célula T.<sup>371</sup>

g)-El estrés quirúrgico en cirugía mayor, induce una disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  en las células T periféricas mediado por peróxido de hidrógeno derivado de monocitos. Los resultados demuestran que los niveles del CD3 $\zeta$  en las células T periféricas fueron más bajos en el segundo y tercer día del postoperatorio en comparación con el período preoperatorio y se recuperaron el séptimo día del postoperatorio. La reducción de la expresión de CD3 $\zeta$  fue impedida por la adición de catalasa, un eliminador selectivo de peróxido de hidrógeno, lo que indica que este fenómeno estaba mediado por él. Niveles de CD3 $\epsilon$  también disminuyeron después de la cirugía, pero no se recuperaron el séptimo día del postoperatorio.

Ichihara<sup>373</sup> demostró que el estrés quirúrgico induce un descenso de la expresión de CD3 $\zeta$  en las células T, aunque no esté asociado este cambio con descensos de L - Arg.



**L – ARGININA (L-Arg), ARGINASA, NOS,  
PCR, ROS**



## **5. L - Arginina, ARGINASA, NOS, PCR, ROS.**

### **5.1. La L - Arg.**

#### **5.1.1. Metabolismo de la L – Arg.**

Las fuentes de L - Arg libre en el cuerpo son proteínas de la dieta, síntesis endógena, y la rotación de las proteínas del cuerpo. Alrededor del 40% de la Arg de la dieta se cataboliza por el intestino antes de que pueda entrar en la circulación. Durante el ayuno,  $\approx 85\%$  de la L - Arg que entra en la circulación deriva del recambio de proteínas, y el resto proviene de la síntesis de novo. A nivel de todo el cuerpo, la mayoría de la síntesis de novo se produce en colaboración metabólica entre el intestino delgado y riñón, (aquí se sintetiza en el tubo contorneado proximal a partir de citrulina) en lo que se conoce como el eje intestinal-renal de la síntesis de L - Arg.<sup>374</sup>

La L - Arg es un aminoácido semiesencial o condicional en infantes y niños en crecimiento así como en adultos que sufren estrés catabólico o disfunción del intestino delgado y el riñón, puesto que requieren ingerirla para complementar la síntesis endógena.<sup>374</sup> Sin embargo, en adultos sanos se considera un aminoácido no esencial debido a que los requerimientos se suplen completamente por medio de la síntesis endógena de citrulina, molécula secundaria en el ciclo de la úrea, que se forma en las vías metabólicas de prolina, glutamato o glutamina; se ha demostrado que la L - Arg es de vital importancia en la vasodilatación, la liberación de calcio, la neurotransmisión, la proliferación celular, la regeneración rápida de ATP, las actividades secretoras y la inmunidad.<sup>375</sup> La L - Arg es abundante en ciertos productos alimenticios, tales como carnes y frutos secos.<sup>374</sup>

La concentración normal de L - Arg en plasma varía entre 95 y 250  $\mu\text{mol/L}$ . Varios hallazgos apoyan la importancia de la L - Arg en procesos como fertilidad, desarrollo neonatal, curación de heridas e integridad de los tejidos; incluso se ha informado que la metilación de L - Arg contribuye en la patogénesis de enfermedades pulmonares. Por otro lado, se ha demostrado una fuerte asociación de concentraciones bajas de L - Arg con la aparición y/o la gravedad de estados patológicos como quemaduras, trauma, sepsis, ictericia, obesidad, úlceras diabéticas en las extremidades inferiores y cáncer.<sup>359</sup> En 1980 Barbul y colaboradores informaron de los efectos inmunoestimulantes de suplementos con L - Arg al 1% en la dieta de ratas sometidas a estrés y lesiones tisulares;<sup>376</sup> a partir de entonces se publicó que existe una relación entre la

suplementación de L - Arg en la dieta y el aumento de la proliferación de linfocitos, la producción de citoquinas y anticuerpos y la activación de las células citotóxicas.<sup>377</sup> La L - Arg es el portador de nitrógeno más abundante, en parte por que contiene cuatro átomos de nitrógeno en su molécula y porque sirve como precursor para la síntesis del NO, la ornitina, urea, poliaminas, prolina, creatinina, agmatina, glutamato y proteínas.<sup>378</sup> (Figura nº12) Además es un activador alostérico de la N-acetilglutamato sintetasa para sintetizar N-acetil glutamato, un cofactor esencial para carbamil-fosfato sintasa I. La L - Arg parece desempeñar otras funciones fisiológicas importantes, como el mantenimiento de la respuesta inmune. Así mismo, este aminoácido es capaz de estimular la secreción de hormonas como la insulina, glucagón, catecolaminas, prolactina y la hormona del crecimiento.<sup>379</sup> Posee un papel importante como intermediario en el ciclo de la urea. La L - Arg puede ser sintetizada en el hígado mediante el ciclo de la ornitina o de la úrea; también en el riñón a partir de la citrulina procedente del intestino y de un donante de nitrógeno, que habitualmente es el ácido aspártico. El intestino delgado transforma los aminoácidos de la dieta, incluyendo la glutamina, prolina y glutamato a citrulina, y ésta a L - Arg, acción llevada a cabo por las enzimas argininosuccinato-sintetasa (ASS) y argininosuccinato-liasa (ASL); una vez producida, la L - Arg es liberada a la circulación y transportada a los tejidos para su metabolismo. Son cuatro las enzimas encargadas de su transformación en las células de los mamíferos:

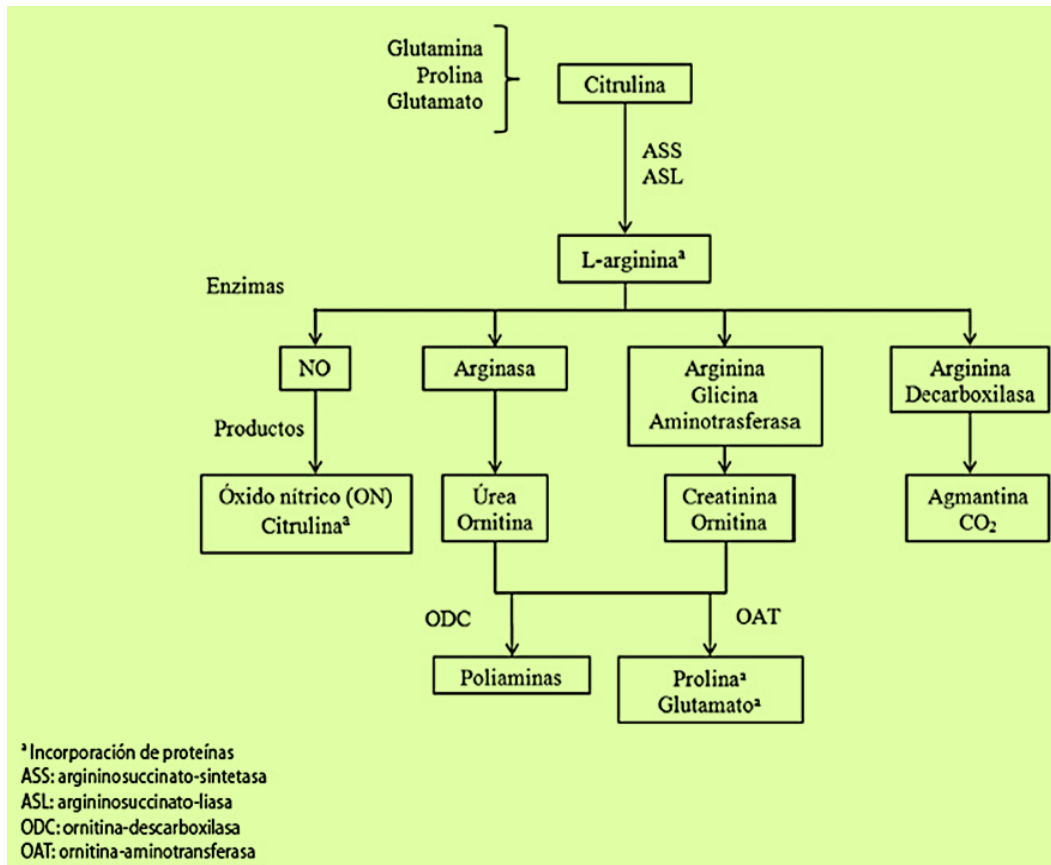
- 1) la óxido-nítrico-sintetasa (NOS),
- 2) la ARG (ARG),
- 3) la L - Arg-glicina-amidinotransferasa (AGAT) y
- 4) la L - Arg-decarboxilasa (ADC) (figura nº12).<sup>378, 380</sup>

Se describe otra vía de la L - Arg, el metabolismo de la L - Arg a agmatina por L - Arg descarboxilasa (ADC). Agmatina es una molécula antiproliferativa debido a sus efectos supresores sobre los niveles intracelulares de poliaminas, mientras que el metabolito aldehído de agmatina es un potente inhibidor de iNOS.<sup>380</sup>

La NOS y la ARG son las de mayor actividad enzimática y se encuentran en varias isoformas, cada una de ellas codificada por un gen distinto; de la NOS se conocen tres: una neuronal (nONS, ONS1), una inducible (iONS u ONS2) y una endotelial (eONS,

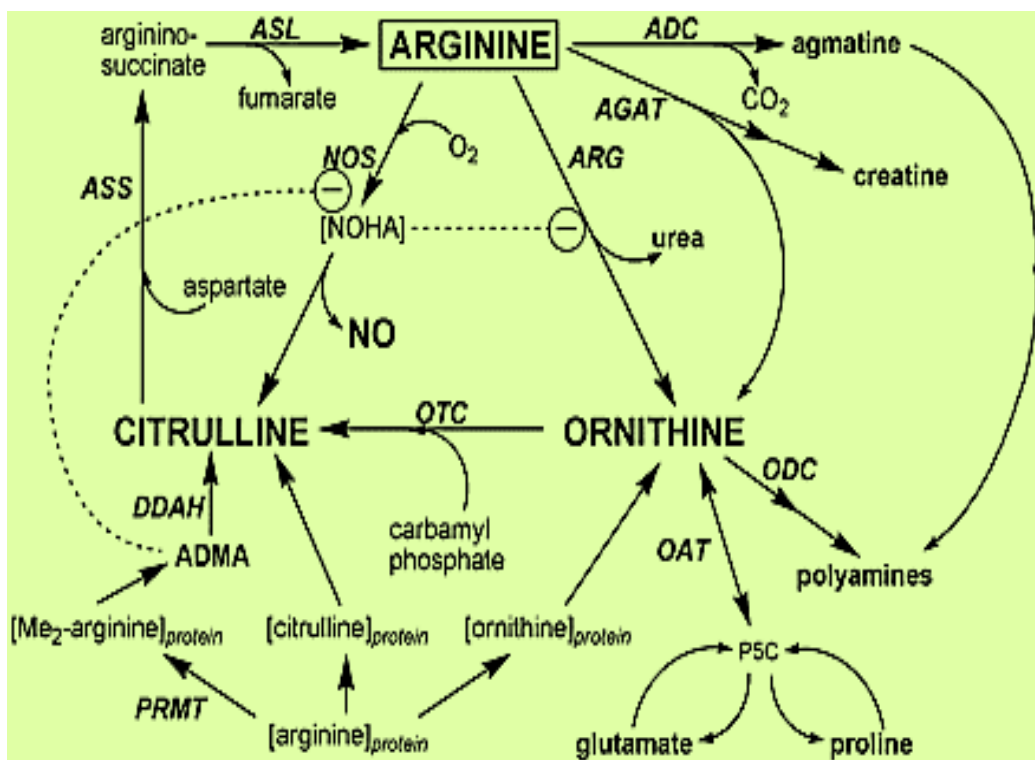
ONS3); la ARG, por su parte, presenta dos isoformas: la citosólica (ARG 1) y la mitocondrial (ARG 2), esta última expresada constitutivamente.<sup>375</sup> Hay 9 proteínas L - Arg metiltransferasas (PRMTs) codificadas en genomas de mamíferos, que catalizan tres tipos de metilación de L – Arg, una monometilación y dos tipos de dimetilación. La metilación de L - Arg es una modificación que ha sido implicada en la transducción de la señal, la transcripción de genes y la reparación del ADN entre otros. Los estudios han vinculado recientemente esta modificación a la carcinogénesis y metástasis.<sup>381</sup>

El importante papel de la L - Arg en la respuesta inmune no se da por acción directa, sino por efecto de los productos que se derivan de su catabolismo.



**Figura 12. Vías metabólicas de la L - Arg.** La NOS transforma la L - Arg en óxido nítrico (NO) y citrulina en los macrófagos, mientras que la ARG la transforma en úrea y ornitina (Morris SM Jr. Enzymes of arginine metabolism. J Nutr. 2004; 134 Suppl 10:S2743-7.117). La AGAT (L - Arg: Glicina Amidinotransferasa) transforma la L - Arg a creatinina y ornitina; a su vez la ODC (ornitina decarboxilasa) sintetiza poliaminas a partir de la ornitina y la OAT sintetiza prolina y glutamato a partir de ornitina. OAT (ornitina amino transferasa). La ADC (L - Arg decarboxilasa) sintetiza agmatina y CO<sub>2</sub> a partir de L - Arg.

La citrulina puede derivarse de múltiples fuentes: de la L - Arg por la actividad de la NOS; de la L - ornitina procedente del catabolismo de prolina o glutamina/glutamato; o por la hidrólisis de ADMA (dimetil - Arg asimétrica) por la ruta de la DDAH (dimetil - Arg-dimetil-amino-hidrolasa) (figura nº13). Otros tipos celulares además de las células renales pueden producir citrulina. La producción de L - Arg también puede ser inducida por citoquinas y otros agentes, a través de la ruta de la iNOS.<sup>173</sup> La L - Arg es el precursor inmediato de la urea.



**Figura 13. Metabolismo de la L - Arg.** ADC, L - Arg decarboxilasa; AGAT, L - Arg: glicina amidinotransferasa; ARG, ARG; ASL, argininosuccinate liasa; ASS, argininosuccinato sintetasa; DDAH, dimetil- Arg-dimetil -amino- hidrolasa; Me 2, dimetilo; OAT, ornitina aminotransferasa; ODC, ornitina descarboxilasa; OTC, ornitinatranscarbamilasa; P5C, L - $\Delta$  1 pirrolin-5-carboxilato de etilo; PRMT, proteína-L - Arg metiltransferasa. El metabolito P5C está en equilibrio químico con L -glutamate-  $\gamma$  - semialdehyde (no mostrado) a través de una reacción no enzimática espontánea.

1)- La L - Arg sirve como sustrato para la NOS en la producción de NO y citrulina.<sup>380</sup> La expresión de NOS está relacionada con distintos procesos infecciosos y con el funcionamiento del sistema inmune.<sup>353</sup> El NO sintetizado por iNOS se ha asociado principalmente con la actividad citotóxica y citostática de los macrófagos en respuesta a las células tumorales y a ciertos patógenos.<sup>10, 22, 354, 366</sup> La L - Arg es el sustrato único

para la producción de NO por todas las isoformas de la NOS, por lo que, la regulación de la disponibilidad de la L - Arg controla la producción de NO. Las enzimas NOS comparten dos dominios funcionales, un dominio oxigenasa amino terminal y un dominio reductasa carboxilo terminal. Los electrones donados por la conversión de NADPH a NADP se transfieren al dominio oxigenasa a través de una cadena redox que involucra los transportadores de electrones FAD y FMN. El dominio oxigenasa utiliza a su vez los cofactores hemo y BH<sub>4</sub> para catalizar la reacción entre el oxígeno (O<sub>2</sub>) y L - Arg, lo que genera L - citrulina y NO (figura n°13). La presencia de calmodulina es necesaria para la transferencia electrónica efectiva<sup>382</sup>

2)- Alternativamente, la ARG 1 y la ARG 2 metabolizan L - Arg a L - Ornitina y urea. Mientras que la ornitina, es la principal precursora de poliaminas a través de la ODC y prolina a través de la OAT (figura n°13); las poliaminas como la espermidina, la espermina y la putrescina, son pequeñas moléculas catiónicas que inician la reparación de los tejidos en la fase tardía de la respuesta inflamatoria al regular negativamente la liberación de citoquinas proinflamatorias, y promover la progresión del ciclo celular, el crecimiento celular y la homeostasis;<sup>366, 371, 383</sup> la L - prolina interviene en la síntesis de colágeno.<sup>18, 24, 354, 366</sup> La L - prolina es un aminoácido esencial para diversas estructuras protéicas, como la hélice del colágeno.<sup>384</sup> Por su parte, la citrulina con mediación de la enzima peptidil L - Arg-deaminasa puede influir en la inflamación y la carcinogénesis.<sup>385</sup> La asociación de la ARG con el sistema inmune fue descubierta hace más de 30 años cuando Kung y colaboradores demostraron que el agotamiento de L - Arg por la ARG de los macrófagos provocaba deficiencias en la producción de anticuerpos en linfocitos murinos<sup>386</sup>

3)- La AGAT, interviene en el primer paso de la síntesis de la creatinina, catalizando la transferencia de un grupo amino de la L - Arg a la glicina, para producir L - Ornitina y glicociamina (figura n°13). El catabolismo de L - Arg a través de AGAT está determinado por los niveles de creatinina en la dieta. La creatinina se encuentra en altas concentraciones en el músculo esquelético, el corazón, espermatozoides y células fotorreceptoras. En periodos de actividad alta en células musculares y del sistema nervioso, la creatinina actúa como tampón en el cambio de ADP/ATP.<sup>353</sup>

4)-La ADC es la enzima que cataliza la síntesis de agmatina a partir de L - Arg, liberando CO<sub>2</sub>. ADC convierte la L - Arg a agmatina, que a su vez se convierte en

putrescina y urea por la agmatinasa (figura nº13). En mamíferos, la ADC se encuentra en la membrana mitocondrial, y su actividad puede estar condicionada por los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  en la mitocondria. La importancia biológica de la ADC viene dada por la participación de la agmatina en procesos como la respuesta inflamatoria, la proliferación celular, (Figura nº14) la neurotransmisión y en la regulación de las funciones renales y gástricas <sup>353,387</sup>

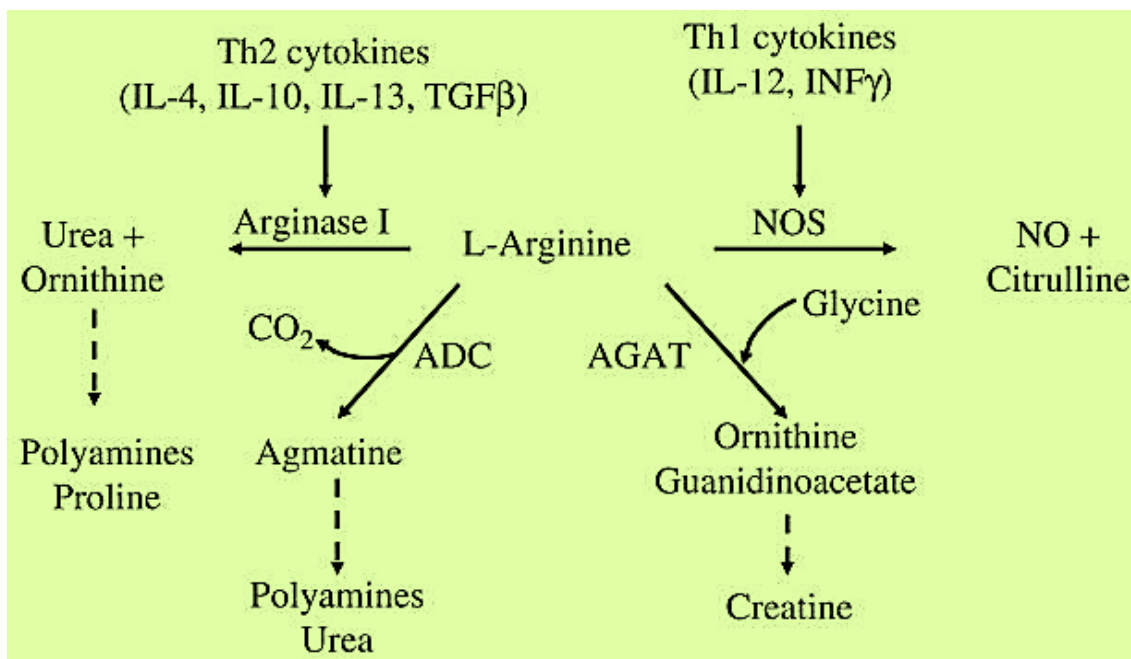


Figura 14. Respuesta Th1 y Th2. Metabolismo de la L - Arg. (NOS, ARG, AGAT y ADC)

## 5.2.La ARGINASA.

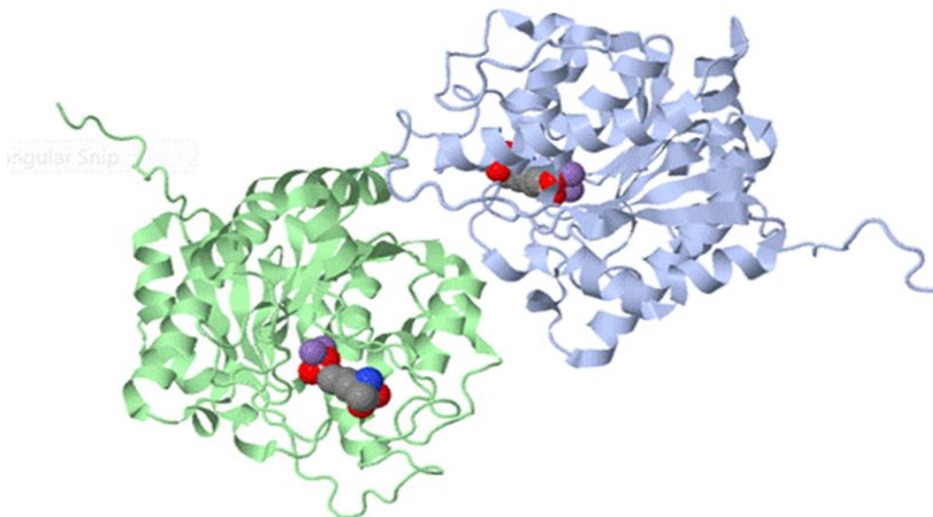
### 5.2.1. Introducción.

La Arginasa (ARG) fue descubierta en el tejido hepático de mamíferos por Kossel y Dakin en 1904. La enzima pertenece a la familia de las ureohidrolases. Estas proteínas juegan un papel importante en el metabolismo de la L - Arg, el ciclo de la urea, y otras vías similares. ARG ayuda específicamente en la eliminación de amoníaco del cuerpo y es crucial para la vida en todas las especies y por lo tanto pueden ocurrir problemas catastróficos si la proteína enzimática es deficiente en el organismo. ARG es un metaloenzima manganeso binuclear que hidroliza L - Arg para formar L - ornitina y urea. <sup>388</sup>



### 5.2.2. Estructuras y tipos.

La ARG es un metaloenzima cuya función primaria es catalizar la hidrólisis de L - Arg a L - ornitina (el precursor biosintético de la prolina y poliaminas) y Urea.<sup>4, 17, 18, 23, 25, 26, 35,354, 355,366, 389-391</sup> El manganeso  $2^{+}$  es el activador más común de la ARG, aunque el requisito de catión divalente para algunas formas de la proteína han sido satisfechas por el cobalto, el níquel y el hierro.<sup>391</sup> ARG tiene dos subunidades, el pliegue de cada subunidad se compone de un paralelo ocho  $\beta$ , cadena bordeada a ambos lados por varios  $\alpha$  -hélices. Cada subunidad contiene un centro de manganeso binuclear que es un aspecto crucial para la actividad catalítica correcta del enzima (Figura n°15).



**Figura 15. Estructura de la ARG.**

ARG es una enzima conocida como constitutiva y por lo tanto siempre está presente en el organismo. Es el enzima central del ciclo de la urea hepática (ciclo de Krebs-Henseleit) y comprende la ruta principal para la eliminación del exceso de nitrógeno resultante del metabolismo de aminoácidos y nucleótidos.<sup>391, 392</sup> En el músculo, los aminoácidos pueden ser metabolizados en glucosa, utilizados en la síntesis de ácidos grasos, o catabolizados para generar ATP para obtener energía. El exceso de aminoácidos se convierte fácilmente a glutamato en las células musculares. El glutamato se transforma en alanina por la alanina aminotransferasa. De esta forma, la

molécula puede viajar fácilmente hacia el hígado para su posterior procesamiento en este ciclo complicado. Los aminoácidos pueden entrar en el ciclo para la síntesis de urea a través de una de dos vías: transdeaminación o transaminación.

La transdeaminación:

Alanina, desde el músculo, se convierte de nuevo a glutamato antes de hidrolizarse a N-acetilglutamato. N-acetilglutamato reacciona con amoniaco en una reacción catalizada por carbamil fosfato sintetasa para formar carbamil fosfato. Carbamil fosfato reacciona con ornitina creando así citrulina. La citrulina se convierte a continuación en argininosuccinato por una reacción catalizada por una aspartato sintetasa. La argininosuccinatoliasa convierte argininosuccinato a L -Arg (figura nº16).

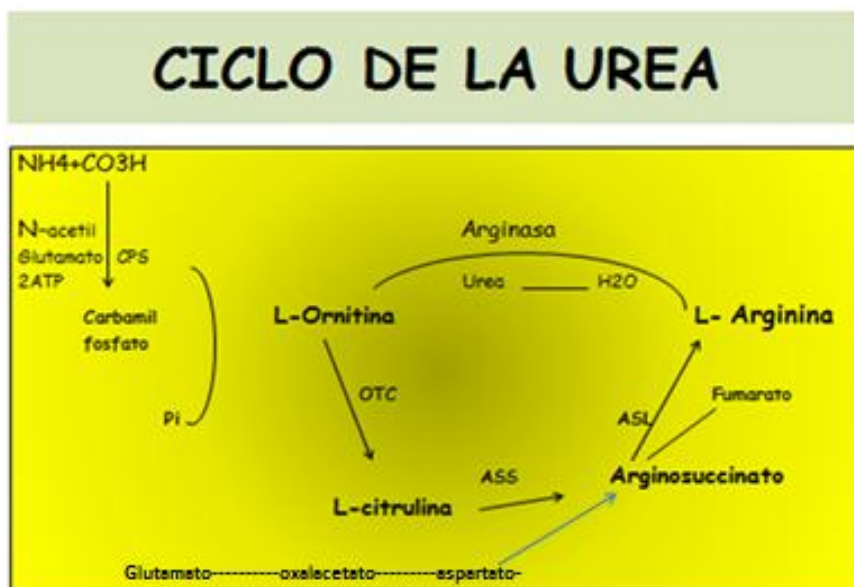


Figura 16. El ciclo de la urea.

Transaminación:

Si los aminoácidos entran en el ciclo a través de transaminación a continuación, glutamato y oxaloacetato reaccionan para formar aspartato. Esta reacción es catalizada por la aspartato aminotransferasas. El aspartato sigue la misma vía formando arginosuccinato y después L – Arg (figura nº16).

La ARG fue detectada en células mononucleares humanas (la ARG I, PI3K / PTEN-regulada actúa como un regulador de la inflamación y la inmunidad)<sup>393</sup> y se encuentra

en células inflamatorias del lavado broncoalveolar de pacientes asmáticos<sup>394</sup> o en lesiones de pacientes con psoriasis.<sup>395</sup> En el sistema murino la enzima no se expresa en los leucocitos sin estimular, pero es inducible en todas las células mieloides principales por la estimulación Th2. Encontramos que la actividad ARG no está presente en monocitos humanos, macrófagos y células dendríticas en reposo, o activadas in vitro por una variedad de estímulos proinflamatorios y antiinflamatorios. La actividad ARG del leucocito se localiza principalmente, si no exclusivamente, en PMNs. Los PMNs humanos en reposo muestran alta actividad ARG constitutiva (media 1644 mU/mg proteína), que es de la misma magnitud que la de los macrófagos murinos estimulados con citoquinas Th2 o en células dendríticas y hepatocitos humanos. Esa actividad ARG en PMNs humanos es sólo debido a la ARG 1 y se demuestra que no se produce un aumento compensatorio de ARG 2, como se describe para el tejido renal de pacientes con hiperargininemia, o de ratón.<sup>396</sup> La ARG está presente casi exclusivamente en los gránulos azurófilos de PMNs humanos.<sup>396, 397</sup>

Estos resultados explicaban la falta de degradación de L - Arg constitutiva por los PMNs humanos porque el contenido de los gránulos azurófilos de los PMNs en reposo se mantiene separado del medio extracelular para proteger la célula. La función de los gránulos azurófilos del neutrófilo, que contienen un gran número de enzimas proteolíticos y microbicidas, es principalmente que se fusionen con el fagosoma durante la fagocitosis; a raíz de la fusión, el contenido de los gránulos entra en el fagosoma y mata los microorganismos invasores. Aunque recientemente se ha demostrado que se agota la L - Arg del fagosoma de los PMNs humanos durante la fagocitosis demostrando que ARG está presente en dichos gránulos azurófilos y en el fagosoma durante la fagocitosis. ARG participa en la actividad fungicida de los PMNs humanos; mientras la apoptosis de PMNs humanos degrada los componentes tóxicos del gránulo de una manera altamente regulada, esto podría no ser el caso bajo condiciones de inflamación crónica o necrosis. Presumimos que una liberación disregularizada de ARG en el microambiente local agota L - Arg y participa en la inmunosupresión local a través de la falta de respuesta de la célula T o en la fibrosis a través de la síntesis aumentada de prolina.<sup>396</sup>

Se han identificado dos isoformas de la ARG (ARG 1 y ARG 2) en los mamíferos; ellas catalizan la misma reacción bioquímica (metabolizan L - Arg a ornitina y urea),

(figura nº17) pero difieren en la expresión celular, distribución tisular, regulación, reactividad inmunológica y localización subcelular.<sup>18, 26, 391</sup> (Tabla nº1)

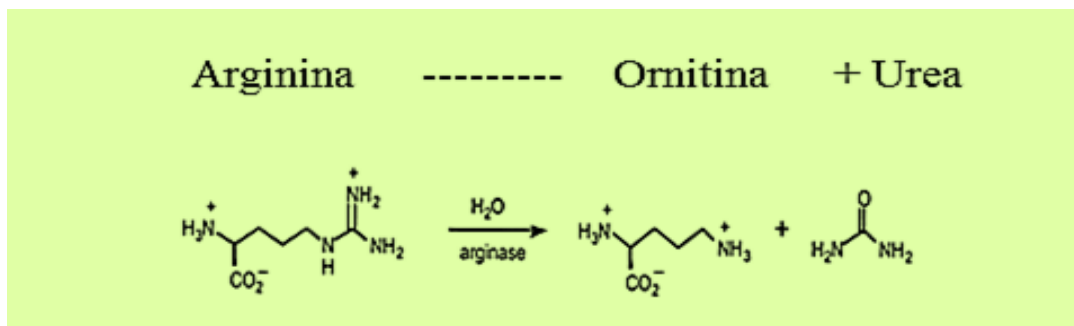


Figura 17. Reacción de la ARG.

Tabla 1. Isoformas de las dos principales vías de metabolización de la ARG.

Enzima	¿Dónde se expresa?	¿Qué lo induce?
ARG 1	Enzima citosólica, hígado.	Citocinas perfil Th 2
ARG 2	Enzima mitocondrial, se expresa principalmente en tejidos de riñón, cerebro, intestino delgado, glándulas mamarias.	Se expresa constitutivamente
NOS 1	Tejido neuronal	Se expresa constitutivamente en niveles bajos
NOS 2	Inducible en macrófagos y otras células	LPS y citocinas Th 1
NOS 3	Endotelial	Se expresa constitutivamente en niveles bajos

–La ARG 1, ureahidrolasa L - Arg, también llamada ARG hepática, citosólica.<sup>390</sup> (Tabla nº1) ARG 1 es un componente importante del ciclo de la urea y se encuentra localizada en el citoplasma de hepatocitos, donde se expresa constitutivamente, eritrocitos, y en gránulos de neutrófilos y macrófagos; <sup>26, 388</sup> constituye la mayoría de la actividad total de la ARG del cuerpo; ARG Humana 1 es una proteína de 322 amino ácidos y demuestra 58% de identidad de secuencia con la ARG 2 humana. El gen que codifica la ARG 1 está en el cromosoma 6q23. Principalmente elimina nitrógeno formado durante el ciclo de la urea. Su expresión es inducida en las células mieloides (macrófagos, células dendríticas y granulocitos) por la exposición a las citoquinas IL-4, IL-10 o la IL-

13 y el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) que corresponde a un perfil de citoquinas y linfocitos T-helper 2, (Th2)<sup>396, 398-402</sup> que inhiben la expresión de la iNOS, asociado a disfunción celular inmune.

La expresión de iNOS en esas células es inducida por la IL-1, IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ , un perfil de citoquinas y linfocitos T-helper 1, (Th1)<sup>18, 27, 396, 398, 399</sup> que inhibe la actividad de ARG 1, asociado con competencia celular inmune e inflamación.<sup>27, 354</sup> (Figura nº18) La ARG 1 se expresa preferentemente en MDSC infiltrantes de tumores, que inhibe la función de las células T y representa un posible mecanismo de evasión del tumor.<sup>403</sup> La inhibición de ARG 1 conduce a un aumento de la expresión NOS2 y como consecuencia promueve la producción de NO.<sup>404-406</sup> Por el contrario, la regulación positiva de ARG 1 inhibe la actividad de NOS2 y contribuye a la fisiopatología de varias enfermedades, incluyendo la disfunción vascular y el asma.<sup>407</sup> El mecanismo de inhibición de la expresión de NOS2 por ARG 1 parece estar mediado por el agotamiento de L - Arg que bloquea la traducción de NOS2. Además, los bajos niveles de NO inducen nitrosilación de los residuos de cisteína de ARG 1, aumentando la actividad biológica de ARG 1, disminuyendo aún más L - Arg.<sup>408</sup>

Dentro del sistema inmunológico humano ARG 1 sólo se expresa constitutivamente en los granulocitos (leucocitos polimorfonucleares [PMNs]),<sup>396</sup> cuantitativamente la subpoblación más grande de células mieloides. Mollinedo et al<sup>396</sup> demostraron que en los PMNs humanos la enzima no es citosólica sino que se localiza en los gránulos azurófilos. El factor de transcripción más importante para la ARG 1 es la señal transductora y activadora de la transcripción STAT6.<sup>398</sup> Pero se podía requerir STAT1 para la inducción de la expresión de ARG 1 y de NOS2. La inducción de la expresión de ARG 1 en varios sistemas biológicos está estrechamente unido a la regulación de los transportadores de membrana de L - Arg, indicando que forman una unidad funcional; los macrófagos peritoneales estimulados con IL-4 más IL-13 aumentan la expresión de ARG 1<sup>403</sup> y del transportador de aminoácidos catiónicos 2B (CAT-2B), lo que resulta en un rápido aumento en la captación extra-celular de L - Arg con la consiguiente reducción de L - Arg en el microambiente. En contraste, los macrófagos estimulados con IFN- $\gamma$  preferentemente expresan NOS2, no aumentan CAT-2B, y no agotan L - Arg del microambiente.<sup>371, 403</sup> Datos recientes de ARG 1 y ARG 2 confirman que sólo ARG 1 es capaz de reducir los niveles séricos de L - Arg.<sup>409</sup> Del mismo modo, los experimentos de cultivos *in vitro* mostraron que sólo los macrófagos que producían

ARG 1, pero no los que expresan NOS2, causaban la pérdida prolongada de CD3 $\zeta$  e inhibición de la proliferación de células T. La adición de los inhibidores de la ARG o L - Arg exógena revierten la pérdida de CD3 $\zeta$  y restablecen la proliferación de la célula T.<sup>371</sup>

Los CAT2A, CAT2B, CAT3 y CAT4 de ratón son proteínas integrales de membrana que transfieren L - Arg, L - lisina y L - ornitina a través de una vía que es independiente de pH; los CATs bombean L - Arg desde el compartimento extracelular al compartimento intracelular; la unidad funcional ARG-CAT que es activada en las MSC (células supresoras mieloides) es uno de los principales consumidores de L - Arg.<sup>354</sup> (niveles séricos normales de L - Arg son de 95-250 $\mu$ M/L).<sup>354</sup>

-La ARG 2, también llamada ARG extrahepática, es una proteína localizada en la mitocondria<sup>396</sup> de varios tipos celulares como las células renales, cardíacas, células endoteliales vasculares;<sup>410</sup> próstata, neuronas, macrófagos, linfocitos, enterocitos y glándula mamaria.(Tabla nº1) El gen que codifica la ARG 2 está en el cromosoma 14q24.1-24.3. Prácticamente se encarga de la regulación de la homeostasis de la L - Arg y producción de ornitina para la síntesis de poliaminas y prolina. La ARG 2 se expresa constitutivamente y juega un papel importante en la síntesis de L - prolina, debido a su proximidad con la OAT también localizada en la mitocondria. Las poliaminas son pequeñas moléculas catiónicas que participan en una gran variedad de funciones celulares como proliferación y transporte en la membrana celular. Un poco más tarde de su activación los macrófagos inducen la formación de poliaminas y ornitina a partir de L - Arg, vía ARG 2; esto induce la producción de colágeno por los fibroblastos y la cicatrización del tejido dañado. El bloqueo del TGF- $\beta$  disminuye significativamente el crecimiento del tumor a través de muchos mecanismos, incluyendo la activación de células T CD8<sup>+</sup> y macrófagos. Se muestra que el bloqueo de TGF- $\beta$  también aumenta quimioquinas que atraen neutrófilos resultando en la afluencia de CD11b<sup>+</sup> / Ly6G<sup>+</sup>, neutrófilos asociados a tumores (TAN) que son hipersegmentados, más citotóxicos para las células tumorales, y expresan niveles más altos de citoquinas pro-inflamatorias.<sup>35</sup> ARG 2 expresada constitutivamente en PMNs humanos no es inducida por citoquinas Th1 ni Th2.<sup>371</sup>

Estudios recientes indican que ARG 1 (ARG hepática citosólica) y ARG 2 (ARG renal mitocondrial) también se expresan en los vasos sanguíneos, como arteria aorta, arteria

carótida, arteria pulmonar, arteria coronaria.<sup>391</sup> También se ha informado que la administración intravenosa de ARG ejerce efectos significativos en la circulación, lo que sugiere un papel clave de esta proteína en la función vascular. Se ha implicado a la ARG en la regulación de la síntesis de NO y en el desarrollo de la enfermedad vascular.<sup>26</sup> Actor clave del sistema inmune de los mamíferos, está implicada en varios aspectos de la inflamación.<sup>4, 16-25</sup> La interferencia farmacológica con la ARG específicamente y con el metabolismo de la L - Arg en general representa una gran expectativa para el tratamiento del cáncer, autoinmunidad y la inmunosupresión no deseada en la medicina clínica.<sup>18</sup>

### **5.2.3. Consecuencias de las alteraciones en los niveles de ARG**

#### **5.2.3.1. Altas concentraciones**

Se ha encontrado que los desequilibrios de los niveles de ARG en el organismo pueden inducir enfermedad vascular, enfermedad pulmonar, enfermedad infecciosa, alteración de la función inmune, y cáncer. La sobreexpresión de ARG se ha encontrado que afecta al NO, urea, ornitina y proteínas.<sup>404</sup>

- Si el nivel de ARG es muy superior al de L - Arg, la síntesis de NO podría estar disminuida.<sup>404</sup> El NO es vasodilatador, por eso es importante en la regulación de la tensión arterial; es más, su déficit podría conducir a hipertensión pulmonar. Esto podría provocar un aumento o disminución del CAT-1<sup>404</sup> que promueve la captación de L - Arg en el organismo. Si el nivel de L - Arg es demasiado alto, entonces uno podría sufrir hiperargininemia. Se puede producir aumento o disminución de iNOS, que puede reaccionar fácilmente con el oxígeno y superóxido y crear peroxinitrito.<sup>411</sup> Reacciones peroxinitrito a menudo pueden conducir a citotoxicidad celular. Si iNOS está ausente del organismo, el individuo es a menudo susceptible a infecciones.<sup>412</sup>

El NO tiene importancia en la neurotransmisión cerebral y neurotoxicidad, en el sistema nervioso periférico autónomo, en la relajación muscular, en el sistema inmunológico y en la erección del pene. Se ha encontrado que inhibe la adhesión, activación y agregación de plaquetas. Los bajos niveles de NO pueden inducir piloroespasmo en la estenosis hipertrófica de píloro infantil.<sup>412</sup>

- Aumenta los niveles de urea. Los niveles altos de urea en sangre están asociados con preeclampsia y aumentan la probabilidad de que la activación urea-dependiente de ARG

pueda causar hipertensión pulmonar.<sup>404</sup> Las altas concentraciones de urea producen hiperamonemia.

•Aumento de los niveles de ornitina, precursora de poliaminas y prolina. En las células endoteliales, una sobre-expresión de tanto ARG 1 como ARG 2 puede promover la síntesis de poliaminas, la producción de células, la síntesis de prolina y puede iniciar o progresar la hiperplasia de la íntima después de una lesión vascular.<sup>404</sup>

Condiciones patológicas en las que ARG está elevada en humanos son:

-Hipertensión arterial, edad, I/R,<sup>413</sup> diabetes.<sup>414</sup>

-Anemia de células falciformes.<sup>415-420</sup>

-Malaria.

-Fibrosis quística.<sup>421, 422</sup> Al aumentar la ARG disminuye el NO y puede intervenir en la patogénesis de la fibrosis quística.

-Asma.<sup>418, 423</sup> El asma es un trastorno inflamatorio crónico de las vías respiratorias en el que están involucradas muchas células y elementos celulares. La inflamación de las vías respiratorias se asocia con un aumento de la expresión de iNOS. Esto aumenta la producción de NO y niveles más altos de NO en el aire exhalado. La ARG modula la actividad de NOS y proporciona un precursor de poliaminas y prolina. Por lo tanto, ARG también podría estar implicada en la remodelación de las vías respiratorias inducida por la inflamación en el asma crónico.<sup>423</sup> Alta actividad de ARG inducida por la IL-4 e IL-13 en pacientes con asma puede contribuir a niveles circulantes bajos de L - Arg, limitando de este modo la biodisponibilidad de L - Arg para eNOS y nNOS creando un déficit de NO que induce hiperreactividad de vías respiratorias.<sup>424</sup> Por lo que niveles séricos elevados de ARG 1 en pacientes asmáticos, pueden estar asociados con inflamación de vías respiratorias en el asma no atópico.<sup>425</sup>

-Disfunción eréctil del paciente diabético.<sup>426</sup> Los inhibidores de ARG aumentan la función eréctil. Recientemente, se encontró que los cuerpos cavernosos de pacientes diabéticos tienen expresión de ARG más alta, disminución de la síntesis de NO y reducción de la relajación del músculo liso.<sup>427</sup>

-Glomerulonefritis.

-IAM.

-Psoriasis.<sup>428</sup> Hay sobreexpresión de ARG 1 en la epidermis hiperproliferativa de pacientes con psoriasis. En la dermatitis atópica de pacientes pediátricos la actividad ARG estaba disminuida en los granulocitos y a nivel plasmático; por diferentes mecanismos se produce NO a partir de L - Arg que suprime ARG y afecta a la



hidratación de la piel, síntesis de colágeno, (al no producirse poliaminas) y cicatrización de las heridas.<sup>429</sup>

-Artritis reumatoide.<sup>430</sup> La ARG 2 está aumentada en la artritis reumatoide. En las células donde están aumentadas ambas, ARG 2 y NOS, ocurre una regulación recíproca de modo que los agentes que inducen ARG 2 en células sinoviales disminuyen la expresión de NO y aumenta la proliferación celular y regeneración tisular.

-Transplante hepático.<sup>431, 432</sup> La lesión por I/R hepática está relacionada con la depleción profunda de L - Arg debido a la liberación de ARG de los hepatocitos lesionados. El bloqueo de ARG con el uso del inhibidor de ARG nor-NOHA representa una nueva estrategia para combatir la lesión por I/R asociada con el transplante hepático.

### **5.2.3.2. Bajas concentraciones**

Un déficit de ARG está típicamente presente desde el nacimiento y puede ser potencialmente mortal. La ausencia del gen que controla la prevalencia de ARG en el organismo conduce a un crecimiento lento durante la primera infancia (típicamente entre el nacimiento y los tres años de edad), al desarrollo de espasticidad, desarrollo cognitivo limitado, e hiperamonemia episódica. La hipoargininemia puede ser controlada mediante la utilización de agentes farmacológicos tales como el benzoato de sodio o fenilbutirato de sodio para eliminar el exceso de nitrógeno del cuerpo y reducir las concentraciones plasmáticas de amoníaco. Además, las deficiencias de ARG no controladas pueden progresar para producir “espasticidad severa, pérdida de la deambulación, pérdida completa del control del intestino y la vejiga, y la discapacidad intelectual grave”. Además, las convulsiones ocurren con frecuencia entre las personas con déficit de ARG.

La insuficiencia de L - Arg no sólo puede activar la ruta de la quinasa que afecta la función de los linfocitos T, sino que también puede inhibir la proteína de señalización de la quinasa activada por mitógeno requerida para la producción de citoquinas de los macrófagos en respuesta a la endotoxina / LPS bacteriano.<sup>415</sup> Hay por lo menos dos grandes categorías de síndromes de déficit de L - Arg, que implican ya sea disfunción de la célula T o disfunción endotelial, dependiendo del contexto de la enfermedad en la que se produce el déficit de L - Arg.

## 5.2.4. Funciones de la ARG.

La ARG (último enzima del ciclo de la urea en el hígado) está implicada en funciones tan importantes como:

### 5.2.4.1. Hidrólisis de L – Arg.

Hidrólisis de L - Arg a L - Ornitina y urea, (figura nº17)<sup>4, 17, 18, 23, 25, 26, 35, 354, 366, 389, 390, 391</sup> detoxificación de amonio, síntesis de poliaminas, síntesis de prolina,<sup>24</sup> y síntesis de glutamatos (aminoácidos que forman parte del metabolismo del NO, importantes en el sistema nervioso y también como sustrato en la síntesis de proteínas). La ARG compite con la NOS<sup>17, 19, 35, 389</sup> por la L - Arg lo que indica su participación en la regulación de la síntesis de NO.<sup>24</sup>

### 5.2.4.2. Regulación de la función inmune.

La ARG y la L - Arg participan en la regulación de la función inmune. Desde su descubrimiento, L - Arg es un aminoácido importante en la modulación de muchas funciones metabólicas, representa la mayor fuente de urea en el organismo, es necesaria para la síntesis de colágeno en la cicatrización de las heridas, modifica la inducción y desarrollo de tumores malignos a través de sus efectos sobre el sistema inmune, tiene capacidad de estimular la respuesta del timo, además favorece la liberación de diferentes hormonas, como la hormona del crecimiento, la insulina, el glucagón, la somatostatina, las catecolaminas, la aldosterona y la vasopresina.<sup>353</sup> El uso de L - Arg como inmunonutriente puede mejorar la respuesta de las células T y aumentar la fagocitosis.<sup>433</sup> En pacientes operados de cáncer, suplementos de L - Arg, aumentan la respuesta de los linfocitos T a fitohemaglutinina y concanavalina A, e incrementan el número de células T - CD4. La L - Arg modula la respuesta inflamatoria e inmunológica.<sup>354, 355, 357, 366, 371, 434-436</sup> A pesar de que se ha evidenciado una mejoría clínica en pacientes quirúrgicos, el beneficio para pacientes en unidades de cuidado crítico con respuesta inflamatoria sistémica, sepsis o fallo orgánico es menos claro.<sup>353, 437</sup> Estudios clínicos han descrito que la ingesta de L - Arg previene daños en el timo después de cirugías mayores, además de incrementar el número de células T circulantes. La suplementación dietética con L - Arg en adultos y en modelos animales mejora la inmunocompetencia, aumentando la producción de NO, la fagocitosis en neutrófilos y la adhesión en PMNs.<sup>353, 379, 438, 439</sup> A pesar de que en pacientes con diversos

traumatismos, quemaduras y pacientes quirúrgicos no sépticos se ha demostrado la utilidad de la administración de L - Arg, en pacientes críticamente enfermos no quirúrgicos, con shock séptico o fallo multiorgánico puede resultar en un aumento de la mortalidad.<sup>353, 440-442</sup> ADMA y L - Arg están aumentados en pacientes con sepsis y fallo hepático convirtiéndose así en predictores de supervivencia.<sup>442</sup>

La asociación de ARG con el sistema inmune fue descubierta hace más de 30 años cuando Kung y colaboradores demostraron que el agotamiento de L - Arg por la ARG de los macrófagos provocaba deficiencias en la producción de anticuerpos en linfocitos murinos.<sup>353, 386</sup> Munn et al describieron que el metabolismo del triptófano por los macrófagos producía indolaminas que inhibían la proliferación de la célula T; este grupo también sugirió que la deprivación de triptófano inducía el paro del ciclo celular del linfocito T normal. Por tanto los aminoácidos esenciales, como L - Arg, parecen inducir cambios en la célula T que inhiben su proliferación. Las funciones biológicas de L - Arg pueden extenderse más allá de sus funciones nutricionales básicas, por ejemplo, la L - Arg mejora las defensas del organismo contra el carcinoma gástrico al aumentar la IgA, IgM, CD4 + y el cociente CD4/CD8. L - Arg podría aumentar los niveles de hidroxiprolina y proteínas totales, mejorar la reacción linfocitaria y aumentar los niveles séricos de factor de crecimiento insulina-like (IGF-1). El déficit de L - Arg induce disfunción de las células T y podría modular las propiedades de las células NK que participan en la defensa del huésped contra las infecciones y tumores. Por lo tanto la disponibilidad de L - Arg modula las propiedades fenotípicas y funcionales de las células NK.

Basado en una serie de ensayos en animales y humanos, se vió que los mecanismos básicos de L - Arg en la regulación inmune podían tener una estrecha relación con el papel de la NOS y el NO.

El destino metabólico de la L - Arg en el sistema inmune está determinado por el estado de activación de las células T y el patrón de expresión de las citoquinas en el proceso inflamatorio. Por ejemplo, la L - Arg mediante su catabolismo puede intervenir en el SIRS a través de dos mecanismos básicos: (i) la producción de NO en los macrófagos por la ruta inducible;<sup>16, 26, 410</sup> (ii) y la utilización de L - Arg por parte de las células T para su activación y proliferación.<sup>443</sup> El papel de la ARG de los macrófagos en la inflamación también se demuestra claramente por el hecho de que la ARG murina es

inducible por macromoléculas derivadas de patógenos tales como LPS o lipoproteínas.<sup>410</sup> Se planteó la hipótesis de que la enzima causalmente podría estar implicada en la patogénesis de enfermedades debido a la supresión de la citotoxicidad mediada por NO, a través del consumo de L - Arg, aumento de la síntesis de colágeno y fibrosis a través de la generación de prolina y aumento de la proliferación celular a través de la generación de poliaminas. Consecutivamente, la expresión de ARG se analizó en varios modelos de enfermedad. In vivo, la enzima se demostró en células inflamatorias murinas en la glomerulonefritis experimental,<sup>23, 444</sup> la esquistosomiasis, la tripanosomiasis, la leishmaniosis, encefalomiелitis autoinmune, asma, varias infecciones bacterianas y víricas,<sup>445</sup> fibrosis pulmonar, sepsis, traumatismo<sup>446</sup> y tumores.<sup>447-449</sup>

El metabolismo de L - Arg en macrófagos se ha utilizado como un parámetro importante para discriminar entre su activación clásica o alterna (figura nº18). El IFN- $\gamma$ , una citoquina del tipo Th1, induce la activación clásica de los macrófagos incrementando la liberación de NO por medio de la actividad de NOS2 e inhibe la secreción de IL-4 ó IL-10 que modulan la actividad de la ARG 1. La activación alterna de los macrófagos es regulada por citoquinas del tipo Th2 como IL-4, IL-10 e IL-13, las cuales inhiben la actividad de NOS2 e inducen la síntesis de ARG 1.<sup>18, 383, 400, 401</sup> Kung y colaboradores observaron que en cultivos de leucocitos murinos, la adición de macrófagos peritoneales que sobre-expresan ARG, suprimía la generación de linfocitos citotóxicos, posiblemente por el agotamiento de L - Arg en el medio de cultivo.<sup>386</sup> La primera evidencia de la participación de ARG 1 en la respuesta citotóxica de los macrófagos murinos fue en 1978, donde se informó que macrófagos activados con LPS inhibían la proliferación facilitando la muerte celular en varias líneas tumorales de diferentes especies (rata, raton, hamster y humanos), que se restablecía añadiendo L - Arg a los cultivos. En contraste con el amplio conocimiento sobre el metabolismo de L - Arg y ARG 1 en el sistema inmune murino, el papel de ARG 1 en la regulación del sistema inmune humano no esta del todo esclarecido y su importancia comienza a despertar el interés de muchos grupos de investigación.

En las células del sistema inmune la expresión de ARG 1 juega un papel importante en la regulación de infecciones, por ejemplo en macrófagos la ARG 1 participa en la regulación de las infecciones por esquistosomiasis y leishmaniosis.<sup>402, 450</sup> En neutrófilos humanos, ARG 1 se almacena en gránulos intracelulares.<sup>396</sup> y parece intervenir en un mecanismo antimicrobiano novedoso, independiente de oxígeno; cuando los gránulos

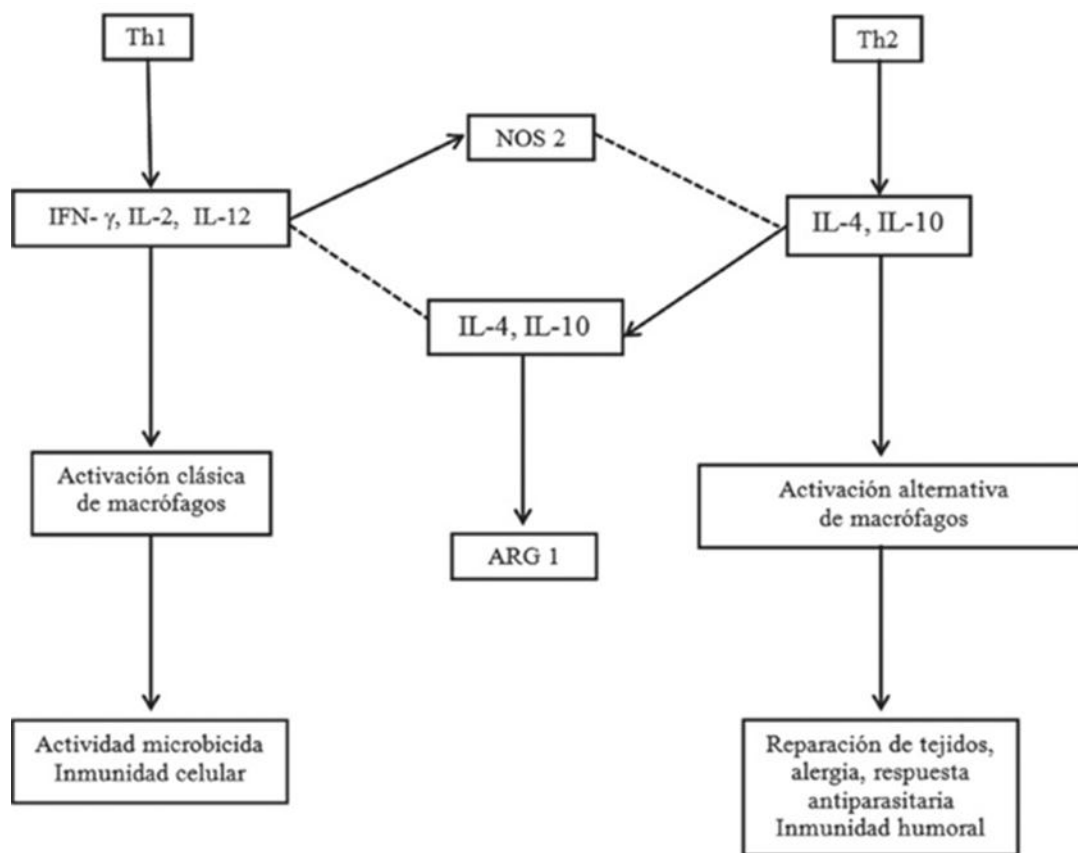
azurófilos se fusionan con los fagosomas, ARG 1 agota la L - Arg disponible, impidiendo la duplicación de microorganismos como *Candida Albicans*. Posteriormente Jacobsen et al <sup>451</sup> revelaron que ARG 1 estaba localizada en gránulos gelatinasa (gránulos terciarios) de los neutrófilos humanos en lugar de los gránulos azurófilos (gránulos primarios o peroxidasa positivos).

En cuanto a la participación de ARG y L - Arg en la función inmune hemos de tener en cuenta varios conceptos: <sup>371</sup>

1 -) Los macrófagos estimulados por la vía alterna, con la IL-4 más IL-13 inducen un aumento de la expresión de ARG 1, pero no de ARG 2 o iNOS, disminución de los niveles extracelulares de L - Arg y una rápida disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  en las células Jurkat. En contraste, los macrófagos estimulados con INF- $\gamma$  (activación clásica) aumentan la expresión de la iNOS y aumentan la producción de NO, disminuyendo la expresión de ARG 1 sin alterar la expresión de CD3 $\zeta$ .<sup>371</sup> (Figura nº18)

2 -) La ARG 1 disminuye L - Arg e induce una baja expresión de CD3 $\zeta$ . En los linfocitos T humanos la ausencia de L - Arg afecta la re-expresión de la cadena CD3 $\zeta$  por el bloqueo de su síntesis. La adición de inhibidores de ARG (NOHA o Nor-NOHA), o el exceso de L - Arg en los cultivos previene parcialmente la reducción de L - Arg en los medios de cultivo de los macrófagos estimulados por IL-4 más IL-13. Lo que sucedía al añadir esos inhibidores o L - Arg exógena era un ciclo normal de internalización y re-expresión de CD3 $\zeta$  en las células T. En contraste la L-NIL, inhibidor de la iNOS, no previene la baja expresión prolongada de CD3 $\zeta$ . La catalasa no previene el descenso de CD3 $\zeta$  en las células T inducidas por los macrófagos estimulados por la IL-4 más IL-13.

3 -) La ARG 1 disminuye L - Arg, disminuye la expresión de CD3 $\zeta$  y altera la proliferación de las células T. <sup>355, 443, 452-454</sup> La baja expresión de la cadena CD3 $\zeta$  no puede explicar por sí sola la disminución de la proliferación de los linfocitos T. Hace unos años Ochoa et al analizaron la influencia de la disminución de L - Arg en la función de los linfocitos T humanos y encontraron que, la ausencia de L - Arg induce una disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  en células Jurkat; la ausencia de L - Arg conduce a una disminución en la expresión de CD3 mRNA. Por lo tanto, la deficiencia de L - Arg altera selectivamente la expresión de ciertas proteínas esenciales para la activación de células T.



**Figura 18. Acción de los perfiles de citoquinas Th1 y Th2 sobre el tipo de metabolismo de L – Arg y su relación con la activación de los macrófagos y el tipo de respuesta inmune en murinos. Las líneas discontinuas indican inhibición.**

La disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  se ve pronto, a las 2 h, seguido por una caída más significativa después de 24 h de inanición de L - Arg. Los mecanismos que median la disminución inicial en CD3 $\zeta$  (primeras 2 h) no están claros, pero no parecen estar asociados con una disminución en la expresión de ARN, ya que los cambios iniciales en los niveles de CD3mRNA sólo se ven en 4 h. La disminución consistente en CD3mRNA es más probable que esté asociada con la segunda y más profunda disminución de la proteína CD3 $\zeta$  visto a las 24 h, ya que el tiempo medio de transcripción para CD3 $\zeta$  es de alrededor de 16 h.

Los inhibidores NOHA y Nor-NOHA bloquean la actividad intracelular de la ARG.

4 -) Los macrófagos estimulados con IL-4 más IL-13 regulan la expresión del CAT-2B, no inducen la expresión del CAT-1 ni del CAT-2A. El CAT-1, CAT-2B y el CAT-3 son transportadores de alta afinidad de L - Arg.<sup>455, 456</sup>

5 -) El CAT-2A es una variante del CAT-2B que posee baja afinidad para L - Arg. Los autores sugieren un posible papel del CAT-2B en la regulación de L - Arg extracelular y en la expresión de CD3 $\zeta$ , puesto que los inhibidores de CAT-2B, análogos de L - Arg y L - lisina permitían la re-expresión de CD3 $\zeta$  en las células T cultivadas con PM activados con IL-4 más IL-13. La ASEI/CAT-2B aumenta la captación de L - Arg por los macrófagos, disminuyendo los niveles de L - Arg en los cultivos de los macrófagos estimulados con IL-4 más IL-13 (el aumento de la captación de L - Arg por los macrófagos y la disminución de L - Arg extracelular coincidió con un aumento de la expresión del CAT-2B m RNA).<sup>371</sup> La regulación inmune por el metabolismo de L - Arg requiere que la célula T sea activada a través del receptor de célula T, con el fin que sea susceptible a estos circuitos inhibitorios. El crecimiento tumoral se asocia a menudo con una alteración del metabolismo del aminoácido L – Arg por las enzimas NOS y la ARG. Los datos experimentales obtenidos indican que cuando cualquiera de las dos enzimas son activas, el efecto neto sobre los linfocitos T se puede atribuir a la detención del ciclo celular mientras que la activación concomitante de ambas enzimas en el mismo entorno puede conducir a la muerte de las células T por apoptosis .<sup>457</sup>

### **-La ARG: una vía inmunosupresora endógena.**

La ARG interviene en el desarrollo de enfermedades neoplásicas, ACV, traumatismo, inflamación y depresión. Durante la última década, la expresión de ARG y el agotamiento de L - Arg han demostrado ser una poderosa ruta inmunosupresora en mamíferos.<sup>18, 354, 371, 390</sup> Rodríguez et al,<sup>355</sup> estudiaron el efecto de la disminución de la concentración extracelular de L - Arg en células T humanas. La ausencia de L - Arg induce la regulación negativa de la cadena CD3 $\zeta$  del complejo TCR/CD3, un componente crítico en la señalización y activación de células T.<sup>355, 375</sup> La carencia de L - Arg induce un arresto en fase G0-G1 del ciclo celular de las células T,<sup>16, 356, 458, 459</sup> asociado a una regulación negativa de la ciclina D3 y la CDk4.<sup>353, 357, 460</sup> El silenciamiento de la expresión de la proteína Hur afectaba significativamente la estabilidad de la ciclina D3 mRNA. La privación de L - Arg inhibió la expresión de la

proteína Hur a través de un paro en la síntesis de proteínas, pero no afectó a la expresión del ARNm.<sup>460</sup>

La ARG se ha demostrado participar en la disfunción inmune desencadenada por la inflamación.<sup>18, 461</sup> La inmunosupresión inducida por la inflamación ha evolucionado como un mecanismo homeostático para evitar la destrucción de tejido excesivo durante la inflamación,<sup>358</sup> pero podría ser perjudicial en situaciones de infección-inflamación asociados al tumor al impedir la destrucción de los microorganismos relevantes o la inhibición de la citotoxicidad tumoral. Los macrófagos murinos expresan ARG 1 después de la estimulación Th2 y esto también conduce al agotamiento de L - Arg extracelular y como consecuencia a la baja expresión de CD3ζ del TCR/CD3 en las células T activadas.<sup>371, 401, 462, 463</sup> La falta de respuesta de las células T asociado a la baja expresión del CD3ζ del TCR/CD3 puede ser debido a mecanismos transcripcionales, postranscripcionales<sup>355</sup> o postraduccionales.<sup>352</sup>

En los seres humanos la inmunosupresión asociada con la baja expresión de la cadena CD3ζ del TCR/CD3 es un hallazgo recurrente en pacientes con cáncer, autoinmunidad o infecciones crónicas.<sup>358, 359</sup> La integridad del TCR/CD3 es vital para la inducción de respuestas inmunes óptimas y eficientes, incluida la eliminación de rutina de los patógenos invasores y la eliminación de células modificadas y moléculas. De las subunidades del TCR/CD3 la cadena CD3ζ tiene un papel clave en el montaje del receptor, la expresión y la señalización.<sup>358</sup>

El mecanismo(s) y las células que inducen el fenotipo observado de las células T y/o la inmunosupresión asociada in vivo son en gran parte desconocidos. Como constituyente intracelular ARG se libera, al morir los PMN, al medio extracelular y consume L - Arg; surgió la hipótesis de que la activación de las células T debe ser mitigada con la liberación de la ARG de los PMN. En el medio extracelular se agota L - Arg; dentro de este medio empobrecido en L - Arg los linfocitos T permanecen viables, pero se detiene la proliferación y secreción de citoquinas mientras que la transcripción inducida por la activación del TCR/CD3 por citoquinas, se mantiene intacta.<sup>25</sup> El exudado purulento humano contiene cantidades muy altas de ARG 1 que se libera de los PMN, lo que conduce al agotamiento de L - Arg y como consecuencia a la supresión de la célula T.<sup>25</sup>

Pero ¿de qué manera el agotamiento de L - Arg se traduce en la supresión de las células T? La regulación de la expresión génica mediante la disponibilidad de aminoácidos es



un mecanismo regulador fundamental en eucariotas inferiores; en las levaduras la privación de aminoácidos induce el acúmulo de tRNA no cargado que conduce a la fosforilación de eIF2 $\alpha$ ; como consecuencia se deteriora la síntesis de la subunidad 43S previo a la iniciación del complejo (Met-tRNA, GTP, eIF2) y se inhibe la traducción de proteínas. En contraste se ve aumentada la traducción del factor de transcripción GCN4 y resulta en la inducción de más de 30 genes en múltiples vías biosintéticas. La privación de aminoácidos por lo tanto, no reprime la traducción de proteínas, pero interfiere específicamente con los programas de activación celular seleccionados a través de una respuesta de control general. Por otra parte con la abstinencia de aminoácidos son regulados diversos factores de transcripción (ATF2, ATF4, CHOP), y la vía m-TOR p70S6 Kinase se embota en diferentes tipos de células de mamíferos.<sup>464</sup> (TOR objetivo de la rapamicina, se ha convertido en un importante efector de crecimiento y proliferación celular a través de la regulación de la síntesis de proteínas. TOR controla la síntesis de proteínas). Este agotamiento de aminoácidos inhibe finalmente la progresión a través del ciclo celular de diversos tipos de células de mamífero. La especificidad de la respuesta a la retirada de aminoácidos está al menos parcialmente mediada a través de AARE en la región promotora de ciertos factores de transcripción. En los macrófagos murinos la inducción de ARG 1 a través de la IL-13 conduce al agotamiento intracelular y extracelular de L - Arg y esto inhibe la traducción de iNOS; este efecto inhibitorio parece ser específico puesto que la síntesis total de proteínas no se altera y la síntesis de la citoquina proinflamatoria TNF- $\alpha$  no está deteriorada. La traducción de la iNOS también se inhibe en los astrocitos por el agotamiento de la L - Arg a través de la activación de la GCN2K y aumento de la fosforilación del eIF2 $\alpha$ . La inducción de proteínas transportadoras de aminoácidos (por ejemplo CAT-1, CAT-2) es un probable mecanismo compensatorio en el agotamiento intracelular de aminoácidos. En linfocitos T murinos se demostró que la supresión de la proliferación de las células T con el agotamiento de L-triptófano, a través de la IDO, está mediada por la activación de la quinasa GCN2 con la inducción consecutiva del factor de transcripción CHOP. No está claro hasta el momento si los linfocitos T humanos utilizan este antiguo sistema de detección de nutrientes para regular su programa de activación.

Por tanto el metabolismo de L - Arg por iNOS o ARG depende del estado inmune del paciente.<sup>27</sup> El déficit de L - Arg podría conducir a la supresión de la proliferación de los

linfocitos T (inmunosupresión)<sup>18, 354</sup> por una parte y por otra, mejorar la eliminación de células malignas, parásitos y virus.<sup>18</sup> Se vió que los macrófagos murinos podían expresar iNOS tras ser estimulados por citoquinas o productos microbianos; los macrófagos activados consumen L - Arg, la convierten a NO, L - citrulina y especies reactivas de nitrógeno, y este es el mecanismo principal de actividad citostática o citotóxica de los macrófagos frente a bacterias, virus, hongos, parásitos y células tumorales.<sup>465</sup>

La NOHA (N<sup>G</sup> Hidroxi L - Arg), ha demostrado inhibir la actividad ARG de los macrófagos aumentando de esta forma la disponibilidad de L - Arg para la producción de NO. La citoquina IL-21 actúa como amplificador de la inducción de ARG mediada por la activación de células con citoquinas Th2 mediante el aumento de la expresión de las cadenas de la IL-4 R $\alpha$  e IL-13 R $\alpha$ 1 en los macrófagos murinos. Recientemente, la inducción de ARG 1 en los macrófagos murinos por lipoproteínas oxidadas y acetiladas demostró que conecta la activación alterna de macrófagos y un fenotipo inflamatorio con el metabolismo de lípidos y la arterioesclerosis vascular.

Las células mieloides ejercen varias acciones sobre la respuesta inmune a través de mecanismos que aprovechan mediadores como la L - Arg o sus metabolitos NO y poliaminas. En varias situaciones como enfermedades autoinmunes, neoplasias, reparación de lesiones e infecciones se ve como el metabolismo de L - Arg es capaz de jugar un papel doble, como un activo protector y como una amenaza posible.<sup>375</sup>

La hipótesis que se plantea es si la citrulina puede sustituir a L - Arg en condiciones de aumento de la expresión de ARG. Las células T muestran aumento de la capacidad de transporte de membrana de citrulina y de la regulación de su expresión, mostrando así los mecanismos necesarios para la conversión de citrulina en L - Arg y escapar de los efectos nocivos del agotamiento de L - Arg. Por lo tanto, la citrulina tiene el potencial de ser un sustituto para suplementar L - Arg en enfermedades asociadas con el aumento de ARG que media la disfunción de células T.<sup>372</sup> Aunque esta vía proporciona un mecanismo para mejorar la generación de L - Arg necesaria para la producción de NO en condiciones de disponibilidad limitada de L - Arg, no puede mantener tasas máximas de síntesis de NO.<sup>466, 467</sup>

La disfunción de la célula T en la enfermedad inflamatoria crónica y siguiendo a la lesión física (traumatismo o cirugía), está asociada con la actividad aumentada de ARG de los granulocitos.<sup>4, 18, 25</sup>

La expresión de ARG 1 se encuentra altamente inducida en enfermedades que implican un mal funcionamiento del sistema inmune como la glomerulonefritis, en la epidermis de pacientes con psoriasis hiperproliferativo, en pacientes con distintas formas de artritis, en el suero de pacientes con asma crónico, en monocitos activados de pacientes con enfermedades autoinmunes y en células mononucleares de pacientes con tuberculosis pulmonar activa. Todas ellas enfermedades en las que el sistema inmune juega un papel fundamental.<sup>353,430, 468-470</sup>

ARG se ha demostrado ser responsable o participar en, la respuesta inmune del embarazo y en la inmunosupresión de la transfusión de concentrados de hematíes almacenados; en la disfunción inmune desencadenada por la inflamación,<sup>4, 18, 25, 436</sup> traumatismo y cirugía,<sup>4, 18, 25</sup> la inmunosupresión e inmunopatología de enfermedades infecciosas y sepsis,<sup>18, 354</sup> escape inmune del tumor, fibrosis,<sup>354</sup> disfunción endotelial, cáncer, disfunción del músculo liso, IAM, en la inmunología del trasplante de cornea (ARG 1 previene el rechazo del trasplante de córnea al suprimir la respuesta inmune; al administrar nor-NOHA, inhibidor competitivo de ARG, se aceleró el rechazo del trasplante).

- **Embarazo.**

Se requiere una regulación compleja de las funciones de las células T para asegurar la tolerancia materno-fetal. En la glándula mamaria lactante, la actividad ARG se eleva alrededor de un 25% de la que se encuentra en el hígado, con el fin de suministrar la prolina requerida para la biosíntesis de proteínas de la leche. La ornitina también es un precursor biosintético de poliaminas, y la ARG miometrial aumenta su actividad unas 25 veces durante el embarazo para suministrar al feto poliaminas para facilitar la proliferación celular.<sup>391</sup> En el embarazo, la supresión de la respuesta inmune debido a un déficit de L - Arg por un aumento de ARG puede ser beneficioso. En mujeres embarazadas la actividad ARG en sangre periférica y en la placenta es elevada, esta actividad disminuye los niveles de L - Arg en el microambiente fetal lo que contribuye a la supresión temporal de la respuesta inmune materna y al aumento de la producción de poliaminas necesarias para el desarrollo embrionario.<sup>415, 471</sup>

La falta de respuesta de las células T, mediado por ARG,<sup>471</sup> está involucrado en la represión de la respuesta inmune de la madre contra el feto,<sup>18</sup> pero el aumento excesivo de ARG plasmática, en el embarazo a término, puede contribuir al desarrollo de preeclampsia.<sup>415</sup> Según Kroft et al<sup>471</sup> la disminución local de los niveles de L - Arg, amortiguan la invasión de células T por la regulación negativa del CD3 $\zeta$ .<sup>462</sup> Es importante destacar que esta supresión de células T mediada por ARG es reversible, restaurando la expresión de la cadena $\zeta$  del CD3 y proliferación de células T con la inhibición de la actividad ARG o adicción exógena de L - Arg.<sup>471</sup>

- **Transfusión.**

Los eritrocitos humanos expresan eNOS, así como la ARG 1.<sup>416, 472</sup> En los concentrados de hematíes, la ruptura de los eritrocitos aumenta con el tiempo de almacenamiento. Esto permite la liberación de ARG de los hematíes, la cual disminuye los niveles de L - Arg en el suero de pacientes transfundidos causando inmunodepresión.<sup>383, 473</sup>

Por lo tanto, el aumento de la hemólisis puede ser un aspecto importante en la transfusión de sangre, lo que conduce a niveles elevados de ARG y eNOS; se encontró un aumento, estadísticamente significativo, en la hemólisis y en la actividad ARG libre a lo largo del tiempo de almacenamiento de las bolsas. Un número creciente de informes sugieren que la transfusión de sangre humana almacenada puede estar asociada con resultados clínicos adversos, incluyendo transmisión de infecciones y la recurrencia y progresión del tumor,<sup>383, 474</sup> lo que, en algunos estudios, se ha encontrado ser más frecuente a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento.<sup>383, 475</sup> En un análisis retrospectivo Saager<sup>476</sup> vió sobre un gran número de pacientes, que la duración del almacenamiento de los eritrocitos no se asociaba con un aumento de la mortalidad en pacientes quirúrgicos no cardíacos. Los efectos perjudiciales propuestos del almacenamiento prolongado de la sangre se han atribuido en parte a la hemólisis de los eritrocitos, lo que conduce a un aumento de la oxihemoglobina, de la concentración de NO y ARG 1. De hecho, el nivel de hemoglobina en el sobrenadante de la bolsa de almacenamiento se encontró que era mayor después de 40 días que después de 3 días de almacenamiento, lo que indica una mayor hemólisis, y la transfusión de concentrados de hematíes de 40 días se sugirió recientemente llevar una mayor producción de NO a partir de la eNOS, como un mecanismo de compensación para la biodisponibilidad reducida de NO causada por compactación de NO por la oxihemoglobina del plasma. La

NOS y la ARG 1 usan L - Arg como sustrato común y la presencia de niveles aumentados de estas enzimas podría conducir al agotamiento de L - Arg y sus consiguientes efectos fisiológicos, incluyendo la inhibición de la función de las células T.<sup>477</sup> Debido a que la transfusión de leucocitos contaminantes se considera ahora ser potencialmente dañina, la reducción de leucocitos por la extracción de las células blancas de la sangre antes de la transfusión, ha sido incorporada en la práctica de la mayoría de los centros médicos de todo el mundo. Debe tenerse en cuenta que los neutrófilos, expresan grandes cantidades de ARG<sup>396</sup> e incluso pequeña contaminación de las bolsas de sangre de hematíes empaquetados por los neutrófilos podría, por lo tanto, producir niveles significativos de actividad ARG, aparte de la que se deriva de los propios glóbulos rojos. Esta es una posible explicación del mayor aumento del nivel ARG. Por lo tanto, los altos niveles de ARG tras la transfusión de sangre almacenada podría ser la base de muchos de los resultados nocivos, como la inmunosupresión;<sup>471</sup> aunque ARG tiene una vida media corta de sólo unas pocas horas en la sangre humana, podría actuar en etapas tempranas de la inmunosupresión. El hallazgo de niveles elevados de ARG libre en sangre almacenada durante largos periodos de tiempo podría tener implicaciones para los pacientes en los que la inmunosupresión es un reto importante. Regulaciones actuales de la FDA permiten la transfusión de concentrados de hematíes almacenados hasta por 42 días. Sin embargo, los datos llaman la atención sobre el hecho de que los niveles de aumento de ARG libre en unidades de glóbulos rojos empaquetados ocurren con el aumento del tiempo de almacenamiento, lo que podría ser una preocupación<sup>475</sup> cuando la transfusión se realiza a pacientes con cáncer, que están inmunodeprimidos, dados los efectos adversos potenciales.<sup>475</sup> Prins<sup>478</sup> confirmó que ARG puede desempeñar un papel importante en la supresión inmunitaria observada después de la transfusión de sangre.<sup>479</sup>

- **Inflamación.**

En condiciones normales L - Arg de las células endoteliales es convertida por la eNOS a NO y L - citrulina.<sup>26-28</sup> En condiciones inflamatorias-sépticas hay un descenso significativo de las concentraciones de L - Arg, debido a un aumento de ARG 1<sup>23</sup> y un aumento de iNOS<sup>366, 415</sup> en los macrófagos dando como resultado una disminución significativa de las concentraciones de L - Arg para eNOS, afectando la disponibilidad de NO derivado de eNOS en la microvasculatura<sup>22, 26, 29, 30, 404</sup> lo que resulta en

disfunción endotelial.<sup>31, 32</sup> El descenso o supresión de la actividad ARG 1 intensifica la producción de NO. La microcirculación, presenta varios cambios funcionales y estructurales característicos en respuesta a la inflamación. Estos incluyen la disfunción vasomotora (alteración de la dilatación y constricción de los vasos), la adherencia y la migración transendotelial de leucocitos, disfunción de la barrera endotelial (aumento de la permeabilidad vascular), proliferación de vasos sanguíneos (angiogénesis), y aumento de la formación de trombos. Estas respuestas de la microvasculatura reflejan en gran medida la disfunción de la célula endotelial que acompaña a la inflamación y el papel central de estas células en la modulación de procesos tan variados como la regulación del flujo sanguíneo, la angiogénesis y la trombogénesis. La importancia de las células endoteliales en la disfunción vascular inducida por la inflamación también se basa en la capacidad de estas células para producir y responder a las ROS y de nitrógeno. La inflamación parece alterar el equilibrio entre el NO y superóxido dentro y alrededor de las células endoteliales, que es necesario para la función normal del vaso. Las ROS y de nitrógeno contribuyen de manera significativa a las diversas respuestas vasculares dadas en la inflamación.<sup>31</sup> La reducción de la actividad ARG 1 en ratones resultó en un aumento de la respuesta pro-inflamatoria y la producción de NO por iNOS, acompañado por un flujo microcirculatorio deprimido durante la endotoxemia. Por lo tanto, el déficit de ARG 1 facilita una actividad pro-inflamatoria mediada por iNOS a expensas de la relajación endotelial mediada por eNOS.<sup>16</sup>

La alta actividad de ARG en los lugares con inflamación, podría limitar la producción de NO, y generar poliaminas y prolina esenciales para la producción y proliferación celular.<sup>23, 24</sup>

La producción de NO a partir de la L - Arg por la NOS juega un papel crítico en la homeostasis vascular. La pérdida de NO está unida a niveles aumentados de ARG en las células endoteliales intestinales expuestas a inflamación crónica. El NO está disminuido en la enfermedad inflamatoria intestinal (Colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). La pérdida de NO puede deberse a un aumento de la actividad ARG que compite con la NOS por la L - Arg.<sup>17, 389</sup>

Había un aumento de actividad ARG y un aumento de la actividad del inhibidor de la producción de NO, inhibidor RhoA, en las células endoteliales de los vasos intestinales en la enfermedad inflamatoria intestinal.<sup>20</sup>

El papel de ARG en la inflamación también se demuestra por el hecho que ARG es inducible por macromoléculas derivadas de patógenos como el LPS o lipoproteínas, por una amplia gama de estímulos inflamatorios y en los macrófagos alveolares de rata por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

La afectación hepática secundaria a un estado inflamatorio severo provoca la liberación de ARG 1 que compite con la iNOS por la L - Arg, <sup>17</sup> disminuyendo la actividad de iNOS. <sup>389</sup> En los estados inflamatorios hay una competición entre ARG y NOS por la L - Arg; <sup>480</sup> los patógenos pueden disminuir la L - Arg, como estrategia de supervivencia, usando su propia ARG o ARGs del huésped y disminuir así también el NO. <sup>354, 481</sup>

La ARG 1 es liberada de los PMN humanos y se acumula en grandes cantidades a nivel extracelular durante la reacción inflamatoria purulenta; esta ARG 1 induce una profunda supresión de la proliferación de los linfocitos T y síntesis de citoquinas y esto se ha convertido en un mecanismo de inmunosupresión asociado a la inflamación. <sup>18, 25</sup> Por tanto ARG de los PMN constituye un mecanismo inmunoregulator que limita la activación inmune excesiva. Este papel antiinflamatorio de ARG de los PMN apoya el concepto de que los PMN no son sólo elementos celulares proinflamatorios sino que también contribuyen a la resolución de la inflamación. Una de las principales características de la disfunción inmune mediada por la inflamación, es un deterioro profundo de la célula T. En ratones portadores de tumores, las células mieloides inmaduras GR-1 positivas (células supresoras mieloides MSC), activadas por un mecanismo que es total o parcialmente debido al metabolismo de L - Arg por ARG, se expanden e inhiben la función de las células T. Si se inhibe la actividad de la ARG asociado a las células mieloides murinas, la disfunción inmunológica asociada al tumor es abolida y la citotoxicidad tumoral se restaura. En las células humanas ARG está presente en los PMN, monocitos, macrófagos y células dendríticas. Durante las reacciones inflamatorias mueren los PMN y liberan ARG 1, que aumenta principalmente durante las primeras 24-48 horas, que agota L - Arg extracelular, lo que suprime la traducción de iNOS; esta privación de L - Arg induce una supresión profunda de diversas funciones de la célula T, no altera la apoptosis o muerte celular, altera la activación de la célula T, disminuye la liberación de INF- $\gamma$  por parte de la célula T humana. Las células T suprimidas permanecen viables, disminuyen la cadena CD3 $\zeta$  lo que compromete la señalización de la célula T de forma eficiente; <sup>25</sup> El déficit de L - Arg, debido al enzima ARG, inhibe la proliferación y función de los linfocitos T

activados efectores. Feldmeyer et al <sup>435</sup> demostraron la alteración de la defosforilación de la cofilina en los linfocitos T humanos activados debido al agotamiento de L - Arg mediado por ARG. Por tanto la proteína cofilina es un regulador de la activación de los linfocitos T en situación de déficit de L - Arg de origen inflamatorio. El mecanismo intracelular <sup>435</sup> que media esta supresión de los linfocitos T humanos reveló que la afectación de la defosforilación de la proteína cofilina, proteína de unión a la actina, en ausencia de L - Arg, se correlaciona con la alteración de la polimerización de la actina y un acúmulo de CD2 y CD3 alterados en la sinapsis de la célula presentadora del antígeno al linfocito T. La síntesis de citoquinas es regulada de otra forma en los linfocitos T en ausencia de L - Arg; mientras la producción de IFN- $\gamma$  se reduce de forma severa, los linfocitos T producen otras citoquinas como la IL-2 independientemente de la L - Arg extracelular.

- **Traumatismo y cirugía.**

El traumatismo y cirugía están asociados con un descenso de la producción de NO y de los metabolitos del NO, un aumento de la actividad y expresión de ARG 1 <sup>458, 482, 483</sup> en las células del sistema inmune y un estado de inmunosupresión caracterizado por un perfil de células Th2 <sup>390</sup> asociado a disfunción celular inmune; además disminuye la L - Arg, disminuye la citrulina y aumenta la ornitina. Este aumento de la actividad ARG 1 aparece de forma temprana en las primeras 12 horas después de la cirugía y persiste a lo largo de su estancia en la UCI; los niveles de ornitina disminuyen en la fase temprana después de la lesión, pero se recuperan hacia el 3º día del postoperatorio. <sup>390</sup> Para Tsuei et al <sup>482</sup> el aumento de ARG 1 se hace evidente a las 6 horas de la cirugía y puede contribuir a la disfunción inmune postquirúrgica al afectar el uso de L - Arg y la disponibilidad y metabolismo del NO en el sistema inmune.

La activación del sistema HPA y SAS con la liberación de cortisol y catecolaminas parece ser el responsable de la alteración del equilibrio Th1/Th2. <sup>483</sup> La disminución de la expresión y la señalización de la IL-12 y la expresión aumentada de células Treg parecen jugar un papel central en la mediación de esta depresión inmune.

Los datos recientes condujeron a la identificación de un nuevo mecanismo de supresión de las células T causado por el agotamiento de L - Arg a través de la inducción de ARG - 1 en un grupo especializado de células mieloides inmaduras, ahora llamadas células



supresoras de origen mieloide (MDSCs). Además de la disfunción de células T, el agotamiento de L - Arg conduce a la disminución de NO.

Un componente importante de la inmunidad alterada después de la cirugía o el traumatismo es la función alterada del linfocito T. El estado de disfunción inmune después del traumatismo o cirugía existe, comprobado por un descenso de la reactividad de los linfocitos T a los mitógenos, descenso de la producción de INF e IL-2 así como un aumento de la producción de IL-4, IL-10 y TGF- $\beta$ . Dietas inmunomoduladores (IMD) que contienen suplementos de L - Arg y ácidos grasos  $\omega$  - 3 se han demostrado para restablecer el equilibrio Th1/Th2 después de un traumatismo quirúrgico y para reducir el riesgo de complicaciones infecciosas. Los suplementos con L - Arg a los pacientes quirúrgicos se ha visto que mejoran la función de los linfocitos T, al mejorar la función inmunológica.

En una revisión de 35 ensayos clínicos aleatorios publicados por Loehe <sup>484, 485</sup> se evidencia que el uso perioperatorio de dietas y suplementos que contienen L - Arg y también ácidos grasos  $\omega$  - 3 para cirugía electiva reduce las tasas postoperatorias de infección y la duración de la estancia hospitalaria. Aunque no se proporcionaron datos sobre los niveles plasmáticos de ARG o L - Arg para los ensayos clínicos, los autores especularon que los suplementos de L - Arg tenían efectos beneficiosos al superar el déficit de L - Arg que probablemente se produjo después de la cirugía. <sup>485</sup>

Sabemos que los pacientes quirúrgicos y víctimas de traumatismo son tan susceptibles a la infección porque su sistema inmune está afectado significativamente. La disfunción de las células T aumenta la susceptibilidad a la infección y a la insuficiencia de órganos después de un traumatismo o cirugía. Esto coincide con una caída persistente en la disponibilidad de L - Arg, un aminoácido necesario para la función normal de las células T.

El aumento de la actividad ARG se correlacionó con la severidad de la cirugía, con los niveles elevados de forma temprana de lactato, que se sabe que son predictores independientes de pronóstico y con el aumento de los niveles circulantes de IL-10. <sup>390</sup> El aumento de la actividad ARG se asoció con un aumento en la duración de la estancia hospitalaria; <sup>390</sup> el aumento de la actividad ARG en las MNC puede ser un marcador de gravedad de enfermedad o predictor de resultado. <sup>390</sup>

La expresión CD3 $\zeta$  disminuida en las células T en estos pacientes podría ser debido a la mayor producción de ARG 1 24 horas después de la cirugía. Este aumento en la producción de ARG 1 después de la cirugía puede ser debido a la activación de los neutrófilos (que contienen ARG). Estos hallazgos podrían ser la base del estado de inmunosupresión que ocurre después de la cirugía y podrían desempeñar un papel importante en el escape del tumor y en la aparición de metástasis a largo plazo después de la cirugía.<sup>463</sup>

El traumatismo causa liberación de catecolaminas, TGF- $\beta$  y citoquinas Th2. Individualmente el isoproterenol y las citoquinas Th2 inducen ARG 1 en los macrófagos. El isoproterenol tiene un efecto sinérgico con la IL-4, IL-13 y TGF- $\beta$  para aumentar ARG 1 en los macrófagos; el isoproterenol tiene un efecto sinérgico con la IL-10 para aumentar ARG 2.<sup>400</sup> El bloqueo del receptor  $\beta$ -adrenérgico revierte el desplazamiento de Th1 a Th2 y los datos preliminares sugieren que esta terapia puede ser beneficiosa.<sup>486</sup> En los seres humanos, el aumento de expresión de ARG 1 después de un traumatismo, dentro de las MNC, parece ser exclusivamente el resultado de un aumento del número de granulocitos activados CD16.<sup>487</sup>

- **Sepsis.**

En condiciones de sepsis hay aumento de la actividad ARG 1,<sup>1, 4, 16-25, 389</sup> un descenso significativo de las concentraciones de L - Arg para la eNOS y un aumento de la iNOS en los macrófagos, aumentando por ello el NO.<sup>366, 415</sup> La inflamación se caracteriza por una afectación de la eNOS y disminución de la biodisponibilidad de NO endotelial derivado de ella.<sup>26, 404</sup> La sepsis es una condición grave en pacientes en estado crítico y se considera un estado de deficiencia de L - Arg.<sup>29</sup> El aumento de la producción de NO, en la sepsis, se relaciona con efectos perjudiciales como inestabilidad hemodinámica y mayor estrés oxidativo.<sup>29</sup> La endotoxina induce la iNOS y ARG 1.<sup>354</sup>

-La activación de la cascada proinflamatoria después de la infección, cirugía mayor, quemaduras o traumatismo parece ser importante en el desarrollo de la disfunción inmune posterior, la susceptibilidad a la sepsis y el fallo multiorgánico. En los pacientes con sepsis grave, la respuesta inmune predominante es la inmunidad humoral (anticuerpos) mediada por citoquinas Th2. La modulación del subconjunto de células Th predominante puede presentarse como una opción terapéutica en el tratamiento de la sepsis grave.<sup>486</sup> Hay por lo menos dos grandes categorías de síndromes de deficiencia

de L - Arg, que implican ya sea disfunción de células T o disfunción endotelial, dependiendo del contexto de la enfermedad en la que se produce.<sup>415</sup>

-La inflamación sistémica grave se asocia a menudo con disfunción hepática. La ARG 1 se libera del hepatocito en respuesta a un estímulo inflamatorio. Se confirmó que ARG1 suprime la actividad iNOS en las células intestinales en su mayor parte por el agotamiento de los niveles de L - Arg necesaria para la dimerización de iNOS. La competencia entre NOS y ARG-1 por L - Arg ha sido informado en varios estados inflamatorios. Se ha propuesto que las bacterias y otros parásitos pueden agotar L - Arg como estrategia de supervivencia mediante el uso de su propia ARG o acogiendo otras ARGs, disminuyendo así la producción de NO.<sup>354</sup> Durante la inflamación sistémica las células epiteliales intestinales inmunoestimuladas expresan iNOS produciendo cantidades significativas de NO, que dilata las arterias intestinales aumentando el flujo microcirculatorio; pero cantidades excesivas de NO han sido implicadas en la disminución de la función barrera de la mucosa. Por tanto ARG 1 preserva la función barrera del epitelio al disminuir la actividad de iNOS y la producción de NO.<sup>389</sup>

-En infecciones bacterianas agudas o parasitarias el NO, producido por NOS2, es un factor de resistencia producido por el huésped para luchar contra los patógenos. Así en modelos de infección de *Candida albicans*, *T. cruzi* y *Schistosoma* se demostró en fase aguda de la infección, la existencia de un mecanismo inducido por la secreción de INF- $\gamma$  que facilita la secreción de NO, a través de la inducción de NOS2, por las células mieloides que colonizan el bazo. Por el contrario las infecciones persistentes (granulomas), por *Trypanosoma cruzi*, *Chlamydia*, *Schistosoma* se caracterizan por un aumento de ARG 1, disminución de L - Arg y de NO coexistiendo con niveles elevados de IL-4, IL-10, y TGF- $\beta$  (estado de inmunosupresión).<sup>413</sup>

-Se demostró relación entre la disfunción de los linfocitos T mediado por ARG, y el *Helicobacter Pylori*.<sup>354, 445, 488</sup> En la infección por *Helicobacter Pylori* los resultados oscilan desde gastritis a cáncer y dichos resultados parecen estar asociados con la inmunidad a H. *Pylori*. Los pacientes que desarrollan gastritis no atrófica presentan una respuesta Th1 y sin el desarrollo de inmunidad protectora, lo que sugiere que esta bacteria puede tener mecanismos para evadir la respuesta inmune del huésped. Los pacientes infectados con *Helicobacter Pylori* desarrollan gastritis crónica en ausencia de inmunidad protectora; así el gen rocF(+) del *Helicobacter Pylori* codifica una ARG que

consume L - Arg y previene la producción de NO por la iNOS (que es antibacteriano) en los macrófagos cultivados; <sup>488</sup> por el contrario la cepa deficiente del gen rocF(-) hace que el Helicobacter Pylori pierda el gen que codifica la ARG, no disminuya la expresión del CD3 $\zeta$ , las células T no estaban afectadas y es eliminado por los macrófagos activados.

Estos datos demuestran que H. Pylori no sólo es importante para la producción de urea, sino que también puede afectar la función de la célula T durante la infección. Para sobrevivir al ambiente ácido del estómago H. Pylori produce ARG que hidroliza L - Arg en urea y ornitina; la urea por la ureasa se convierte en amoníaco que neutraliza el ph ácido del estómago; los datos sugieren que el agotamiento de L - Arg por la ARG de H. Pylori puede disminuir la expresión de CD3 $\zeta$  y la proliferación de los linfocitos T.

La L - Arg es esencial para la supervivencia de H. Pylori. Mendz y Hazel sugirieron que la actividad ARG de H. Pylori se asocia a la membrana celular interna y que su actividad depende de cobalto como cofactor; la ARG producida por los macrófagos utiliza Mn<sup>+2</sup> como cofactor principal. Además del papel de la ARG de H. Pylori en la resistencia al ácido, puede perjudicar la actividad bactericida de los macrófagos mediante la inhibición de la producción de NO, por el agotamiento de la L - Arg; así ARG de H. Pylori podría tener un papel en la regulación del sistema inmune del huésped. La disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  parece estar causada por una disminución de la estabilidad de mRNACD3 $\zeta$ . <sup>488</sup> Los inhibidores de ARG revierten esos sucesos.

-El stress quirúrgico predispone a los pacientes a disfunción inmune, colocándolos en un riesgo más alto de infección, riesgo que aumenta aún más si el paciente está malnutrido antes de la cirugía. Hace más de 20 años se añadían concentraciones suprafisiológicas de L - Arg a las dietas de los pacientes críticamente enfermos. Esas dietas eran utilizadas para intensificar la función inmune y también contenían ácidos grasos  $\omega$  - 3, nucleótidos y otros nutrientes; nutrientes que eran incorporados a las dietas sin evaluar los posibles efectos secundarios. En 2011, Heyland et al <sup>434</sup> publicaron un metaanálisis informando que las dietas complementadas con L - Arg no eran beneficiosas en los pacientes críticamente enfermos y podían tener efectos secundarios importantes. Sin embargo los pacientes programados para cirugía electiva se podían

beneficiar con un descenso de la frecuencia de infecciones, el efecto de esas dietas era diferente en ambos tipos de pacientes.<sup>434</sup>

Luyking<sup>21, 22, 29</sup> publicó en su estudio que la L - Arg debe ser aportada en la dieta durante ciertas condiciones fisiológicas o patológicas, como embarazo, sepsis o traumatismo, en las que las necesidades exceden la capacidad de producción. La sepsis es una respuesta sistémica a una infección con alta morbimortalidad. Los cambios metabólicos ocurridos pudieran estar relacionados con cambios en el metabolismo de L - Arg. En la sepsis el catabolismo de proteínas está aumentado, siendo el aporte de L - Arg un proceso clave porque su producción endógena o de novo desde la citrulina o a través de la ingesta de comida está disminuida.<sup>21</sup> Por otra parte el catabolismo de L - Arg está aumentado debido al uso intenso de L - Arg por ARG y la vía del NO. Como resultado los niveles plasmáticos de este aminoácido están usualmente bajos. La L - Arg por consiguiente puede ser considerada un aminoácido esencial en la sepsis y su suplemento podía ser beneficioso para mejorar la microcirculación<sup>29</sup> y el anabolismo proteico. Se vió, en un modelo de sepsis hiperdinámico, que el suplemento de L - Arg previene el aumento de presión de arteria pulmonar, mejora el metabolismo muscular y el metabolismo proteico hepático, además de restaurar la motilidad intestinal. Los argumentos surgidos en contra del aporte de L - Arg son la producción intencionada de NO, con preocupación sobre la toxicidad del aumento de NO y la inestabilidad hemodinámica con hipotensión refractaria.<sup>29</sup> Sin embargo la inhibición de NOS aumenta la mortalidad. El aporte de L - Arg en el paciente séptico tiene efecto transitorio en la hemodinámica cuando se aporta en bolos, pero aparece sin efectos secundarios hemodinámicos cuando se aporta de forma continua.

Concluyendo, L - Arg pudiera tener un papel esencial en la infección y sepsis,<sup>2, 21, 22</sup> puesto que la sepsis tiene todas las características de ser un estado de déficit de L - Arg.<sup>22</sup> Por consiguiente la modulación de la actividad ARG 1 puede ser una opción terapéutica interesante para tratar condiciones inflamatorias como ella.<sup>16</sup>

- **Disfunción endotelial.**

La ARG es un regulador crítico de la síntesis de NO (importante vasoprotector),<sup>26, 461, 489-492</sup> que puede contribuir al desarrollo de numerosas patologías incluyendo enfermedad vascular; la disfunción endotelial que causa daño a la pared arterial se considera ahora un marcador temprano de arterioesclerosis, que induce la unión de los

monocitos al endotelio, aumenta la permeabilidad de la barrera endotelial e inicia la modificación oxidativa de lipoproteínas de baja densidad, Ox LDL.<sup>493</sup> La ARG puede promover la disfunción de la célula endotelial y del músculo liso vascular, puesto que al competir con eNOS por L - Arg <sup>494</sup> disminuye la síntesis de NO,<sup>10, 480</sup> por varios mecanismos: al competir con NOS por la L - Arg, reduce la disponibilidad de L - Arg para eNOS; al desacoplar NOS genera radicales libres de O<sub>2</sub> como superóxido y peroxinitritos que son inhibidores de NO y aumentan la reactividad vascular; inhibiendo la actividad de iNOS y como consecuencia la síntesis de NO, generando por consiguiente urea; inhibe la expresión de iNOS mediante la represión de la traducción y por la sensibilización de NOS a su inhibidor endógeno ADMA.<sup>26</sup>

ARG se expresa constitutivamente en las células endoteliales, pero la expresión de las isoformas específicas difiere entre las especies de mamíferos.<sup>404</sup> Aunque alguna ARG 1 ha sido detectada en las células endoteliales humanas, la isoforma predominante es ARG 2. Existe una fuerte evidencia de que los niveles constitutivos de actividad ARG en las células endoteliales limitan la síntesis de NO y la función vasodilatadora dependiente de éste.<sup>480, 495, 496</sup> Los estudios en modelos experimentales han demostrado que la sobreexpresión de cualquier ARG 1 o ARG 2 en las células endoteliales puede no sólo reducir la síntesis de NO, sino que aumentar la síntesis de poliaminas y la proliferación celular, así como la síntesis de prolina.<sup>497, 498</sup>

El aumento de ARG inhibe la síntesis de NO mediado por eNOS endotelial <sup>10</sup> y puede contribuir a la disfunción endotelial en la hipertensión,<sup>26, 499, 500</sup> envejecimiento,<sup>480</sup> I/R,<sup>501</sup> diabetes,<sup>10, 26, 461, 489, 502, 503</sup> arterioesclerosis<sup>493, 504, 505</sup> e hiperplasia de la íntima.<sup>506</sup> La liberación de NO por eNOS juega un papel crucial en la preservación de la homeostasis vascular. En respuesta a los cambios de tensión de cizallamiento o a la estimulación del receptor se libera NO del endotelio vascular, para promover el flujo de sangre mediante la inhibición del tono vascular, inhibición de la agregación plaquetaria y de la inflamación. La disfunción endotelial que resulta del aumento de ARG y de la alteración de la síntesis de NO es una característica central de muchos trastornos vasculares.<sup>26</sup>

Una amplia gama de agentes pueden inducir la expresión de ARG cuando se administra a las células endoteliales cultivadas, incluyendo el LPS, TNF- $\alpha$ ,<sup>507-509</sup> la trombina,<sup>510</sup> cifras de glucosa alta,<sup>502, 511</sup> OxLDL<sup>512</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>513</sup> Aparte de los efectos de

los compuestos de plantas tales como la genisteína y los flavonoides del cacao,<sup>514</sup> simvastatina,<sup>502</sup> existe poca información con respecto a los agentes que suprimen la expresión de ARG o previenen su inducción en las células endoteliales.

- Hipertensión.

La actividad y la expresión de ARG 1 está aumentada en las células endoteliales de las arteriolas coronarias aisladas a partir de cerdos con hipertensión renovascular.<sup>495</sup> La inhibición farmacológica de ARG en ratas hipertensas adultas disminuye la presión arterial y mejora la reactividad de los vasos de resistencia.<sup>515</sup> Estos datos representan un argumento a favor de la inhibición de ARG como una nueva estrategia terapéutica contra la hipertensión. Por otra parte, las arteriolas coronarias de estos animales hipertensos demuestran disminución de la liberación de NO y de la vasodilatación.<sup>495</sup> Consistente con un papel para la ARG en la promoción de la disfunción endotelial en los seres humanos, el aumento de la expresión de ARG 2 y la disminución de la síntesis de NO se ha informado en las células endoteliales de los pacientes con hipertensión pulmonar.<sup>516</sup> Una dieta rica en proteínas que contengan L - Arg baja la presión arterial en modelos humanos y animales; esto puede ser debido a la habilidad de la L - Arg para mejorar la resistencia a la insulina, disminuir la glicosilación, aumentar el NO (vasodilatador), disminuir los niveles de angiotensina II, disminuir el estrés oxidativo, mejorar la función de las células endoteliales y disminuir la resistencia vascular sistémica.<sup>500</sup>

- Envejecimiento.

La disfunción endotelial mediada por ARG también se ha descubierto en el envejecimiento de los vasos sanguíneos.<sup>480</sup> Sin embargo, la inhibición farmacológica de ARG restaura completamente la vasodilatación en animales viejos de tal manera que la respuesta es similar a la observada en los anillos aórticos de animales jóvenes. Tanto un aumento en la producción de ROS y una disminución de NO contribuyen a la disfunción endotelial que subyace a esta rigidez vascular del envejecimiento, independientemente de otras patologías vasculares relacionadas con la edad como la arteriosclerosis.<sup>517</sup>

- I/R.

ARG también se ha demostrado que contrarresta la dilatación mediada por NO de las arteriolas coronarias después de la I/R en cerdos.<sup>501</sup> La I/R de los vasos coronarios inhibe la producción de NO por el aumento de ARG,<sup>461</sup> e inhibe la dilatación dependiente del endotelio, que se asocia con una elevación pronunciada en la expresión y la actividad de ARG vascular.<sup>501</sup> Los estudios experimentales han demostrado que la inhibición de ARG en estas condiciones aumenta la biodisponibilidad de NO, reduce el estrés oxidativo, mejora la función vascular y protege contra la lesión por I/R.<sup>413, 518</sup> Por otra parte, la inhibición de ARG o suplementación con L - Arg restauran la síntesis de NO y la vasodilatación sigue a la I/R, lo que sugiere un papel fisiopatológico importante para la ARG en este contexto.

- Diabetes.

Curiosamente, los estudios preliminares indican que los niveles altos de glucosa elevan la actividad de ARG vascular y que ARG también puede contribuir a la disfunción endotelial en la obesidad y la diabetes.<sup>503</sup> El aumento de expresión de ARG contribuye a la alteración de la síntesis de NO y a la alteración de la cicatrización de las heridas en diabetes, lo que sugiere que la ARG puede contribuir en muchas de las complicaciones clínicas asociadas con la diabetes.<sup>519</sup> La inhibición farmacológica de ARG corrige el defecto en la producción de NO y la relajación del tejido diabético. El NO, liberado de queratinocitos a altas concentraciones en pacientes diabéticos, se considera un inhibidor de la proliferación celular y un inductor de la diferenciación in vitro.

Además de limitar sustrato para eNOS, la reducción de L - Arg mediada por ARG también puede servir para sensibilizar a las células endoteliales al inhibidor de NOS ADMA, que se eleva en varias condiciones patológicas asociadas con disfunción endotelial.<sup>520</sup> Informes anteriores sugieren que la disponibilidad limitada de L - Arg también promueve el desacoplamiento de eNOS que resulta en la formación de radicales libres de oxígeno.<sup>521</sup> Dado que el oxígeno reactivo puede inactivar directamente al NO, el aumento de la actividad ARG y el agotamiento intracelular resultante de L -Arg también pueden disminuir la biodisponibilidad de NO. Por otra parte, la generación simultánea de NO y superóxido por eNOS pueden aumentar la formación de peroxinitritos, dando lugar a aumentos de la reactividad vascular y del daño celular. El mecanismo implicado en la regulación de ARG en la enfermedad vascular no se conoce



pero puede implicar múltiples mediadores; en particular, el aumento de la producción de citoquinas inflamatorias y/o factores de crecimiento observados en los trastornos vasculares, ya que inhiben la relajación del endotelio mediada por NO y estimulan la actividad de ARG en las células endoteliales cultivadas<sup>522, 523</sup> El aumento de ROS es otro hallazgo común en muchas patologías vasculares que también pueden estar influenciadas por la ARG porque los elementos sensibles al potencial redox han sido identificados en la región promotor de la ARG 1. Además, los cambios en la hemodinámica asociados con la hipertensión también pueden estar influenciados por ARG.

Más recientemente, la expresión de ARG 1 se identificó en miocitos cardíacos y reduce la producción de NO y cGMP en el miocardio, con el efecto de apoyar la contractilidad basal (al inhibir la ARG se produce un efecto inotrópico negativo por el cGMP).<sup>524</sup> Además, en un modelo de hipertrofia ventricular izquierda compensada en animales, la expresión de ARG estaba disminuida, facilitando la disponibilidad de L - Arg para la señalización NO / cGMP y síntesis de NO.<sup>524</sup>

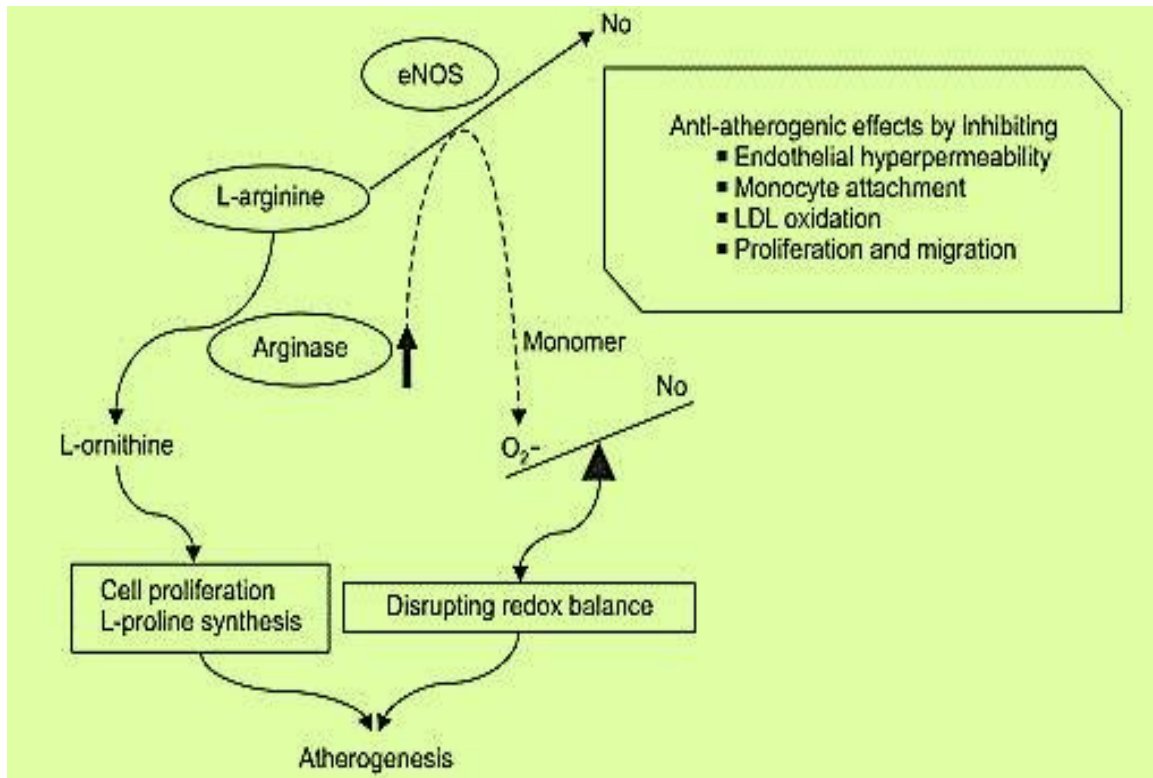
- Arterioesclerosis.

La sobreexpresión de ARG 2 conduce a disfunción endotelial a través de una disminución de la producción de NO por la eNOS<sup>10</sup> y al desarrollo de arterioesclerosis.<sup>493, 504</sup>

Existe evidencia de que el endotelio desempeña un papel crucial en el mantenimiento del tono vascular. Uno de los principales mediadores vasoactivos derivados del endotelio es el NO, que se ha caracterizado como una "molécula anti-arteriosclerótica endógena" (figura nº19). La síntesis de NO puede ser inhibida selectivamente por análogos de guanidino-sustituido de L - Arg, que actúan como inhibidores competitivos en el sitio activo del enzima. Uno de tales es la ADMA, un compuesto que se ha encontrado en plasma y orina humanos y ejerce la actividad de un inhibidor endógeno de la NOS. En contraste, su isómero SDMA no inhibe la NOS. Hay evidencia experimental que la homocisteína puede afectar la función del endotelio vascular mediante el aumento de la formación de ADMA. Las concentraciones plasmáticas elevadas de ADMA también están presentes en pacientes hipercolesterolémicos e hipertensos, en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, y en otros grupos de pacientes con alto riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.

La elevación de ADMA induce disfunción del endotelio, que se vuelve clínicamente evidente por la alteración de la vasodilatación, hiperagregabilidad de las plaquetas, y el aumento de la adhesión de monocitos. Estudios prospectivos recientes sugieren que la disfunción endotelial indica un aumento del riesgo de acontecimientos cardiovasculares futuros.<sup>491, 492</sup>

Las Ox LDL, que son un factor principal en la iniciación del proceso arteriosclerótico, aumentan la actividad de ARG 2, que, a su vez, disminuye la producción de NO presumiblemente por derivación de L - Arg lejos de la eNOS.<sup>410, 512</sup> A través de la limitación de la disponibilidad de L - Arg en el medio extracelular; la ARG también regula potencialmente otras funciones inmunitarias “L - Arg-dependientes”, tales como la activación de los linfocitos T.<sup>24, 436</sup> Es bien conocido que las Ox LDL producen efectos pro-aterogénicos<sup>493, 512</sup> en las células endoteliales mediante la inducción de la expresión de moléculas de adhesión, la estimulación de la apoptosis de la célula endotelial, inducción de la formación del anión superóxido y alteración de la formación de NO (molécula antiaterogénica), por eNOS. En condiciones fisiológicas normales, el uso de oxígeno por las células de los organismos aeróbicos genera metabolitos reactivos de oxígeno potencialmente perjudiciales; además ARG aumenta la producción de ROS por eNOS; la producción vascular de ROS y la reacción subsiguiente se piensa que es un mecanismo importante de disfunción vascular en la arterioesclerosis y en la hipertensión. La activación de ARG contribuye a los cambios vasculares que incluyen la proliferación del músculo liso del vaso, dependiente de poliaminas y la síntesis de colágeno. La inhibición farmacológica de ARG 2 aumenta la producción de NO, restaura la función endotelial, reduce la rigidez vascular y reduce notablemente la carga de placa arterioesclerótica.<sup>493</sup>



**Figura 19. Efectos anti-aterogénicos del NO al inhibir la hiperpermeabilidad endotelial, la unión de monocitos, oxidación de LDL y proliferación endotelial.** Al estimular la ARG aumenta el metabolismo de L - Arg, aumenta la producción de Ornitina, aumenta la síntesis de Prolina favoreciendo la arterioesclerosis.

### • Cáncer (Modulación farmacológica).

Se han propuesto tres posibles mecanismos por medio de los cuales el aumento de la actividad ARG podría estar actuando en un proceso tumoral:

A) El primero de ellos es la regulación negativa de la respuesta inmune frente al tumor, <sup>359, 375, 448</sup> al regular la función del linfocito T <sup>462,525</sup> por la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ , <sup>526</sup> detención de la progresión del ciclo celular, <sup>527</sup> disminuyendo así la proliferación de los linfocitos T.

A.1) La producción aumentada de NO se ha descrito en varios tipos de cáncer en el hombre, y esto podría contribuir al desarrollo del tumor mediante la neo-angiogénesis, metástasis tumoral, resistencia a los fármacos perjudiciales para el DNA y la inmunosupresión del tumor. También se ha relacionado la ONS2 con la regulación de la actividad de la COX-2, molécula que juega un papel importante en la progresión de varios tipos de cáncer por la vía de síntesis de prostaglandinas y la angiogénesis. <sup>25, 357, 359, 375, 377</sup> En el caso del melanoma se ha encontrado que debido al bajo nivel de la

enzima ASS en las células tumorales, se crea una dependencia a la L - Arg exógena y que existen ventajas importantes en la terapia de privación de L - Arg en comparación con la quimioterapia citotóxica convencional.<sup>357, 448, 471</sup> También se ha detectado aumento de la actividad ARG 1 en el cáncer gástrico, de colon, de mama,<sup>447</sup> pulmón (no microcítico)<sup>447</sup> y próstata; la mayor parte de los informes han asociado el aumento de la expresión de ARG por las células tumorales con la necesidad de producir poliaminas para mantener la rápida proliferación de las células malignas.<sup>376, 383, 401, 447, 528, 529</sup> Los pacientes con cáncer tienen una respuesta de células T alterada que puede disminuir el potencial beneficio terapéutico de vacunas y otras formas de inmunoterapia. La L - Arg es un aminoácido condicionalmente esencial que es fundamental para la función de los linfocitos T.

A.2) Pero la producción de ARG 1 en el cáncer podría no ser el único mecanismo por el cual el CD3 $\zeta$  está disminuido y la función de la célula T afectada; estudios previos han demostrado que interacciones de los ligandos Fas-Fas y la producción de peróxido de hidrógeno por los macrófagos o neutrófilos pueden suprimir la expresión de CD3 $\zeta$  y la función de la célula T.<sup>364, 530</sup>

Se encontró que la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  estaba disminuida en las células CD4 (+) y CD8 (+), linfocitos T aislados de la zona del tumor o de la circulación periférica de pacientes con cáncer.<sup>531</sup> La monitorización de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  es útil para evaluar la competencia inmunológica en estos pacientes y para el seguimiento de los cambios en la competencia inmune durante las terapias contra el cáncer. Las correlaciones realizadas entre los hallazgos clínicos, resultados patológicos y expresión de la cadena CD3 $\zeta$  en las células inmunes sugieren que los bajos (ausencia) niveles de la cadena CD3 $\zeta$  es predictivo de mal pronóstico y supervivencia en pacientes con cáncer.<sup>531</sup>

A.3) Además de la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ , se han descrito otras alteraciones en la respuesta inmune frente al tumor asociadas al metabolismo de L - Arg, por lo que la expresión de ARG y el agotamiento de L - Arg se han convertido en una vía inmunosupresora potente.<sup>356</sup> En muestras de pacientes con cáncer de pulmón en estadios III y IV, antes y después de la quimioterapia con cisplatino y etopósido, se informó de la disminución de la producción de IFN- $\gamma$  en células T y de otras citoquinas

proinflamatorias<sup>532</sup> asociadas a la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ .<sup>447,</sup>  
529, 532, 533

A.4) Los estudios preliminares también mostraron que los pacientes con melanoma o tumores de cabeza y cuello tenían una supervivencia disminuida si expresaban bajos niveles de CD3  $\zeta$ .<sup>403</sup>

A.5) Las células T que infiltran los tumores tienen una disminución de la expresión de las proteínas de transducción de señales, una disminución de la capacidad de proliferar, y una disminución en la producción de citoquinas. Los mecanismos que causan estos cambios han quedado claros. Se ha demostrado recientemente que los macrófagos peritoneales estimulados con IL-4 + IL-13 producen ARG 1, que disminuye la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  del receptor de células T y deteriora las respuestas de células T.

A6) Las diferentes estrategias empleadas por los tumores para frustrar la respuesta inmune, incluyen insuficiencia inducida por el tumor de la presentación del antígeno, la activación de las señales co-estimuladoras negativas, y la elaboración de factores inmunosupresores. Además, destacamos la influencia de las poblaciones de células reguladoras que pueden contribuir a esta red inmunosupresora; éstas incluyen las Treg, las células T natural killer, y distintos subconjuntos de células dendríticas inmaduras y maduras.<sup>534</sup>

A.7) Una respuesta inmune disfuncional en pacientes con cáncer se manifiesta por la pérdida de la hipersensibilidad de tipo retardado,<sup>403</sup> esto se demostró hace varias décadas. Explicaciones iniciales incluyeron el desarrollo de "anticuerpos de bloqueo", la producción de factores supresores y la generación de supresores de macrófagos.<sup>403</sup> Sin embargo, la significación de estos hallazgos sobre la progresión de la enfermedad era desconocida. Aunque en los pacientes con cáncer en general, no se desarrollan las infecciones oportunistas observadas en pacientes inmunodeprimidos por altas dosis de quimioterapia, que muestran respuestas deterioradas de células T contra antígenos bacterianos y/o químicos.<sup>403</sup> Esto sugiere que los tumores tienen la capacidad de suprimir la respuesta de la célula T por varios mecanismos, incluyendo el papel de las moléculas inmunorreguladoras en las APCs, tales como B7.1, B7.2, B7-H1 y B7-H4,<sup>403, 535, 536</sup> el desarrollo de Treg (se necesitan segundas señales de proliferación no específica, la activación de TCR, o inflamación, para la inducción de la autoinmunidad

en ausencia de cél T reg CD25 (+) ,<sup>537, 538</sup> y el acúmulo inducido por el tumor de MDSCs.<sup>24, 354</sup>

A8) Los resultados mostraron que las células T de los pacientes con cáncer y los ratones portadores de tumores, tenían múltiples cambios, una tirosina quinasa disminuida la p56<sup>lck</sup>, p59<sup>fyn</sup>, y una incapacidad para regular al alza Jak-3 y para trasladar NFkBp65, todo lo cual resultó en una disminución de la respuesta in vitro de células T.<sup>403</sup> Estas alteraciones fueron acompañados por una disminución de la capacidad para movilizar Ca<sup>++</sup> y una disminución de la fosforilación de la tirosina, proporcionando una posible explicación molecular para la disfunción de las células T en el cáncer.<sup>403</sup>

B) El segundo mecanismo sería promoviendo el crecimiento del tumor al transformar L - Arg en precursores de poliaminas.<sup>17, 18, 359, 375, 448</sup> que pueden promover el crecimiento de las células tumorales al aumentar la vascularización del tumor. Se dijo que la sobreexpresión de ODC, enzima que metaboliza ornitina en putrescina, tenía como efecto la transformación de la línea celular NIH/3T3 y el aumento en el desarrollo del tumor y en su capacidad invasiva.<sup>539</sup> (Tabla nº2) Se han informado niveles de poliaminas dos a tres veces más altos en tejidos con cáncer de seno comparado con tejidos sanos; además, se propone que la PRMT6 actúa como cofactor de transcripción reprimiendo a p21, que es supresor de tumor y se ha informado que detiene el ciclo celular durante la génesis tumoral del cáncer de mama.<sup>357, 540</sup>

B.1) Los macrófagos están presentes en la mayoría de los sitios del tumor y son el tipo de célula infiltrante más abundante en los tumores. Desde hace tiempo se ha reconocido que los macrófagos activados pueden distinguir las células tumorales de sus homólogas celulares normales y son capaces de reducir el crecimiento de las células tumorales y la consecución de la citotoxicidad tumoral por el NO sin la ayuda de anticuerpos específicos y promover su crecimiento por la síntesis de poliaminas, a través de la iNOS, ARG y ODC respectivamente, utilizando como sustrato L - Arg.<sup>386, 454</sup> El NO sintetizado por la iNOS se ha asociado principalmente con la actividad citostática y citotóxica de los macrófagos en respuesta a las células tumorales y a ciertos patógenos. Mientras que la ornitina, producto de la actividad del enzima ARG, es la principal precursora de poliaminas como la espermidina, la espermina y la putrescina, que son pequeñas moléculas catiónicas que inician la reparación de los tejidos en la fase tardía

de la respuesta inflamatoria al regular negativamente la liberación de citoquinas proinflamatorias, incrementar la producción de colágeno y promover la progresión del ciclo celular, el crecimiento celular y la homeostasis.<sup>539</sup> Por su parte, la citrulina por mediación del enzima peptidilL - Arg-deaminasa puede influir en la inflamación y la carcinogénesis.<sup>385</sup>

**Tabla 2. Ejemplos de alteraciones en el metabolismo de L - Arg asociadas a enfermedades tumorales.**

Neoplasia	Reportes	Referencia
Adenocarcinoma de colon	Incremento de ODC	Wu G, et al. 2009 (6) Viola A, Bronte V. 2007 (26) Appleton J, et al. 2002 (35) Rodriguez PC, Ochoa AC.2008 (43)
Carcinoma de células renales	Incremento de ARG por CMS	Zea AH, et al. 2005 (28) Tate DJ, et al. 2012 (33)
Carcinoma hepatocelular	Disminución de la actividad ARG con respecto al tejido de hígado cirrótico y normal. Disminución de la expresión de la proteína y el RNAm	Hoechst B, et al. 2008 (42)
Carcinoma pulmonar de células grandes	Altas concentraciones de ARG1	Zakrzewicz D, et al. 2012 (4) Fujita S, et al. 2010 (48)
Carcinoma de colon	Incremento de la actividad de ARG	Kono K, et al. 1998 (39)
Carcinoma de células basales Carcinoma de células escamosas	Incremento de la actividad de ARG y niveles de ornitina en el tejido	Appleton J, et al. 2002 (35) Jiao ZJ, et al. 2012 (40)
Carcinoma de cabeza y cuello	Incremento de la actividad de ARG por CMS	Appleton J, et al. 2002 (35) Jiao ZJ, et al. 2012 (40)
Carcinoma gástrico	Incremento de la actividad de ARG	Mauskopf JA, et al. 2012 (16) Kono K, et al. 1998 (39)
Leucemias	Incremento de la actividad de ARG	Zea AH, et al. 2004 (25)
Carcinoma de próstata	Incremento de la actividad de ARG y sobreexpresión de NOS2 y ARG1	Gannon PO, et al. 2010 (46)
Carcinoma de seno	Incremento de la actividad de ARG. Inducción de apoptosis en linfocitos T por NOHA (producto intermedio de NOS-ON)	Viola A, Bronte V. 2007 (26) Rodríguez PC, et al. 2007 (29)

B.2) En un modelo de tumor animal, el aumento de la actividad de NOS fue visto en la fase de rechazo del tumor, mientras que se observó el aumento de actividad ARG en el crecimiento del tumor. Este efecto proliferativo se había reducido al añadir el inhibidor de ARG L-norvalina. Además, aumentos en la actividad ARG también atenúan la producción de NO por los macrófagos activados por LPS y por lo tanto reducen el efecto citotóxico sobre las células tumorales cocultivadas. La inhibición de la actividad ARG por L-norvalina invierten de forma efectiva la supresión de la citotoxicidad

tumoral mediada por NO. Estos resultados sugieren que la inducción de ARG de los macrófagos puede mejorar el crecimiento de las células tumorales, proporcionando poliaminas y suprimiendo la citotoxicidad tumoral mediante la reducción de la producción de NO. Aumentó la actividad tumoricida de los macrófagos cuando se transfectan dichos macrófagos con el gen Inos.<sup>447</sup>

El requisito de los tejidos que se dividen rápidamente para mejorar la biosíntesis de poliaminas está aparentemente en el aumento de la actividad ARG tal como se encuentra en el cáncer gástrico y en el cáncer de mama. Recientemente, la actividad ARG se ha detectado en algunos tipos de cáncer de colon humanos.

C) El tercer mecanismo. Hallazgos recientes en ratones portadores de tumores y pacientes con cáncer indican que el aumento del metabolismo de L - Arg por las MDSCs que producen ARG 1, inhiben las respuestas de los linfocitos T.<sup>454</sup> Los datos sugieren que el aumento de expresión de ARG 1 por las MDSCs, puede tener un efecto local o sistémico de descenso de L - Arg resultando en un descenso de la expresión de CD3 $\zeta$ , disminución de la producción de citoquinas como el INF- $\gamma$ , pero no de la IL-2, inhibición de la proliferación de las células T activadas, permitiendo a los tumores escapar a la respuesta inmune.<sup>359, 371, 540, 541</sup> Es posible que los niveles de L - Arg puedan estar disminuidos localmente en ciertos tumores, en lugares donde la ARG 1 está siendo producida por las células tumorales. Esto podía explicar la observación que el CD3 $\zeta$  está más profundamente disminuido en las células T que infiltran el tumor que en los linfocitos T circulantes. La interferencia farmacológica con el metabolismo de L - Arg (la deplección de L - Arg es un mecanismo directo potencial antitumoral), es una estrategia prometedora en el tratamiento del cáncer, autoinmunidad y desviación inmune no deseada. Varios informes demostraron que la replicación de las células malignas, parásitos y virus es inhibida por el agotamiento de L - Arg.<sup>18, 542</sup>

C1) En ratones portadores de tumores se ha descrito una población heterogénea de células mieloides en diferentes estados de desarrollo asociadas al tumor. Esta población se caracteriza por la expresión de CD11b, una integrina que funciona como receptor del complemento (C3bi), del fibrinógeno, o del factor de coagulación X, y Gr-1 marcador de neutrófilos diferenciados. Estas células se denominan MDSCs (Células Supresoras Mieloides derivadas). Existe una gran variedad de células inmunosupresoras que pueden estar asociadas al microambiente tumoral. Sin embargo, las MDSC<sub>S</sub> se encuentran en la



mayoría de los pacientes con cáncer. El recuento celular de MDSCs aumenta hasta diez veces en sangre de pacientes con cáncer en comparación con los individuos sanos. Hasta hoy el mejor marcador para las MDSCs humanas sigue siendo su función supresora, que puede ser directa o indirecta a través de la inducción de Treg. La actividad supresora inmune ha sido asociada con ARG 1, así como la producción de ROS por MDSCs. El tratamiento sistémico con ácido trans-retinoico ha demostrado que madura las MDSCs humanas y revierte su función supresora inmune.<sup>543</sup> La acumulación y activación de las células MDSCs se ha asociado con la disminución de la cadena CD3 $\zeta$  en células T efectoras, por la acción de la ARG 1.<sup>541</sup> Los datos proporcionan evidencia de que las células supresoras mieloides inmaduras Gr-1 (+) CD115 (+), pueden mediar el desarrollo de Treg en ratones portadores de tumores y mostrar un nuevo mecanismo de supresión inmune por el cual MDSCs pueden suprimir las respuestas antitumorales.<sup>544</sup> Otros estudios han demostrado que la progresión del cáncer se puede retrasar eliminando las células MDSCs<sup>545, 546</sup> En conjunto, estos resultados sugieren que los efectos supresores de MDSCs juegan un papel importante en la supervivencia del tumor, ayudándole a escapar de la inmunovigilancia por la acción de ARG 1.<sup>355</sup>

Una subpoblación de células mieloides maduras asociadas a tumores expresan altos niveles de ARG 1, mientras que las células tumorales y linfocitos infiltrantes no lo hacen. Las células mieloides asociadas a tumores expresaron altos niveles de transportador catiónico de aminoácidos 2B, lo que les permitió incorporar rápidamente L - Arg y agotar L - Arg extracelular in vitro. El agotamiento de L - Arg por las células mieloides asociadas a tumores bloqueó la re-expresión de CD3 $\zeta$  en células T estimuladas y la proliferación específica del antígeno. Por lo tanto, la producción de ARG 1 por las células mieloides maduras en el microambiente del tumor puede ser un mecanismo central para la evasión del tumor y puede representar una diana para las nuevas terapias.<sup>449</sup>

C2) Los tumores malignos han desarrollado estrategias para evadir una respuesta inmune antitumoral citotóxica eficaz mediante la inducción de vías de inmunosupresión asociadas a la inflamación. El destino de un tumor en desarrollo está dictado no sólo por las propiedades de las células malignas sino también por el fenotipo de células tumorales infiltrantes y células mieloides tumorales de interacción. Un mecanismo clave de la evasión del tumor de la destrucción inmune, es el deterioro inducido de las funciones de la célula T. La función inmunosupresora de la célula supresora de origen

mieloide se mejora aún más por el aumento de expresión de la ARG mediada por la IL-4.<sup>448</sup> Cuando la ARG de las MDSCs asociada a tumor o tumor infiltrante Gr-1 es inhibida en varios modelos tumorales murinos, las funciones de la célula T son restauradas y el crecimiento tumoral se inhibe. Además las MDSCs pueden suprimir a la célula T por la producción de Nitrógeno Reactivo y ROS. Las células supresoras mieloides que expresan ARG humana son la CD13, CD33, HLA DR, CD14, células que expresan de manera variable monocitos y CD15 que expresan marcadores de los granulocitos. Las células con este fenotipo se describen en los pacientes con carcinoma de células renales;<sup>366</sup> las células supresoras se asemejan morfológicamente a los PMN por el perfil de marcador de superficie CD11b, CD14, CD15, aunque aparecen en la fracción de células mononucleares de sangre periférica. El agotamiento de las MDSCs re-establece el receptor de célula T y la activación de la célula T inducido por co-estimulación (proliferación, secreción de INF- $\gamma$ , y expresión de la cadena  $\zeta$  del TCR) en experimentos con cultivo de células.<sup>366</sup>

C3) El establecimiento de un entorno inflamatorio crónico en pacientes con cáncer juega un papel crítico en la inducción de la disfunción de las células T. El acúmulo de MDSCs en huéspedes portadores de tumores es una característica de la inflamación asociada a la malignidad y un importante mediador de la inducción de la supresión de células T en el cáncer.<sup>541</sup> Numerosas investigaciones han caracterizado múltiples vías activadas por el microambiente tumoral que resultan en el deterioro de las respuestas de células T anti-tumorales. Las MDSCs metabolizan L - Arg para regular la función de las células T en la enfermedad.

C4) Aunque la mayoría de los modelos están de acuerdo en que las células tumorales son las iniciadoras del fenómeno supresor, también llegan a la conclusión de que las APCs, en forma de macrófagos, células dendríticas, y MDSCs, juegan un papel central en la inducción de la anergia de células T directamente.<sup>537, 538</sup> De hecho, Gabrilovich et al.<sup>489</sup> y Dolcetti et al.<sup>547</sup> demostraron que el VEGF, G-CSF, y GM-CSF<sup>547</sup> producidos por las células tumorales detuvieron la diferenciación de las células mieloides, resultando en células mieloides inmaduras que inducen disfunción de las células T.

C5) Los resultados sugieren que ARG 1 se expresa preferentemente en MDSCs infiltrantes de tumores que inhiben la función de las células T y representa un posible mecanismo de evasión del tumor.<sup>449, 541</sup> También se acepta que las MDSCs inicialmente

se acumulan para luchar contra los tumores, pero cambia su fenotipo a medida que el tumor progresa y la inflamación crónica se establece.<sup>403</sup> Publicaciones recientes sugieren que las MDSCs aunque morfológicamente similares a iMC muestran una alta capacidad supresora de células T, mientras que iMC carecen de ella; el promielocito like como BM-MDSC (Bone-marrow), es equivalente a MDSC presente en la sangre de pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal y el aumento de los niveles circulantes de estas células mieloides inmunosupresoras se correlacionan con un peor pronóstico así como con progresión radiográfica.<sup>548, 549</sup>

C6) La progresión tumoral está apoyada por condiciones inflamatorias crónicas desarrolladas en el microambiente del tumor y se caracterizan por la secreción a largo plazo de diversos factores inflamatorios solubles (incluyendo citoquinas, quimioquinas, factores de crecimiento, ROS y especies reactivas de nitrógeno, prostaglandinas etc) y fuerte infiltración de leucocitos. Las MDSCs representan uno de los actores más importantes que median la inmunosupresión. Estas células no sólo pueden inhibir fuertemente las reacciones inmunes antitumorales mediadas por las células T, sino también estimular directamente la tumorigénesis, crecimiento tumoral y metástasis mediante la mejora de la neoangiogénesis y la creación de un ambiente adecuado para la formación de metástasis. La interacción entre las células supresoras mieloides y las células tumorales conducen a la generación de MDSCs, a su activación y migración a la zona del tumor, donde pueden mejorar la progresión del tumor. Una mejor comprensión de la interacción MDSC-tumoral así como de las vías que pueden mitigar los efectos supresores de las MDSCs es fundamental para el desarrollo de nuevas estrategias de inmunoterapia tumoral.<sup>353, 550</sup>

Por tanto la interacción leucocito-tumor puede resultar en la destrucción del tumor, la promoción del crecimiento tumoral y la invasión de tejidos o metástasis.

Además de las MDSCs otras células del sistema inmune que se han relacionado con la progresión del cáncer son los neutrófilos. Tradicionalmente los neutrófilos han sido catalogados como precursores de la inflamación aguda y crónica, pero estudios recientes en TAN, revelan que pueden jugar un papel importante en la biología del cáncer. Los TAN constituyen una de las mayores poblaciones celulares que infiltran el tumor, en muchos tipos de cáncer.<sup>551</sup> Los TAN poseen 16 diferencias marcadas en su transcriptómica, con respecto a los neutrófilos circulantes y a la fracción granulocítica

de las células MDSCs.<sup>35</sup> Existen dos fenotipos de TAN, el antitumoral (N1) y el pro-tumorígeno (N2). El fenotipo N1 expresa altos niveles de FAS, TNF- $\alpha$ , ICAM-1, ROS y bajos niveles de ARG 1. El Fenotipo N2 produce altos niveles de citoquinas pro-inflamatorias CCL2 y CCL5, además de suprimir la respuesta inmune antitumoral por la secreción de ARG 1.<sup>551</sup> A pesar de las propiedades inmunosupresoras de ARG 1, existen tumores auxótrofos para L - Arg, cuando son cultivados en ausencia de L - Arg, desarrollan un arresto en fase G0/G1 del ciclo celular y la posterior muerte celular por apoptosis.<sup>552, 553</sup>

Una fracción grande de los carcinomas hepatocelulares (CHC), melanomas, carcinomas de células renales, mesoteliomas, carcinomas pancreáticos y algunos cánceres de pulmón de células pequeñas poseen defectos en el ciclo de la urea, por lo que son auxótrofos para la L - Arg. Mientras que las células no malignas pueden entrar en inactividad permaneciendo en fase G0 del ciclo celular durante semanas, las células tumorales desarrollan defectos en el ciclo celular, inhibición de la síntesis de proteínas y muerte celular.<sup>552, 554</sup> Para estos tumores el diseño de estrategias que interfieran en el metabolismo de L - Arg puede ser una terapia adecuada de tratamiento. Por ejemplo, ADI cataboliza L - Arg para producir citrulina y amonio. La ADI-PEG-20, un enzima recombinante de Mycoplasma arginini unida covalentemente a polietilenglicol (PEG), fue aprobada como droga huérfana para el tratamiento del CHC y del melanoma metastásico por la FDA de Estados Unidos en marzo de 1999 y por la AEEM en Julio de 2005.<sup>555, 556</sup> En ensayos clínicos con ADI-PEG-20 un 21% de los pacientes con carcinoma hepatocelular presentaron una estabilización de la enfermedad y una inhibición del crecimiento tumoral tras 2 años de tratamiento. En el caso del melanoma, más del 50% de los pacientes que recibieron dosis mayores de 160U/m<sup>2</sup> experimentaron una regresión parcial de las lesiones. La eficacia de ADI-PEG-20 en ensayos de fase I/II muestra que el agotamiento de L - Arg podría ser utilizado como un agente anti-tumoral eficaz. Sin embargo, efectos secundarios como el elevado nivel de amoníaco, la inmunogenicidad de la proteína microbiana ADI y la inestabilidad de la dosis biológica óptima, hacen que los ensayos clínicos no sean todo lo prometedores que se esperaba.<sup>367</sup> Actualmente se están llevando a cabo ensayos clínicos en fase III con ADI-PEG-20 (Polaris Group) para carcinoma hepatocelular y en fase I para melanoma metastásico y linfomas, además se esta estudiando la posibilidad de extender su utilización en 17 pacientes con cáncer de próstata, leucemia, sarcoma y cáncer de

páncreas. En comparación con la quimioterapia tradicional, las terapias basadas en la restricción de aminoácidos presentan ciertas ventajas en cuanto a la alta especificidad por las células malignas y la baja toxicidad para los pacientes. Sin duda, el avance en la investigación de este tipo de terapias, facilitará la búsqueda de tratamientos efectivos para combatir el cáncer. El punto común de estas terapias es la deficiencia de L - Arg y el incremento de los niveles de urea (amoníaco), por el aumento de la actividad ARG. Tanto la deficiencia de aminoácidos como el incremento de los niveles de urea pueden alterar la traducción de varios mRNA a través de rutas metabólicas que involucran a las quinasas GCN2 y mTOR, además de inducir la acumulación de proteínas desplegadas en el RE iniciando rutas de señalización para la adaptación. Cuando la concentración intracelular de aminoácidos disminuye, aumenta la cantidad de tRNA no cargados, lo cual activa a GCN2. La quinasa GCN2 se une a los tRNA no cargados, fosforilando el residuo serina 51 de la sub-unidad  $\alpha$  del eIF2 $\alpha$ , interrumpiendo la síntesis de proteínas.<sup>399</sup> (Figura n°12) La interrupción de la traducción, el acúmulo de proteínas desplegadas en el RE y la inhibición de la ruta mTOR pueden inducir la respuesta de proteínas desplegadas o la autofagia para suplir las necesidades nutricionales.<sup>464</sup> Sin embargo, se desconoce cual de estas rutas se encuentra activada en las células T en ausencia de L - Arg.<sup>353</sup>

-Cáncer hepatocelular. El CHC tiene un requisito elevado de L - Arg in vitro para crecer, es decir es auxótrofo. El CHC se cree que es auxótrofo para L - Arg a través de la falta de expresión de ASS. Hemos demostrado que la enzima nativa rhARG y el pegilado rhArg-PEG, proporcionaron una eficacia similar contra el cáncer in vitro.<sup>557</sup> La rh Arg-PEGI, un enzima que deplecciona L - Arg puede inhibir el crecimiento de tumores dependientes de L - Arg, produciendo detención del ciclo celular en fase G<sub>0</sub>, posiblemente mediado por la modulación de la transcripción de ciclinas y/o quinasas dependientes de ciclina (CDK). La aplicación de rhArg-PEG sólo o en combinación con fármacos quimioterapéuticos existentes puede representar una estrategia terapéutica específica y eficaz contra el CHC.<sup>558</sup>

- En el adenocarcinoma de mama la ARG de los macrófagos proporciona poliaminas para el crecimiento de las células tumorales.<sup>447</sup>

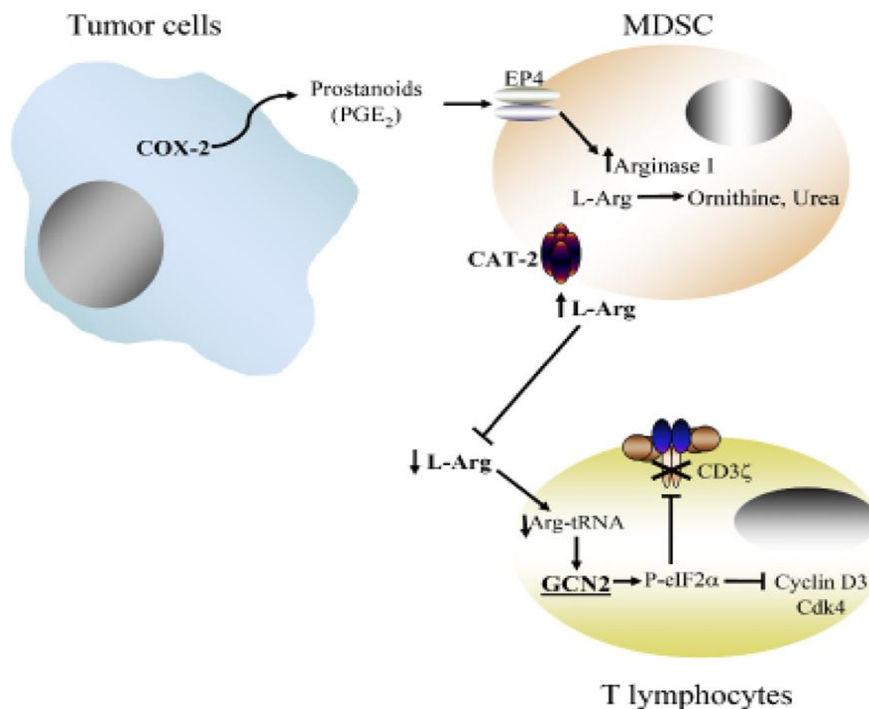
-Cáncer de próstata. Se demostró que la ARG participa también en la supresión de linfocitos infiltrantes del tumor en estos pacientes,<sup>559</sup> carcinoma de pulmón no

microcítico <sup>449</sup> y el mieloma múltiple.<sup>533</sup> Los resultados indican que los adenocarcinomas prostáticos humanos están infiltrados por linfocitos T citotóxicos terminales diferenciados que están, sin embargo, en un estado de no respuesta. Sin embargo, si el ambiente del tumor ejerce una acción supresora de los TIL, la inmunoterapia logrará poco éxito. Se demuestra la presencia de altos niveles de nitrotirosinas en TIL prostático, lo que sugiere una producción local de peroxinitritos. Mediante la inhibición de la actividad ARG y NOS, enzimas clave del metabolismo de L - Arg, que están altamente expresadas en el tejido prostático maligno pero no en próstatas normales, se logró reducir la nitración de tirosina y la restauración de la respuesta del TIL al tumor. Se encontró que la expresión de ARG 2 era más prominente en líneas celulares dependientes de andrógenos que en líneas de células independientes de los mismos. Además, se encontró expresión de OAT, una enzima responsable también del metabolismo de la ornitina, que se correlaciona inversamente con la expresión de ARG 2. La expresión elevada de ARG 2 visto en cánceres de próstata andrógeno-dependientes y en los cánceres de próstata más diferenciados sugiere que ARG 2 podría ser un marcador potencialmente útil de este tipo de cánceres en etapa temprana. <sup>560</sup>

-Cáncer de páncreas. Las células eucariotas pueden sintetizar L - Arg de aminoácidos no esenciales como aspartato y citrulina utilizando la enzima ASS. El cáncer de páncreas tiene una baja expresión de ASS y, por tanto, la privación de L - Arg por ADI inhibirá el crecimiento celular. La ADI es una enzima que metaboliza L - Arg a citrulina y se ha encontrado que inhibe el crecimiento del melanoma y hepatocarcinoma deficientes de ASS. La reducción de la expresión de ASS se produce en el cáncer de páncreas y predice la sensibilidad a la privación de L - Arg alcanzada por el tratamiento PEG-ADI. Por lo tanto, estos resultados sugieren que la privación de L - Arg por ADI podría proporcionar una estrategia beneficiosa para el tratamiento del cáncer de páncreas <sup>561</sup> y otros tipos de cáncer. <sup>415</sup>

-ARG y cáncer de pulmón. Las MDSCs producen altos niveles de ARG 1, bloquean la función de la célula T por el agotamiento de L - Arg, en el cáncer, (Tabla nº3) infecciones crónicas, y en los pacientes que padecieron un traumatismo. En el cáncer, las MDSCs infiltran los tumores y en la circulación son un importante mecanismo para la evasión del tumor y menoscabar el potencial terapéutico de la inmunoterapia. Las células tumorales expresan constitutivamente ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) y

producen altos niveles de PGE<sub>2</sub>. La inhibición genética y farmacológica de la COX-2, pero no de la COX-1, bloquea la inducción de ARG 1 tanto in vitro como in vivo. La señalización a través del receptor de la PGE<sub>2</sub>, el E-prostanoide 4, expresado en las MDSC induce ARG 1 (figura n°20). Además, el bloqueo de la expresión de ARG 1 usando inhibidores de la COX-2 provoca una respuesta antitumoral mediada por linfocitos. Estos resultados demuestran una nueva vía de la disfunción inmune inducida por las prostaglandinas y proporcionan un nuevo mecanismo que puede ayudar a explicar los efectos de los inhibidores de la COX-2 de prevención del cáncer.<sup>562</sup>



**Figura 20. Disfunción de las células T inducida por ARG 1.** Las células tumorales que expresan COX-2 y liberan PGE<sub>2</sub> inducen la expresión de ARG 1 y CAT-2B en MDSCs. Esta expresión conduce a una reducción de los niveles extracelulares de L - Arg, que activa GCN2 se fosforila la subunidad α de eIF2α e inhibe la expresión de CD3, ciclina D3, y CDK4 a través de mecanismos transcripcionales, post-transcripcionales y traduccionales.<sup>454</sup>

-Cáncer renal. Las MDSCs producen ARG, agotan L - Arg y afectan la proliferación de células T y la producción de citoquinas. Aunque la actividad ARG se ha descrito en pacientes con cáncer, se cree que se origina en las células tumorales que metabolizan L - Arg a ornitina necesaria para sostener la proliferación celular rápida. Se encontró que 123 pacientes con carcinoma metastásico de células renales, antes del tratamiento, tenían un aumento significativo de actividad ARG. Estos pacientes tenían una marcada disminución de la producción de citoquinas y expresaron niveles bajos de CD3ζ.<sup>540</sup> Las MDSCs que producen ARG 1 aumentan en sangre periférica de los pacientes con

carcinoma de células renales. Las MDSCs inhiben la función de las células T mediante la reducción de la disponibilidad de L - Arg y por lo tanto se considera un importante mecanismo de escape tumoral.<sup>563</sup> (Figura nº20)

Durante la progresión, los tumores se vuelven refractarios a las armas ofensivas del sistema inmune. Se ha sabido durante mucho tiempo que el microambiente tumoral presenta una profunda modificación del metabolismo del ácido araquidónico y aminoácidos tales como el triptofano y L - Arg. Sin embargo, sólo en la última década hemos empezado a apreciar cómo estos cambios pueden causar disfunciones en las células del sistema inmune adaptativo e innato. El conocimiento de estas rutas metabólicas complejas y parcialmente interconectadas está ofreciendo nuevos objetivos para un enfoque farmacológico integrado con el objetivo de liberar a los linfocitos T específicos del tumor de la influencia del cáncer.<sup>564</sup>

### **Modulación farmacológica del metabolismo de L - Arg en inflamación y cáncer.**

Las estrategias farmacológicas que interfieren con el metabolismo de L - Arg son muy prometedoras para el tratamiento de la inflamación y el cáncer. Dos opciones de tratamiento opuestas parecen razonables en función del tipo de inflamación y tumor:

- 1.) Cheng et al<sup>557</sup> propusieron que el agotamiento de L - Arg mediado por ARG puede conducir a la muerte celular tumoral directa; de modo que las enzimas degradantes de L - Arg (ARG, ADI, rhArg-Peg) han sido sugeridas como agentes antitumorales, análogos de la L-asparaginasa utilizados clínicamente como agentes antileucemia. La PEG-ADI (Arginina deiminasa pegilado) deplecciona L - Arg por la producción de citrulina y demostró actividad clínica en pacientes con melanoma maligno. El agotamiento de L - Arg mediado por la PEG-ADI induce la autofagia y apoptosis independiente de caspasas en pacientes con CHC, cáncer de próstata e inhibe el crecimiento de xenoinjertos de cáncer de páncreas humano en ratón. Curiosamente la susceptibilidad del tumor a la privación de L - Arg se asoció con la falta de ASS expresada por el tumor como posible vía de reciclaje de L - citrulina a L - Arg para las células tumorales.
- 2.) Si bien el agotamiento de L - Arg es un mecanismo potencial antitumoral directo contra ciertas entidades malignas, el escenario inverso es cierto para otros tipos de tumores, debido a la supresión inmune anti-tumoral, mediada por ARG



inducida por el tumor. El agotamiento de L - Arg puede ser tratado farmacológicamente con la suplementación de L - Arg o con inhibidores de la ARG.

En un ensayo clínico recientemente publicado, la suplementación con L - Arg aumenta las concentraciones plasmáticas de L - Arg, aumenta la biodisponibilidad de eNO en pacientes con malaria y disfunción endotelial debido a hipoargininemia secundaria a la liberación de ARG de los hematíes por hemólisis. La L - Arg se metaboliza ampliamente en el intestino y en el hígado por la ARG, también posiblemente por la ARG liberada en la inflamación.<sup>25</sup>

Según Morris<sup>404, 539</sup> L - Arg puede ser reciclada a partir de L - citrulina por los enzimas ASS y ASL, que son inducibles por estímulos inflamatorios.

Varios inhibidores específicos de ARG se han desarrollado y probado in vitro:<sup>18</sup>

\*El NOHA, N<sup>G</sup>-hidroxy- L - Arg, un intermediario de la síntesis de NO utilizado con éxito en cultivos de órganos humanos de cáncer de próstata; inhibió la actividad de ARG y restauró la reactividad de los linfocitos infiltrantes del tumor.<sup>354</sup>

\*El derivado de L - Arg L<sup>0</sup>-hidroxi-ni-L - Arg (niNOHA) fue capaz de revertir completamente la supresión de la célula T mediada por los PMN en la inflamación purulenta.<sup>25</sup>

\*El Nitroaspirin compuesto liberador de NO (NCX 4016) inhibe la iNOS por retroalimentación negativa del NO y a la ARG indirectamente al interferir con su vía. Nitroaspirin corrigió la disfunción inmune de células T mediada por las células MDSCs y de este modo controló el crecimiento de un tumor de colon murino.

\*La  $\alpha$ -difluormetil ornitina (DFMO) es un potente inhibidor de ARG en cáncer de colon humano.

\*La inhibición de la ciclooxigenasa 2 (expresada por el cáncer de pulmón murino 3LL) y la prevención de la prostaglandina E<sub>2</sub> mediada por la inducción de la ARG en MDSCs llevaron al control eficaz del tumor.<sup>366</sup>

\*El análogo de la L – Arg, L- NAME (N<sup>0</sup>Nitro- L - Arg-metil ester), inhibe tanto in vitro como in vivo la actividad ARG en las células de cáncer de colon de rata y de

hígado; L- NAME inhibe la actividad de ARG en los nódulos tumorales y en el hígado y el efecto persiste después de cesar el tratamiento.<sup>565</sup>

\*Los inhibidores de Fosfodiesterasa 5 regulan a la baja ARG 1 en MDSCs murinas y esto conduce a un aumento de la respuesta antitumoral espontánea así como a una terapia adoptiva de células T más eficiente.

- **ARG y disfunción del músculo liso vascular.**

La ARG también redirecciona el metabolismo de L - Arg en la célula muscular lisa vascular, a ornitina, urea, formación de poliaminas y L - prolina que pueden inducir lesiones vasculares mediante la estimulación de la proliferación de células del músculo liso y depósito de colágeno; <sup>495</sup> esta acción de ARG se magnifica con la supresión de la liberación de NO, que sirve como inhibidor del crecimiento de las células del músculo liso y la síntesis de colágeno.<sup>566</sup> Así, la expresión elevada de ARG en células musculares lisas vasculares puede ser un factor importante en el desarrollo de hiperplasia de la íntima y rigidez vascular en respuesta a una lesión vascular <sup>567</sup> o durante el envejecimiento. Aunque los dos tipos de ARG se expresan en las células endoteliales, las células del músculo liso vascular expresan selectivamente ARG 1. Varios estudios han demostrado que la activación de ambos tipos de ARG puede llevar a la disminución de la producción de NO y a la disfunción endotelial. Su expresión en estas células puede estar inducida por IL-4 e IL-13, TCF- $\beta$ , <sup>566</sup> lisofosfatidilcolina y la tensión mecánica.<sup>568</sup> La ARG representa una nueva diana terapéutica que puede revertir la disfunción endotelial, la disfunción de las células del músculo liso y prevenir la enfermedad vascular.<sup>26</sup>

- **ARG 1 después del IAM.**

La inhibición de ARG protege del IAM durante la I/R por un mecanismo que es dependiente de la actividad de NOS y la biodisponibilidad de NO por desplazamiento de la utilización de L - Arg de la ARG, hacia NOS.<sup>413</sup>

La ARG 1 producida después del IAM reduce los niveles de L - Arg, con lo cual la L - Arg no está disponible para la NOS, disminuye la producción de NO y se produce disfunción endotelial; aumenta la respuesta vasoconstrictora, aumenta la adhesión de las plaquetas, aumenta la proliferación de las células del músculo liso, se afecta la

vasodilatación endotelial asociándose a sucesos cardiovasculares, como disfunción ventricular. Por otra parte las poliaminas y prolina formadas por la activación de ARG 1, han sido implicadas en la proliferación celular y síntesis de colágeno respectivamente. El acúmulo de ADMA, inhibidor endógeno de la NOS afecta la formación de NO. Los cambios relacionados con el metabolismo de la L - Arg pueden tener su papel en la disfunción ventricular.

El NO es crítico para el desarrollo de la lesión por I/R. La lesión por I/R aumenta la actividad ARG 1 y ARG 2. La inhibición de ARG local durante la fase temprana de reperfusión, mediante la administración local del inhibidor de ARG ni-NOHA redujo el tamaño del IAM al aumentar la producción de NO, por el aumento de L - Arg.<sup>569</sup> ¿Sería el tratamiento con inhibidores locales de ARG factible para los pacientes diagnosticados de IAM con elevación del ST programados para angioplastia percutánea?

La inhibición de ARG podría ser una estrategia terapéutica prometedora para limitar la lesión miocárdica en el IAM.

### **5.2.5. Células supresoras de origen mieloide derivadas (MDSCs).**

Son una población heterogénea de células de origen mieloide que tienen por función regular negativamente la respuesta de los linfocitos T.<sup>359, 570, 571</sup> La disponibilidad de L - Arg es esencial para la proliferación y función normal de las células T.<sup>111, 354, 371</sup> Las MDSCs regulan la función de las células T a través del agotamiento de L - Arg, un nuevo mecanismo de regulación. Las MDSCs utilizan dos enzimas implicadas en el metabolismo de L - Arg: iNOS, que genera NO, y ARG 1, que agota el medio ambiente circundante de L - Arg,<sup>354</sup> inhibe la liberación de citoquinas como IFN- $\gamma$  e IL-2 y disminuye la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ <sup>355</sup> del TCR/CD3, disminuye el número de receptores de la célula T en la membrana celular, disminuye la proliferación del linfocito T.<sup>18, 25, 35, 52, 354, 355, 366, 367, 371</sup> resultando en el deterioro de la respuesta de los linfocitos T a antígenos<sup>572</sup> durante la respuesta inmune y el crecimiento del tumor.<sup>570</sup> Se ha informado que dichas células se generan a partir de precursores hematopoyéticos en respuesta a citoquinas producidas por el tumor, entre ellas el GM-CSF, IL-3, VEGF, IL-10 y M-CSF (figura nº21). Estas citoquinas no solo reclutan las MDSCs, sino que también favorecen su maduración como un mecanismo para evadir la respuesta inmune. Se ha informado que las MDSCs se encuentran tanto en el microambiente tumoral como

en la perifería, posiblemente generando un ambiente idóneo para que las células malignas proliferen y adquieran nuevas mutaciones que les permitan expandirse y evadir la inmunovigilancia del huésped.<sup>448, 527, 572-574</sup>

-Las MDSCs fueron descritas originalmente en cáncer de cabeza y cuello, y posteriormente se las caracterizó en el carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de seno, cáncer de colon y melanoma, en estos últimos como un factor clave en la inmunosupresión causada por defectos en las células T. El agotamiento de L - Arg por MDSCs, derivado de la producción de ARG 1, se observa en pacientes con cáncer induciendo la anergia de las células T. La inanición de L - Arg podría regular la progresión del ciclo celular de la célula T. Las células T estimuladas, cultivadas en ausencia de L - Arg son detenidas en la fase del ciclo celular G0-G1. Esto se asoció con una incapacidad de las células T de regular al alza ciclina D3 y CDK4,<sup>357, 470</sup> pero no CDK6, resultando en una alteración de la señalización con una disminución de la fosforilación de la proteína Rb y una baja expresión y unión de eIF2 $\alpha$ . La regulación de la ciclina D3 y CDK4 por la inanición de L - Arg se produce a nivel transcripcional y postranscripcional. La señalización a través GCN2 quinasa se activa durante la inanición de aminoácidos. En ausencia de L - Arg la proteína ciclina D3 precipita en los cultivos de células T mostrando una baja expresión del complejo ciclina D3/CDK4 y un descenso de la actividad de la quinasa. La privación de L - Arg afecta a la función de los linfocitos T por alteración de la ciclina D3 y la cadena CD3 $\zeta$  por mecanismos trascipcionales, postrascipcionales y mecanismos traslacionales.

Los datos sugieren que la regulación de la disponibilidad de aminoácidos por las células tumorales o células infiltrantes que producen ARG es un mecanismo potente de las células tumorales para escapar a la respuesta inmune.<sup>357, 449, 575</sup>

- Aparte del cáncer, se han descrito MDSCs que expresan ARG en el traumatismo (en ratones y seres humanos),<sup>446</sup> sepsis intraabdominal y en ciertas infecciones.

Se detecta expresión de ARG 1 en las células mononucleares después de un traumatismo o cirugía.<sup>27, 355, 482</sup>

Tanto el traumatismo severo como la sepsis, están asociados con enfermedad crítica severa y disfunción de órganos. En 1991, se demostró que había un acúmulo de metabolitos de NO en el plasma humano durante la sepsis. Esto coincidió con un

aumento de los niveles de endotoxina en circulación y disminución de las resistencias vasculares sistémicas (como una medida de vasodilatación excesiva). En contraste, el traumatismo se asocia con una gran inducción de ARG 1 y una disminución concomitante en la circulación de metabolitos de NO (nitrito/nitrato). El rápido agotamiento de L - Arg es el resultado del aumento de la co-expresión de CAT2B que permite el transporte de L - Arg a las células donde es metabolizada rápidamente por la ARG 1.<sup>371</sup> La ornitina producida entonces se exporta por el mismo CAT a cambio de otra molécula de L - Arg. En algunas células, pueden regular la velocidad de la síntesis de NO mediante el control de la absorción de L - Arg como el sustrato para la NOS.<sup>371, 576, 577</sup> A través de la depleción de L - Arg, las MDSCs pueden controlar la producción de NO y regular otros procesos biológicos dependientes de L - Arg.<sup>571, 578</sup>

Estas células han mostrado la capacidad de bloquear la función efectora de la célula T; además, las MDSCs pueden disminuir las propiedades migratorias del linfocito T activado, como se ha informado en casos de cáncer de pulmón y en el modelo murino promueven la angiogénesis del tumor.<sup>574</sup> Los mecanismos de inhibición dependen del tipo de tumor; los más estudiados describen la capacidad para bloquear linfocitos CD4 y CD8 y la reacción antígeno-específica y no específica; también su acción en la inmunidad innata para bloquear la citotoxicidad de las células NK, así como la activación de las células dendríticas y la función de los macrófagos.<sup>579</sup> Se ha propuesto que los mecanismos por los cuales las MDSCs alterarían la función de los linfocitos T son dependientes de la actividad de ARG 1 producida sobre los linfocitos. Entre los principales efectos desencadenados por la expresión de ARG sobre los linfocitos T, se informa la inhibición por contacto, la inducción de Treg y la apoptosis, todos ellos con el claro propósito de regular negativamente la respuesta inmune frente al tumor.<sup>454, 526, 540, 580</sup> La inhibición por contacto requiere la presencia de las dos principales enzimas del metabolismo de L - Arg, ARG y NOS, en las MDSCs.<sup>581</sup> Por otra parte, se informó que la inducción de apoptosis es dependiente de la alta producción de peroxinitritos, derivados del metabolismo de L - Arg por NOS2, y las bajas concentraciones de L - Arg. La NOS2 y ARG 1 producidas por las MDSCs pueden actuar individual o sinérgicamente en la regulación negativa de la función de los linfocitos T.<sup>448, 526</sup> La inducción de ARG 1 sólo, resulta en un bloqueo reversible de la proliferación de células T. Cuando ambas enzimas son inducidas juntas, los peroxinitritos generados por iNOS

en condiciones de limitación de L - Arg, causan activación de los linfocitos T para experimentar apoptosis.

- La inmunohistoquímica mostró que la infiltración del tumor por PMN reduce la ARG1 intracelular, en comparación con los PMN intravasculares o peritumorales, lo que sugiere un papel de liberación en el microambiente tumoral de ARG 1.<sup>454</sup>

Otro efecto de la privación de L - Arg es el de la regulación positiva de la expresión de ASS. La regulación al alza de ASS permite que los linfocitos T generen L - Arg endógena a partir de citrulina, incluso en ausencia de L - Arg o en presencia de un aumento de la expresión de ARG 1 por las MDSCs. Esta observación abre posibilidades terapéuticas para el uso de citrulina como una solución para superar la deficiencia de L - Arg. La función anormal de las células T causada por las MDSCs se restaura a través de la repleción de L - Arg o a través del bloqueo de la función de la ARG 1. La producción patológica de ARG 1 en las MDSCs en pacientes con cáncer, después del traumatismo o cirugía podría causar el agotamiento de L - Arg, lo que resultaría en la disfunción de células T, en la alteración de la producción de NO y en última instancia conduce a una mayor susceptibilidad a la infección. Este cuadro cumple con todos los requisitos necesarios para que pueda ser llamado con el nombre de síndrome de deficiencia de L - Arg (ADS). El conjunto de signos o síntomas son: un incremento patológico en la ARG1, una disminución de la disponibilidad de L - Arg, disminución de la producción de NO, disfunción de las células T caracterizado por la pérdida de la cadena CD3 $\zeta$ , y una predisposición a la infección.

-La inhibición de la acción de las MDSCs tanto in vivo como in vitro, por depleción de las mismas o uso de inhibidores de las enzimas metabolizadoras de L - Arg como NOHA y sildenafil restaura la respuesta inmune, disminuyendo la proliferación de las células Treg y la tolerancia inducida por el tumor y restablece la proliferación de los linfocitos T y la expresión de CD3 $\zeta$ . Los hallazgos muestran que las MDSCs tienen capacidad para captar y presentar antígenos específicos del tumor a las Treg con requerimiento de L - Arg; es así como se establece un rol para las MDSCs en la inducción de la tolerancia mediante la captación de antígenos.<sup>384, 454, 528, 540, 572, 580</sup>

El tratamiento para el déficit de L - Arg debe convertirse en una prioridad clínica si es que es un síndrome asociado con consecuencias patológicas. Se discuten varias estrategias posibles de tratamiento:

a) -La inhibición del desarrollo y/o de la activación de MDSCs. La inhibición del desarrollo de MDSCs podría ser abordado por factores derivados del tumor que mejoran la mielopoyesis (por ejemplo, GM-CSF). Alternativamente, la inhibición del STAT3 podría ser útil, porque su activación en células precursoras ha demostrado ser esencial para el desarrollo de MDSCs.

b) -El bloqueo de la expresión de ARG 1. La producción de PGE2 por tumores parece ser central en la inducción de ARG 1 en la MDSCs en un modelo de cáncer de ratón. El uso de inhibidores de COX-2 se ha demostrado para prevenir el aumento de ARG 1 e inhibir el crecimiento del tumor (figura nº20).

c) -Bloqueo farmacológico de la función de ARG 1. Inhibidores de ARG 1, aunque ninguno todavía ha alcanzado algún grado de aplicación clínica.<sup>99</sup>

d) -El uso de L - Arg en la dieta.

El uso de suplementos de L - Arg en la dieta, junto con los ácidos grasos  $\omega$ -3 ha sido ampliamente probado en más de 40 estudios en pacientes quirúrgicos de alto riesgo, lo que lleva a una reducción constante y significativa de las infecciones postoperatorias. Sobre la base de estos estudios, la Sociedad Europea de Nutrición Enteral y Parenteral (SENPE) ha publicado recientemente sus directrices para recomendar el uso rutinario de las dietas que contienen L - Arg en pacientes quirúrgicos.<sup>582-585</sup> La citrulina, un precursor de L - Arg, se ha convertido recientemente en una alternativa muy interesante, ya que se tolera bien y puede ser beneficiosa incluso en condiciones de alta actividad de ARG 1. Un metanálisis reciente demostró que el grupo suplementado en la dieta con L - Arg tenía una respuesta significativamente mayor en la proliferación de CD4<sup>+</sup>, la incidencia de complicaciones infecciosas era menor y una estancia hospitalaria más corta aunque este último dato no tenía significación estadística;<sup>527, 586-588</sup> se está añadiendo L - Arg a la nutrición enteral para intensificar la función inmune.<sup>589</sup> Ni la iNOS ni ARG 1 se inducen en los linfocitos T, que es una marcada diferencia entre estas células y las células mieloides.

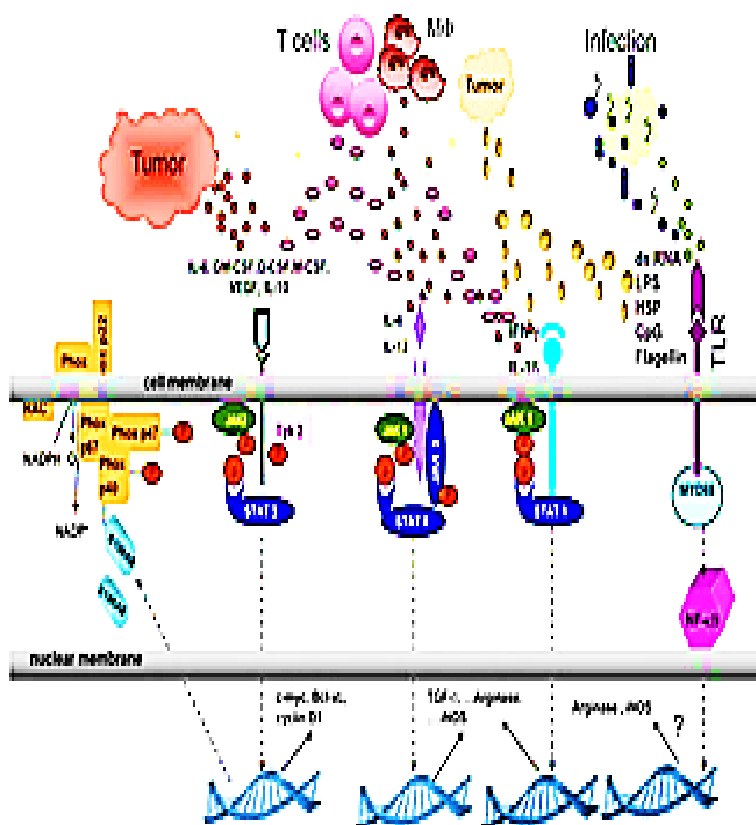


Figura 21. Vías involucradas en la activación de las MDSCs

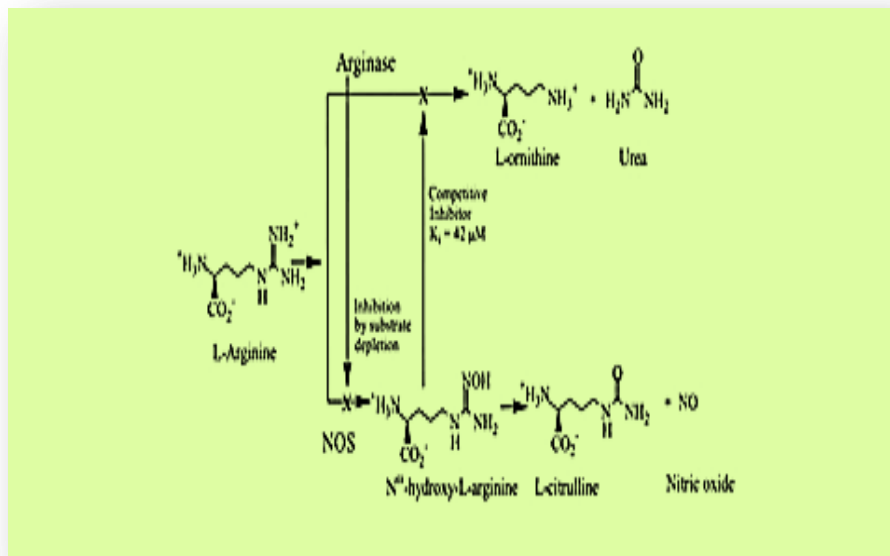
Tabla 3. Condición de la enfermedad y deficiencia de L - Arg.

Condición de la enfermedad	Nivel de L - Arg	Activiada ARG	Biomarcadores anormales
Cáncer	↓	↑ en MSC	↓ zeta -Chain Proliferación de células T ↓
Trauma	↓	↑ en MSC	↓ zeta -Chain Proliferación de células T ↓
Tuberculosis. La infección crónica	↓	↑ en MSC	↓ zeta -Chain Proliferación de células T ↓
Necrosis hepática	↓↓	↑ en el suero	↑ La hipertensión pulmonar
Enfermedad Hemolítica	↓	↑ en el suero	↑ La hipertensión pulmonar



### 5.3. Óxido Nítrico Sintetasa (NOS).

El descubrimiento de la NOS, que cataliza la oxidación de L - Arg para formar NO y citrulina, ha generado un interés significativo por la interacción entre las vías de la NOS y ARG. Un gran número de tejidos expresan ARG tanto de tipo 1 como de tipo 2 así como NOS porque estas enzimas compiten por un sustrato común, la L - Arg. La N<sup>ω</sup>-hidroxi-L - Arg, un intermediario en la síntesis de NO, es un inhibidor potente de ARG (figura nº22). Cantidades significativas de la N<sup>ω</sup>-hidroxi - L - ARG se disocian del sitio activo de la NOS para servir como un inhibidor endógeno de la ARG en macrófagos y células endoteliales.<sup>391</sup>



**Figura22. La relación entre la actividad de la ARG y NO Sintetasa.** La síntesis N<sup>ω</sup>-Hidroxi - L - Arg por la NO Sintetasa requiere O<sub>2</sub> como sustrato.

La L - Arg es también el sustrato para los enzimas NOS. Los enzimas NOS son dímeros que requieren la presencia de calmodulina y los cofactores 5, 6, 7, 8 tetrahydrobiopterina (BH4), hierro, protoporfirina IX (grupo Hem), FAD y FMN para su actividad completa. Se han descrito 3 isoformas<sup>590</sup> que tienen identidad en un 50%, pero que difieren en la localización intracelular, regulación, propiedades catalizadoras y sensibilidad inhibitoria. Las tres isoenzimas NOS, producen óxido nítrico: endotelial (e NOS), neuronal (n NOS) e inducible (iNOS). De las tres enzimas, n NOS y e NOS son calcio dependiente; iNOS es independiente de calcio y se produce en respuesta a las citoquinas y a la endotoxina. Una vez inducida iNOS produce altos niveles de óxido nítrico:<sup>586</sup>

-NOS1, también conocida como la **nNOS**, predomina en el tejido nervioso.

-NOS2, también conocida como la **iNOS**, es la isoforma inducible que está presente en varias células del sistema inmune, incluyendo varios tipos de células mieloides. La expresión de la NOS2 y la producción de NO han sido descritas en los macrófagos de ratón, neutrófilos, eosinófilos y células NK. Las citoquinas Th2 pueden inducir la actividad de la ARG 1 y las citoquinas Th1 inducen NOS2.<sup>354</sup> El  $\text{INF-}\gamma$ , citoquina Th1, es inductor de la actividad de NOS2 principalmente unido al LPS; también pueden activar NOS2 otras citoquinas inflamatorias como la IL-1, TNF,  $\text{INF-}\alpha$  o  $\text{INF-}\beta$ .<sup>354</sup>

- y NOS3, también conocida como la **eNOS**, encontrada en las células endoteliales.<sup>354</sup> Las tres isoformas, nNOS, iNOS y eNOS producen NO a partir de L - Arg.

Se identifican dos dominios en cada isoforma NOS: un dominio amino-terminal oxigenasa y un dominio-carboxy terminal reductasa. Los electrones donados por la conversión del NADPH a NADP son transferidos al dominio amino oxigenasa a través de una cadena redox que implica al transportador de electrones FAD y FMN. El dominio amino-terminal oxigenasa utiliza entonces los cofactores Hem y BH4 para catalizar la reacción entre el  $\text{O}_2$  y la L - Arg para generar NO y L - citrulina; se requiere la presencia de calmodulina para el flujo electrónico. El NO es un mediador biológico que actúa como un regulador fisiológico y que puede ser responsable de daño tisular.

Las principales funciones fisiológicas reguladas por el NO incluyen:

-vasodilatación endotelial sistémica y pulmonar. La vasodilatación inducida por el NO previene el acúmulo de mediadores lesivos para el endotelio. Se demostró que había un acúmulo de metabolitos de NO en el plasma humano durante la sepsis. Esto coincidió con un aumento de los niveles de endotoxina en la circulación y disminución de la resistencia vascular sistémica (como una medida de la vasodilatación excesiva).<sup>591</sup>

-funciones inmunomoduladoras y

-función protectora en la respuesta inflamatoria.

#### **5.4. Proteína C Reactiva (PCR).**

Compuesta por cinco subunidades de 23 kDa, la proteína C-reactiva (PCR) es un derivado pentraxina hepática que juega un papel clave en la respuesta inmune innata. La PCR tiene una vida media en plasma de unas cuantas horas y ahora se entiende que es un mediador, así como un marcador de enfermedad aterotrombótica. La mayoría de los procesos que producen lesiones tisulares, como infecciones, inflamaciones y neoplasias malignas, se asocian con una fuerte respuesta de la PCR en fase aguda. La respuesta de la PCR frecuentemente precede a los síntomas clínicos, incluyendo la fiebre. Al iniciarse la respuesta de fase aguda, su concentración sérica aumenta rápida y acentuadamente. Las alteraciones de la concentración pueden detectarse tras 6-8 horas, mientras el valor máximo se alcanza pasadas 24 a 48 horas. La PCR activa la vía clásica del complemento. El seguimiento postoperatorio de los niveles de PCR permite comprobar si el paciente se recupera normalmente (los niveles disminuyen hasta ser normales) o si sufre complicaciones inesperadas (los niveles permanecen altos). Una concentración sérica elevada de PCR significa un pronóstico grave que suele indicar la presencia de una infección fuera de control; la PCR responde rápidamente a los cambios en la actividad de la enfermedad.<sup>592</sup>

La PCR induce la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales humanas en presencia de suero. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que puede desempeñar un papel directo en la promoción del componente inflamatorio de la arteriosclerosis y presentar un objetivo potencial para el tratamiento de la arteriosclerosis.<sup>593</sup> Hasta la fecha estudios epidemiológicos prospectivos realizados en personas sin antecedentes previos de enfermedad cardiovascular demuestran que la PCR es un predictor fuerte de futuros sucesos cardiovasculares, duración de estancia hospitalaria prolongada en pacientes sometidos a cirugía no urgente de revascularización coronaria y muerte,<sup>594-601</sup> que en la mayoría de los casos ha resultado independiente de la edad, el tabaquismo, los niveles de colesterol, presión arterial y diabetes.<sup>595</sup> La PCR, es un marcador de inflamación que se ha demostrado en múltiples estudios epidemiológicos prospectivos para predecir incidencia de IAM, ACV, enfermedad arterial periférica y muerte repentina. Los niveles de PCR también se han utilizado para predecir el riesgo tanto de isquemia recurrente como de muerte entre las personas con angina de pecho estable e inestable,<sup>602</sup> los sometidos a angioplastia percutánea, y los que se presentan en las salas de emergencia con síndromes coronarios

agudos. La aterotrombosis, además de ser una enfermedad de acumulación de lípidos, también representa un proceso inflamatorio crónico.

- La inflamación se ha evaluado ampliamente en el contexto de la cirugía cardíaca. Numerosos estudios han evaluado el impacto de la CEC sobre la reacción inflamatoria observada tras operaciones cardíacas. Por lo tanto, el estado inflamatorio preoperatorio podría ser considerado un factor de riesgo para la reacción inflamatoria postoperatoria, magnificando los efectos de los factores de estrés inflamatorios intraoperatorias de la CEC, como la isquemia, la endotoxemia, y el traumatismo quirúrgico.

a) En un estudio prospectivo de 113 pacientes sometidos a cirugía sin CEC, Gaudino et al <sup>603</sup> demostraron que los pacientes con valores de PCR preoperatoria superiores a 0,5 mg/dl tenían un pico significativamente más alto de PCR en el 2 ° día de postoperatorio. Existe una correlación positiva y significativa entre la PCR y las citoquinas proinflamatorias tras cirugía cardíaca <sup>603</sup> en pacientes con angina estable o inestable. <sup>602,</sup> <sup>604</sup> La evaluación perioperatoria de otros marcadores inflamatorios como las interleucinas proinflamatorias o TNF- $\alpha$  en grandes series de pacientes quirúrgicos sería difícil, caro, y probablemente menos útil para la evaluación clínica del riesgo. <sup>597</sup> Es probable que sea la hora de estandarizar la evaluación del estado inflamatorio antes y después de las operaciones cardíacas; la PCR puede desempeñar tal función. La capacidad de la PCR preoperatoria para predecir el resultado a corto plazo después de la cirugía cardíaca ya ha sido reconocida.

b) Cappabianca et al <sup>597</sup> mostraron que un nivel de PCR preoperatoria de 0,5 mg/dL o más fue un predictor independiente de las infecciones totales e infecciones de la herida esternal. Además, los pacientes con este nivel de PCR experimentaron una mayor incidencia de sepsis, <sup>605</sup> muerte causada por sepsis, y un tiempo prolongado de ventilación mecánica. <sup>597</sup>

c) Del mismo modo, Boeken, <sup>224</sup> en un estudio de 100 pacientes que habían sido sometidos a cirugía coronaria y válvular, mostraron que un nivel de PCR preoperatorio superior a 0,5 mg/dl se asociaba con una mayor incidencia de complicaciones sépticas, necesidad de soporte inotrópico, y significativamente mayor duración de la ventilación mecánica y la estancia en unidad de cuidados intensivos.

d) En consecuencia, Fransen <sup>606</sup> evidenció que la incidencia de infecciones postoperatorias fue significativamente mayor en los pacientes con un aumento de los niveles de PCR preoperatorios que en aquellos con niveles normales de PCR; una infección se desarrollaba más frecuentemente durante el postoperatorio en pacientes que tenían niveles significativamente más altos de PCR en el preoperatorio (17,8 +/- 3,9 mg / L en comparación con 7,7 +/- 0,7 mg / l). La PCR superior a 0,8 mg/dl, junto con diabetes mellitus y tiempo de CEC de más de 112 minutos, fueron factores de riesgo independientes para desarrollar infecciones postoperatorias. Por otra parte, los pacientes con niveles de PCR preoperatorios más elevados tuvieron una estancia hospitalaria significativamente más larga que aquellos con niveles normales de PCR.

e) Biancari <sup>607</sup> informó que un nivel de PCR preoperatoria de 1 mg/dL o más es un factor de riesgo independiente de complicaciones y de mortalidad postoperatoria en 764 pacientes de CABG. Su análisis encontró que las complicaciones cardíacas son la principal causa de muerte perioperatoria.

f) En cuanto a la aplicación clínica, la PCR parece ser un predictor más fuerte de sucesos cardiovasculares que el colesterol LDL, y añade información pronóstica en todos los niveles calculados. Los niveles de PCR de < 1, 1-3 y > 3 mg/dl corresponden a bajo, moderado, y alto riesgo de sucesos cardiovasculares futuros. Las personas con colesterol LDL por debajo de 130 mg/dl que tienen niveles de PCR > 3 mg/L representan un grupo de alto riesgo a menudo olvidado en la práctica clínica. La adición de PCR a la evaluación estándar de colesterol puede por lo tanto proporcionar un método simple y de bajo costo para mejorar la predicción del riesgo global y el cumplimiento de los enfoques preventivos. <sup>595</sup>

Una posible explicación de la mayor tasa de complicaciones infecciosas postoperatorias en pacientes con alto estado inflamatorio preoperatorio consiste en la observación de que el crecimiento bacteriano es mayor en presencia de concentraciones elevadas de mediadores proinflamatorios. <sup>608</sup> En su estudio de pacientes con SDRA, Meduri <sup>609</sup> demostró que la neumonía asociada a la ventilación mecánica y la mortalidad consecuente se relacionan con la magnitud y la duración de la respuesta inflamatoria del huésped. Los estudios clínicos han mostrado asociaciones positivas entre la respuesta inflamatoria sostenida e intensa y la incidencia de infecciones bacterianas. La hipótesis de que las citoquinas secretadas por el huésped (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) durante el SDRA

pueden de hecho favorecer el crecimiento de bacterias y explicar la asociación entre la inflamación sistémica exagerada y prolongada y el desarrollo frecuente de infecciones nosocomiales. Cuando las bacterias fueron expuestas in vitro a una concentración más baja de citoquinas, el crecimiento bacteriano extracelular e intracelular no fue promovido y las células monocíticas humanas eran eficaces para destruir dichas bacterias. A la inversa, cuando las bacterias fueron expuestas a concentraciones más altas de citoquinas pro-inflamatorias, el crecimiento bacteriano intracelular y extracelular aumentó de una manera dependiente de la dosis. La respuesta inflamatoria excesiva y no específica observada en el grupo HIS (Alto estado inflamatorio) puede favorecer, similar a los pacientes con SDRA, infecciones perioperatorias. Los estudios futuros deben evaluar cómo el sistema inmune reacciona a una agresión infecciosa en función de la activación anterior o no activación del sistema inflamatorio. La interpretación de los valores preoperatorios de PCR altos puede ser difícil: pueden ser debidos a una infección oculta o subyacente, a la extensión y a la gravedad de la patología cardíaca (por ejemplo, angina inestable, IAM, ICC). La conclusión inicial es que los pacientes con un estado inflamatorio activado antes de la cirugía cardíaca tenían un peor resultado a medio plazo. Un valor de PCR de 0,5 mg/dL o más es un factor de riesgo independiente de mortalidad y hospitalización por sucesos cardíacos durante el seguimiento. En los pacientes sometidos a revascularización miocárdica a través de angioplastia percutánea, los estudios prospectivos evidenciaron que la PCR afecta a la supervivencia y la tasa de reestenosis. Las evaluaciones de la PCR postoperatoria mostraron que después de un pico alcanzado a las 48 horas del postoperatorio, la inflamación tiende a disminuir sobre el 4º día del postoperatorio. Las relaciones entre la cascada inflamatoria y la arteriosclerosis son bien conocidas: la iniciación, el crecimiento, y la complicación de una placa arteriosclerótica parecen ser la respuesta inflamatoria del endotelio a las lesiones producidas por factores de riesgo como la HTA, el tabaquismo, DM, y la hipercolesterolemia. Inicialmente se sugirió que la PCR podía ser un biomarcador, ahora parece ser un mediador de aterogénesis.<sup>610</sup> La PCR activa las células endoteliales y aumenta la expresión y actividad del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) en las células endoteliales humanas,<sup>611</sup> y por tanto promueve la aterogénesis al disminuir la fibrinólisis. Los pacientes con un estado inflamatorio preoperatorio altamente activo pueden conservar esa condición después de la operación, con la consiguiente progresión de la enfermedad arteriosclerótica y un mayor riesgo de oclusión precoz del injerto. El tratamiento con estatinas preoperatorias se asocia con

una disminución de la morbilidad y la mortalidad después de la cirugía cardíaca. El tratamiento con estatinas en pacientes con un valor de PCR de 0,6 mg/dL o más, sometidos a cirugía cardíaca reducen la incidencia de muerte de causa cardíaca, IAM, y tener que repetir la intervención del vaso implantado.<sup>612, 613</sup> Los efectos del tratamiento con estatinas en el estado protrombótico después de cirugía cardíaca pueden ser prometedores. Los pacientes con un estado inflamatorio activado que se sometieron a operaciones cardíacas mostraron un aumento de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca. Se necesitan ensayos futuros para determinar un papel protector a medio plazo de los antiinflamatorios en pacientes con un estado inflamatorio elevado que se someten a cirugía cardíaca.

g) En otro estudio los niveles preoperatorios de PCR de 3 mg/l se asociaron con disminución de la supervivencia y estancia hospitalaria prolongada en pacientes programados para cirugía cardíaca sin síntomas de isquemia coronaria en el momento de la revascularización quirúrgica. El Sistema inflamatorio está implicado en la patogénesis de la isquemia coronaria y los marcadores de la inflamación se correlacionan con el pronóstico; el siguiente estudio confirmó la asociación entre los niveles preoperatorios elevados de PCR  $>$  o igual de 3mg/l con el riesgo aumentado de isquemia recurrente a 1-6 años después del bypass coronario sugiriendo que los marcadores de la inflamación sistémica pueden ser útiles en valorar el pronóstico a largo plazo en pacientes programados para revascularización coronaria.<sup>602</sup>

h) También se ha demostrado que los niveles preoperatorios de PCR que oscilan entre 3 y 10 mg/l son predictores independientes de aumento de mortalidad a largo plazo y estancia hospitalaria prolongada incluso en pacientes sin evidencia de lesión miocárdica.<sup>594</sup> Los niveles elevados de PCR han surgido como un predictor independiente fuerte de enfermedad cardiovascular en pacientes aparentemente sanos; en pacientes con síndrome coronario agudo la PCR es un predictor aumentado de morbimortalidad independientemente de los niveles de troponina elevados.

i) Los estudios previos en pacientes de cirugía cardíaca sugirieron que los niveles preoperatorios elevados de PCR  $>$  10mg/l se asocian con un aumento de la mortalidad postoperatoria y mayor estancia hospitalaria en pacientes programados para cirugía coronaria con circulación extracorpórea.

j) También hay un número de estudios que sugieren beneficio con la asociación preoperatoria de estatinas y mejora de la supervivencia en el postoperatorio. Los hallazgos de estos estudios no apoyan ni rebaten la importante cuestión de si la PCR es un mediador proinflamatorio de mortalidad postoperatoria o simplemente es un marcador. Un número de estudios implican a la PCR como un importante mediador para generar la placa coronaria de ateroma, incluyendo la captación de LDL por los macrófagos, estimulando la expresión de las moléculas de adhesión de las células endoteliales y activando las proteínas del complemento. En este estudio se mostró que los niveles preoperatorios de PCR aumentados predecían mortalidad a largo plazo en pacientes programados para injerto coronario. Nuevos perfiles de los mecanismos proinflamatorios de la PCR la establecerán como un factor de riesgo potencialmente modificable tanto en pacientes quirúrgicos como no quirúrgicos. La confirmación de una relación causal directa entre la PCR y resultados cardiovasculares requerirá más investigaciones.<sup>594</sup> Los niveles elevados de PCR pueden ser usados como un marcador pronóstico útil en los pacientes programados para revascularización coronaria con circulación extracorpórea, también pueden ayudar a confeccionar el tratamiento con medidas más agresivas que a los pacientes con niveles de PCR normales.<sup>602</sup>

k) -Giovanna Liuzo et al <sup>614</sup> llegaron a la conclusión que la elevación preoperatoria de la PCR, reactante de fase aguda, indicador sensible de inflamación, predice una pobre salida en pacientes con angina inestable;<sup>365</sup> así mismo puede reflejar un importante componente inflamatorio en la patogénesis de esta situación.<sup>614</sup>



### 5.5. .Especies reactivas de oxígeno (R.O.S.).

La inflamación es una manifestación de la función del sistema inmune que es estimulada por la invasión de microorganismos y/o lesión tisular. Por consiguiente la respuesta inflamatoria está dirigida para aislar y destruir a los microorganismos invasores y células lesionadas y preparar al tejido para la reparación y regeneración. Ambas, la fase de inducción y la fase de resolución de la respuesta inflamatoria dependen de los cambios funcionales y estructurales de la microcirculación. Esos cambios incluyen afectación de la función vasomotora, reclutamiento de leucocitos, disminución de la función barrera del endotelio, aumento de la angiogénesis y de la trombosis.<sup>19</sup>

La producción intensificada de ROS y disminución de la biodisponibilidad de NO derivado de eNOS que acompaña a la respuesta inflamatoria, juega un papel importante en la disfunción de la microcirculación; la restauración del balance normal entre el ROS y NO devolverá la función vascular a su estado normal.<sup>19</sup>



Figura 23. Efectos del NO y ROS en la inflamación.



## **HIPOTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO**



## 6. HIPOTESIS Y OBJETIVO DE TRABAJO.

### 6.1. Introducción

La cirugía cardíaca, con o sin bypass cardiopulmonar, provoca una respuesta inflamatoria vigorosa en todos los pacientes.<sup>1, 2, 7, 8, 9, 10, 15, 16, 17, 23, 29, 33, 174</sup> Esta respuesta inflamatoria es bien tolerada por la mayor parte de ellos pero puede resultar en consecuencias deletéreas en algunos individuos, con consecuencias clínicas serias en una minoría a pesar de los avances en farmacología, técnicas de perfusión, monitorización cardiovascular y técnica anestésica y quirúrgica. Esto es más evidente con respecto a la disfunción pulmonar y cardiovascular postoperatoria. La etiología de esos sucesos es probablemente una composición de inestabilidad hemodinámica peribypass, isquemia miocárdica global, perfusión orgánica subóptima durante el bypass y sucesos inmunes por la exposición a la CEC per se. Una respuesta inflamatoria excesiva, junto con una depresión importante de la inmunidad siguiendo a esta cirugía mayor, parece subyacer a una susceptibilidad aumentada al desarrollo de complicaciones sépticas,<sup>131, 443</sup> las cuales incluyen infección local, neumonía, sepsis y MOFS. Este estado de inmunosupresión durante las fases tempranas del postoperatorio, o después del traumatismo, puede estar vinculado al descenso en la proliferación de células T,<sup>42</sup> la producción de citoquinas (INF- $\gamma$ ) y en la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  del TCR/CD3. Tanto *in vitro* como *in vivo* en el modelo animal y en células humanas se ha demostrado que la disminución de los niveles de L - Arg induce una baja expresión de la cadena CD3 $\zeta$  del TCR/CD3<sup>42, 43</sup> y una disminución en la producción de citoquinas como el IFN- $\gamma$ . La PCR es una proteína plasmática circulante, que aumenta sus niveles en respuesta a la inflamación (proteína de fase aguda); es sintetizada en el hígado y liberada en procesos inflamatorios. Niveles elevados de PCR se asocian con un pronóstico adverso en pacientes con enfermedad de arteria coronaria.<sup>164, 552</sup> Estudios previos en pacientes de cirugía cardíaca sugieren que niveles preoperatorios elevados de PCR están asociados con un aumento en la mortalidad a corto y largo plazo.<sup>161</sup>

### 6.2. Hipótesis de trabajo.

Sabiendo que altos niveles de PCR se correlacionan con la existencia de respuesta inflamatoria sistémica, queremos saber si niveles altos de ARG se correlacionan con esta respuesta inflamatoria sistémica.

### 6.3. Objetivos planteados.

1. Examinar el comportamiento de la ARG en los distintos momentos temporales, preoperatorio, 24 horas, 48 horas y 72 horas y observar el comportamiento del resto de las variables (leucocitos, P.C.T, P.C.R, L - Arg, CD3ζ, linfocitos, plaquetas y lactato) en los momentos temporales citados.
2. Establecer la relación existente entre la severidad de la cirugía cardíaca y ARG a las 24 horas.
3. Analizar la relación entre el tiempo de clampaje y tiempo de CEC con ARG a las 24 horas. Detallar la relación entre el tiempo de clampaje y tiempo de CEC con el desarrollo de SIRS.
4. Analizar la relación entre los niveles de PCR en el preoperatorio con la incidencia de complicaciones postoperatorias y determinar la relación entre los niveles de PCR en el preoperatorio con la incidencia de SIRS.
5. Valorar la implicación de la actividad ARG en el comportamiento del resto de variables (L - Arg, CD3ζ, leucocitos, linfocitos, plaquetas, lactato, PCT, PCR).
6. Examinar la implicación de la actividad ARG en la respuesta inflamatoria sistémica (Valorar implicación de la actividad ARG 24 horas con SIRS).
7. Construcción del “índice de inflamación” y del “índice de inmunidad” y posterior relación con ARG, PCR, CD3ζ y SIRS.
8. Detallar la relación existente entre ARG y complicaciones postoperatorias hasta el 7º día, estancia en UCI y estancia hospitalaria total.

## HIPOTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO





## **MATERIAL Y METODOS**



## **7. MATERIAL Y METODOS.**

### **7.1. Material**

#### **7.1.1. Instalaciones**

El presente trabajo se ha realizado en:

- Los laboratorios del Centro Biosanitario de Investigación Experimental de la Universidad de Salamanca y en los laboratorios del Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

-Instituto de Biología Molecular y Celular del cáncer, centro de investigación del cáncer, CSIC. Universidad de Salamanca, Campus Miguel de Unamuno 37007 Salamanca.

-APOINTECH, Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE).Parque científico de la Universidad de Salamanca c/Río Duero 12 37185 Villamayor, Salamanca.

-Departamento de Anestesiología, Hospital Universitario de Salamanca. Paseo Sn Vicente s/n 37007 Salamanca.

-Departamento de Anestesiología, Hospital La Paz, Paseo de la Castellana nº 261,28476 Madrid.

#### **7.1.2. Instrumental y equipo**

Durante el desarrollo de este trabajo se ha hecho uso de:

##### **7.1.2.1 MATERIAL PARA EL DESARROLLO DE LA TECNICA ANESTESICA.**

A) Inventariable.

Estación de anestesia Primus de Dragger.

.Vaporizador de gases; laboratorio Abbot

.Bombas de infusión continua de fármacos intravenosos, laboratorio Braun

.Ecógrafo

.Equipo de monitorización hemodinámica..

Laringoscopio de pala recta, laringoscopio óptico (Airtraq®). Fibrobroncospio.

B) Fungible.

.Jeringuillas: 5, 10 y 20cc.

.Catéteres de punción venosa 18G, 16G, 14G.

.Tubos endotraqueales de baja presión Mallinckrodt Medical.

.Catéter de Seldinger para punción arterial 20G; Vigon.

.Equipo para catéter venoso central de poliuretano de dos lúmenes (14 y 18G) percutáneo heparinizado; Laboratorios Abbot. Equipos de Swan Ganz.

.S. fisiológico 0,9%, suero Ringer Lactato, Voluven 6%, suero glucosalino 1/5.

#### 7.1.2.2 MEDICACIÓN.

-Midazolam 5mg

-Escopolamina

-Atropina 1mg (Atropina ® Braun).

-Etomidato

-Cloruro de Fentanilo 0,15mg (Fentanest®) kern Pharma.

-Remifentanilo

-Cisatracurio (Nimbex®), Rocuronio (Esmeron®)

-Propofol 1%

-Sevoflurano D.C.I (Sevorane ®, Abbot)

-Heparina sódica 1% (Heparina Leo 1%. BYK LEO)

-Cefazolina 2 gr

- Protamina

- Bicarbonato sódico 8,4% (venofusín ® Fresenius Kabi)

### 7.1.3. ANALISIS Y PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

#### 7.1.3.1 Ordenador.

Intel®core™8Gb RAM. 500GB disco duro.

#### 7.1.3.2 Tarjeta gráfica

NVIDIA Ge Force GT

#### 7.1.3.3 Monitor

#### 7.1.3.4 Impresora

#### 7.1.3.5 Escaner

#### 7.1.3.6 Internet.

Búsquedas bibliográficas utilizando la base de datos medline®, US National Library of Medicine®, Pubmed®, uptodate®, biblioteca virtual del Sacyl.

#### 7.1.3.7 Software

Microsoft® Windows® 7 Home Premium

- Microsoft office 2010 starter (Word y Excel).
- Microsoft Power Point®.
- Microsoft Access®.
- Programa SPSS de estadística.

## **7.2. Método**

### **7.2.1. Métodos**

Un estudio observacional, longitudinal y prospectivo fue realizado en dos periodos; el primer periodo se realizó en el Hospital de La Paz en Madrid entre Julio de 2010 y Abril de 2011. El estudio fue aprobado por el comité de ética e investigación humana del Hospital de La Paz, y fue obtenido el consentimiento informado escrito.

El segundo periodo se realizó en el Hospital Universitario de Salamanca entre el 6 de Marzo de 2012 y 18 de Febrero de 2013. El estudio también fue aprobado por el comité de ética e investigación humana del Hospital Universitario de Salamanca y fue obtenido

también el consentimiento informado escrito. Eran excluidos del estudio los pacientes con tratamiento inmunosupresor, tratamiento por enfermedad renal, tratamiento con corticoides, FE < 40%, pacientes que mostraban enfermedad maligna, sepsis o inflamación. Se obtuvieron 43 pacientes programados para cirugía cardíaca, valvular o coronaria. No se incluyó ningún paciente considerado cirugía urgente.

### **7.2.2. Técnica anestésista**

Todos los pacientes fueron premedicados con una inyección intramuscular que contenía atropina a una dosis de 0,1mg/kg asociada a escopolamina a una dosis de 0,3mg/kg. La monitorización hemodinámica consistió en el ECG continuo de cinco derivaciones, FC, TAI, PVC, PAI, PCP, GC, IC, RVS y RVP. La monitorización ventilatoria en Vt, FR, Vm, relación I:E, Ppk y Pmes de vías aéreas; SatO<sub>2</sub>, ETCO<sub>2</sub>, complianza de vías aéreas, PEEP, FiO<sub>2</sub> y FeO<sub>2</sub>, curvas flujo/volumen, curvas presión/volumen. Además se monitorizó gasto urinario y profundidad anestésica (BIS). La ecocardiografía transesofágica nos sirvió de gran utilidad. Tras la premedicación se procedió a canalizar una vena periférica 18G. Se comenzó la preoxigenación con O<sub>2</sub> al 100% durante 3-4 minutos; la anestesia fue inducida con midazolam (0,03mg/kg), etomidato (0,3mg/kg), remifentanilo (0,05µg/kg/min) y cisatracurio (0,15mg/kg) para facilitar la intubación orotraqueal; tras lo cual se procedió a conectar a los pacientes a ventilación mecánica con los siguientes parámetros: Vt de 6-8 ml/kg, FR de 10-12 respiraciones/minuto, relación I:E de 1:2 y una mezcla de oxígeno/aire del 50%. Tras la inducción anestésica se suministró 2 g de Cefazolina iv, en pacientes alérgicos se administró Vancomicina.

Para el mantenimiento anestésico se empleó propofol a una dosis de 3-6 mg/kg/h, o sevoflurano al 1-2% de concentración inspiratoria dependiendo de las características fisiopatológicas del paciente, remifentanilo a dosis de 0,1-0,6 µg/kg/min, y cisatracurio a dosis de 0,03mg/kg/h i.v. A continuación se procede a canalizar la vena yugular interna vs vena subclavia con un catéter de poliuretano de 2-3 luces, por el cual se administraron líquidos (s.fisiológico 0,9% y/o ringer lactato y/o voluvén 6%) así como diferentes fármacos, y nos sirve además para monitorizar la PCP, GC, RVS, RVP, IC. Si era necesario se canalizaba otra vena periférica de grueso calibre 16G o 14G y así mismo se canalizó la arteria radial por el método de Seldinger para la medición de la TAI y para la extracción de muestras sanguíneas. Los fármacos anestésicos eran

dosificados para mantener la TAS dentro del 25% de los valores basales. La TAM de 50-70 mmHg y el flujo de sangre de 2,2-2,6L/min/m<sup>2</sup> eran mantenidos durante el CPB.

El equipo de CPB incluía bombas de rodillo no pulsátiles y oxigenadores de membrana (Affinity®, Avacor, Bellshill, UK). Los pacientes recibieron una dosis inicial de heparina sódica de 300U/Kg antes de comenzar el CPB, y se añadieron dosis adicionales hasta conseguir un TCA (tiempo de coagulación activado) de 450seg. Durante el CPB se usó hipotermia moderada (28-31°) en todos los pacientes. El arresto cardíaco era conseguido y mantenido usando una solución cardiopléjica sanguínea fría anterógrada /retrógrada. El Hct era mantenido por encima del 21% en el CPB y por encima del 27% en el postoperatorio por la transfusión de concentrados de hematíes. Todos los pacientes eran recalentados a 37° antes de la separación del CPB. Después del destete del CPB, se utilizó sulfato de protamina para neutralizar los efectos de la heparina hasta que se consiguió un TCA basal junto con una perfusión de noradrenalina o dobutamina si era necesario; la infusión de propofol (2-4 mg/kg/h) era continuada en ambos grupos en el periodo postoperatorio hasta que los pacientes eran extubados en UCI; también se continuaba con el remifentanilo para controlar el dolor, al cual se le podía asociar paracetamol 1gr i.v o metamizol 2 gr i.v.

Se establecieron cuatro grupos, uno el grupo control con todos los datos preoperatorios de los 43 pacientes; y el resto de grupos con los datos de los mismos parámetros de los 43 pacientes a las 24, 48 y 72 horas, para comparar con los datos del grupo control y entre ellos. Al ser datos apareados y no seguir una distribución normal la prueba más apropiada para ver si hay diferencias significativas entre los grupos es la prueba de Friedman. También se observó la relación que había entre la ARG y el resto de variables orgánicas mediante regresiones lineales y no lineales. Quisimos saber la implicación de la ARG en la cirugía cardíaca y la inflamación que provoca para lo cual se realizó un análisis de cluster con el que se agruparon las variables y se determinó si algunas agrupaciones ayudaban a determinar inflamación o no. Se recogieron las muestras sanguíneas y en el laboratorio se prepararon las muestras de la siguiente manera. Cogimos 3 ml de Ficoll con pipeta de nuestro tubo morado y lo dejamos caer suavemente por las paredes del nuevo tubo azul, con cuidado para que no se mezclaran; a continuación centrifugamos durante 30 minutos a 1500 r.p.m. Colocamos en la centrifugadora el contrapeso enfrente de la muestra. En otro tubo nuevo colocamos 4 ml de PBS, le añadimos los “grumos”, una fina capa o interfase de unos 2 mm de nuestra

muestra, y centrifugamos durante 5 minutos a 1500 r.p.m. De la nueva muestra extraemos el líquido sobrante dejando solamente 1 cc junto con el botón de sobrenadante. A continuación se conservó en frío.

### **7.2.3. Variables estudiadas**

Las variables registradas incluían edad, sexo, altura, peso, IMC, clasificación según el índice de riesgo de cirugía cardíaca (Euroscore, sistema europeo para la evaluación del riesgo operatorio en cirugía cardíaca), FE, historia personal y tratamientos. Tipo de proceder quirúrgico, tiempo de clampaje aórtico, tiempo de circulación extracorpórea; troponina, leucocitos, linfocitos, urea, creatinina, Hb, TP, TTPA, fibrinógeno y plaquetas; complicaciones, tiempo en UCI, tiempo total de hospitalización. Los datos se recogieron en una tabla de Excel que posteriormente se trasladó a una tabla de SPSS para realizar el análisis estadístico.

Las variables estudiadas eran niveles de L - Arg, niveles de PCR, expresión del CD3 $\zeta$ , actividad de la ARG, linfocitos, leucocitos, plaquetas, lactato y PCT.

#### **A) PROTEINA C REACTIVA.**

Determinación cuantitativa de la PCR en suero y plasma humanos con los sistemas Roche/Hitachi cobas c.

La PCR humana se aglutina con las partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-CRP. El precipitado se determina por turbidimetría. La prueba se llama inmunoturbidimetría potenciada con partículas.

#### **B) RECUENTO DE CÉLULAS VIABLES MEDIANTE TRYPAN BLUE.**

La reactividad del Trypan Blue se basa en el hecho de que el cromóforo está cargado negativamente y no interacciona con la célula a menos que la membrana esté dañada. Por lo tanto, todas las células que excluyen el colorante son viables. Para realizar el conteo de células viables, se tomó 0,5 ml de una suspensión celular a la cual se añadió 0,1 ml de Trypan Blue al 0,4%, se homogeneizó y se dejó a temperatura ambiente por 5 min. Bajo el microscopio y utilizando una cámara de Neubauer se procedió a contar las células viables no teñidas. El porcentaje de células viables se calculó como sigue:



% n° Células viables = [(n° células viables) / (n° células viables + n° células no viables) x 100]

### C) AISLAMIENTO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

Las células sanguíneas fueron aisladas a partir de sangre periférica humana por sedimentación con dextrano al 6% en PBS, para eliminar el exceso de eritrocitos. La solución que contiene las células sanguíneas fue centrifugada durante 8 min a 1200 rpm. El pellet celular fue resuspendido en PBS en una proporción 1:1 con respecto al gradiente de densidad Ficoll-Paque. La resuspensión celular fue dispensada encima del gradiente y centrifugada a 1500 rpm durante 45 min. Las células mononucleares se obtuvieron de la interfase formada entre el gradiente y el PBS. Se realizaron dos lavados con PBS y se resuspendieron en RPMI-1640 (10% SFB, 2 mM de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina). La preparación de células T esta formada típicamente por 65-71% CD3+, 27-29% CD19+, y <0.4% CD14+. Con la finalidad de purificar las células T, las células no adherentes se lavaron con PBS y se pasaron dos veces a través de una columna de lana de nylon para disminuir las células B y monocitos residuales como se ha descrito previamente.<sup>202</sup> Estas células fueron incubadas toda la noche a 37°C en atmósfera humidificada y 5% de CO<sub>2</sub>. Después de la incubación se recogieron las células no adherentes (células T) que fueron posteriormente lavadas con PBS y resuspendidas en medio RPMI-1640 (10% SFB, 2 mM de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina). La proliferación de las células T fue inducida mediante la incubación durante cuatro días con 0,5 µg/ml PHA, que activa la proliferación primaria y la expresión del receptor de interleuquina-2 (IL-2), seguido de un día de tratamiento con 0,5 µg/ml PHA y 50 U/ml (IL-2) en RPMI-1640 (10% SFB, 2 mM de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina). Las células T resultantes fueron CD25+ en más del 80%. Las células polimorfonucleares fueron aisladas del pellet celular resultante del gradiente de Ficoll-Paque, los eritrocitos residuales fueron eliminados por choque osmótico mediante la resuspensión del pellet celular en 8 ml PBS y 24 ml de agua destilada durante 1 min 15 seg. La isotonicidad se restableció mediante la adición de 1 ml de cloruro de sodio 5 M. Las células fueron centrifugadas a 800 g durante 7 min.

#### D) GENERACIÓN DE SONICADOS DE NEUTRÓFILOS

Los neutrófilos purificados de sangre periférica humana fueron resuspendidos en PBS ( $4 \times 10^7$  células/ml) y sonicados durante 3 min (80 amplitud) en un Sonicador Ultrasonic Processor XL (Misonix, Inc. New Highway, Farmingdale, NY), y centrifugados a 20000 g durante 30 min a 4°C. El sobrenadante fue filtrado (0.2  $\mu$  m) y se midió la concentración de proteínas del extracto, mediante la solución comercial Kit Protein Assay (BioRad, Richmond, CA, USA). La concentración de proteínas totales de cada muestra se determinó mediante la interpolación de las absorbancias obtenidas en una curva patrón realizada con concentraciones conocidas de BSA (Sigma).

#### E) ACTIVIDAD ARG

Para medir la actividad ARG de los sonicados de neutrófilos se utilizaron 40  $\mu$ l, a los cuales se agregó 10  $\mu$ l de 10 mM MnCl<sub>2</sub>; la enzima fue activada calentando la reacción a 56°C durante 10 min. La hidrólisis de L - Arg fue medida mediante la conversión de L - Arg a urea, para lo cual se añadió 50  $\mu$ l de L - Arg 0,5 M (pH 9.7) y se incubó a 37°C de 15 a 120 min. La reacción fue detenida con 400  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O (64%), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (27%) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (9%) (7/3/1, v/v/v). La concentración de urea fue medida a 540 nm tras la adición de 20  $\mu$ l de  $\alpha$  isonitrosopropiophenone de 6% (disuelto en 100% etanol) seguido de calentamiento a 95°C durante 30 min. Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima necesaria para catalizar la formación de 1  $\mu$ mol de urea/min.

#### D) EL FENOTIPO CD3Z.

Para realizar la prueba fenotípica del CD3 $\zeta$ , las células eran fijadas y permeabilizadas por medio del equipo de fijación y permeabilización permanente celular (Laboratorios CALTAG) siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego eran incubadas con anticuerpos monoclonales de ratón contra CD3 $\zeta$  (Beckman Coulter, Inc) a una dilución 1:100 en PBS durante 15 minutos a temperatura ambiente. La muestra se lavaba con PBS, manchada durante 15 min con IgG antiratón Cy2 conjugada a una dilución 1:50 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc). Posteriormente se analizaba en un citómetro de flujo Calibur (FACS) de clasificación celular de fluorescencia activado Becton Dickinson. Los datos son expresados como un porcentaje, con respecto al preoperatorio que es el 100%.

## **RESULTADOS**



## 8. RESULTADOS.

La cirugía cardíaca con circulación extracorpórea como cualquier intervención quirúrgica provoca variaciones en ciertos parámetros orgánicos. Con este análisis pretendemos determinar cuál ha sido el comportamiento de algunos de estos parámetros que son considerados más importantes en este tipo de cirugía.

Los parámetros que analizamos son los siguientes:

- Actividad ARG
- Niveles de L - Arg
- Niveles de CD3ζ
- Leucocitos
- PCR
- Linfocitos
- Plaquetas
- Lactato
- Procalcitonina

Analizamos la variación que sufren desde el preoperatorio hasta las 72 horas de la intervención haciendo hincapié en la variación que sufren sobre todo a las 24 horas de la intervención. Esta variación se mide tomando muestras de sangre a los pacientes, antes de la intervención (preoperatorio), a las 24, 48 y 72 horas de la cirugía. También se comprobará si existe relación entre alguno de ellos, principalmente cómo se comportan algunos parámetros con respecto a la actividad ARG y se analizará si es posible decidir el comportamiento de la actividad ARG previo a la operación con las variables relacionadas con la severidad de la cirugía, se darán estimaciones curvilíneas de estas relaciones. Además de la ARG, también tendrá un papel importante en este análisis el comportamiento de la PCR que junto con los leucocitos serán un medidor de la inflamación postoperatoria.

Otras variables que también se revisarán y de las que comprobaremos que tipo de relación pueden tener con la actividad ARG, son las siguientes:

- Complicaciones postoperatorias.
- Estancia prolongada en UCI.

- Estancia total en el hospital.
- SIRS.
- Severidad de la cirugía cardíaca.
- Tiempo de circulación extracorpórea y tiempo de clampaje.

Pasamos a continuación a describir la muestra; contamos con una muestra de 43 pacientes de los cuales 29 son hombres y 14 son mujeres.

**Tabla 4. Descriptivos de la edad del total y por sexo.**

		Total muestra	Hombres	Mujeres
N	Válidos	43	29	14
	Perdidos	0	0	0
Media		70,44	69,90	71,57
Error típ. de la media		1,322	1,608	2,378
Mediana		72,00	71,00	72,00
Mínimo		49	51	49
Máximo		84	84	83

La edad media de la muestra es de 70,44 años y si lo vemos por sexo la edad media para hombres es de 69,90 y para las mujeres de 71,57 años, cabe destacar que el error típico de la media de la edad de las mujeres es el doble que el error típico de la media de la edad en los hombres. La mediana es aproximadamente igual y tanto los valores máximos como mínimos son parecidos (tabla nº4). Hay evidencias estadísticas para considerar que la variable edad tanto conjuntamente como por sexo sigue una distribución normal ya que la significación muestral al realizar una prueba de normalidad es mayor que 0,05.

Dada la normalidad de la variable edad se procedió a realizar un contraste t de Student para muestras independientes con el fin de comprobar si había diferencias significativas entre las edades según el sexo. En la prueba de Levene se obtuvo un valor del estadístico de 0,121 con significación muestral de 0,729 con lo cual se acepta la hipótesis de igualdad de varianzas. Realizada esta comprobación se realizó la prueba t de Student y se obtuvo un valor del estadístico de -0,589 con significación muestral de 0,559, es decir, hay evidencias estadísticas para poder asumir que no hay diferencias entre las edades de los pacientes según el sexo.

Según el sexo encontramos que existen diferencias significativas en la actividad ARG del preoperatorio, siendo mayor en los hombres y en el CD3 $\zeta$  a las 72 horas de la intervención, siendo mayor en las mujeres. Este aumento del CD3 $\zeta$  en las mujeres

supone que podemos asumir que en las mujeres la mejoría de la operación es más temprana que en los hombres.

Pasamos a analizar el comportamiento de los parámetros que hemos enumerado, especialmente queremos evaluar en qué momento se da la variación máxima y si esta variación es en ascenso o descenso.

**8.1 ARG: Comportamiento en los distintos momentos temporales.**

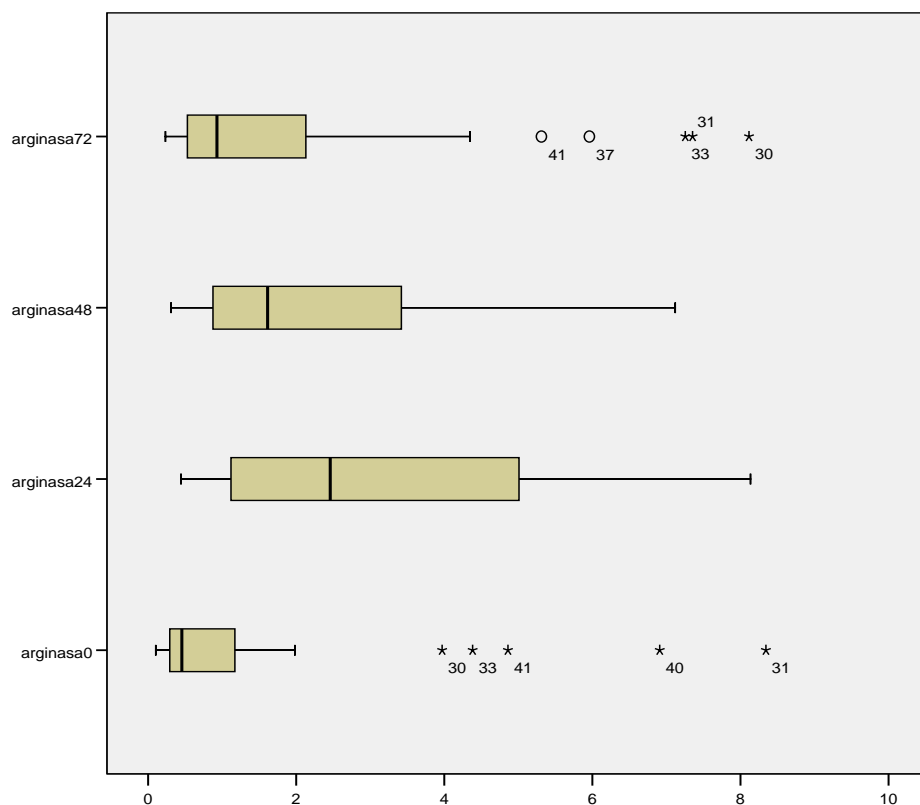
Empezamos con el análisis de los datos de la actividad ARG, dada la relevancia de esta variable para el trabajo. Estos datos fueron tomados en 4 momentos temporales a las mismas personas, a saber, en el preoperatorio, a las 24 horas, a las 48 horas y a las 72 horas de la intervención quirúrgica. Por esta razón consideraremos que los datos son apareados. Presentamos la tabla de los estadísticos más importantes que nos servirán para realizar una descripción de la actividad ARG en esta muestra.

**Tabla 5. Descriptivos ARG.**

	Media (Error tip. media)	Mediana	Asimetría	Curtosis
ARG 0	1,200298 (,2763)	,455000	2,665	7,040
ARG 24	3,244316 (,3645)	2,459000	,583	-,936
ARG 48	2,292549 (,2858)	1,614000	1,060	-,005
ARG 72	1,831170 (,3217)	,929200	1,792	2,228

Disponemos de 43 individuos en cada medición, siendo para cada momento la media mayor que la mediana y el coeficiente de asimetría mayor que 0 luego los datos de la muestra presentan asimetría a la derecha. Además la forma de la distribución de los datos en nuestra variable es leptocúrtica para la ARG 0 y para ARG 72 ya que presentan un valor mayor que 0, para la ARG 24 presenta forma platicúrtica (coeficiente de curtosis menor que 0) y para la ARG 48 presenta forma mesocúrtica (coeficiente de curtosis aproximadamente 0) (tabla nº5).

Para poder observar desde un punto de vista gráfico esta descripción presentamos el diagrama de cajas conjunto de las 4 variables.



**Figura 24. Diagrama de cajas de ARG en los 4 momentos temporales.**

Se observa en el gráfico la falta de simetría en los datos, como hemos visto en los estadísticos anteriores, ya que la mediana no está centrada en cada una de las cajas y además los bigotes de la derecha de cada caja son mayores que los de la izquierda.

También se puede observar en el gráfico que la ARG sufre un fuerte aumento a las 24 horas de la intervención reduciéndose la cantidad de ARG en el organismo según transcurre el tiempo llegando casi a las condiciones del preoperatorio a las 72 horas de la intervención, también podemos observar tanto en el preoperatorio como a las 72 horas de la intervención que hay 5 datos que pueden considerarse atípicos (figura nº24).

Para confirmar la falta de normalidad en la variable actividad ARG en los distintos momentos temporales se realiza un contraste no paramétrico, la prueba de normalidad de Kolmogorov – Smirnov (K – S). La significación muestral que se obtuvo fue menor de 0,05 por lo que podemos decir que tenemos evidencias estadísticas para no asumir la normalidad de la variable ARG en cada momento temporal. Queremos saber a continuación si este aumento y posterior descenso es significativo. Como estamos trabajando con muestras relacionadas y las variables presentan falta de normalidad, realizaremos pruebas no paramétricas, exactamente la prueba de Friedman y además daremos una medida de concordancia entre las variables aportando la W de Kendall.



## RESULTADOS

Como son pruebas no paramétricas, trabajamos con los rangos de los datos, el mayor rango medio corresponde a la ARG 24, a continuación comprobamos si hay diferencias significativas entre los 4 grupos.

Al realizar la prueba de Friedman, obtenemos un valor del estadístico Chi – cuadrado de 50,749, con 3 grados de libertad, la significación muestral es de 0,000 menor que 0,01 luego hay evidencias estadísticas para poder afirmar que hay diferencias significativas entre las medidas de ARG tomadas en los distintos momentos temporales y que la máxima variación se da a las 24 horas de la intervención. El valor de la W de Kendall es de 0,393 lo que supone una concordancia media baja entre las variables, asumiendo que este valor está en el intervalo 0 y 1.

Presentamos también la tabla de los valores extremos, (tabla nº6), hemos comentado anteriormente que al cabo de las 72 horas de la intervención los pacientes vuelven a tener los niveles de ARG en la misma medida que en el preoperatorio lo cual ocurre incluso en aquellos pacientes que presentan niveles de ARG elevados en el preoperatorio.

**Tabla 6. Datos atípicos de laARG.**

ARG Preoperatorio		ARG 24 horas		ARG 48 horas		ARG 72 horas	
Nº de caso	Valor	Nº de caso	Valor	Nº de caso	Valor	Nº de caso	valor
31	8,3439	26	8,1360	15	7,1200	30	8,1152
40	6,9098	4	8,0020	36	6,1815	31	7,3535
41	4,8595	31	7,6025	29	6,0270	33	7,2554
33	4,3827	34	7,3884	42	5,9375	37	5,9598
30	3,9706	37	6,8833	33	5,1698	41	5,3119
2	,1030	43	,4445	41	,3099	5	,2340
8	,1340	36	,5589	6	,3490	6	,3210
6	,1350	33	,6695	35	,4767	9	,3720
17	,1460	19	,6970	43	,5453	21	,4440
4	,1570	17	,6970	5	,5510	1	,4520

### 8.2. Comportamiento del resto de las variables orgánicas en los distintos momentos temporales.

Una vez analizada la actividad ARG pasamos al resto de variables orgánicas que nos interesan. En la tabla siguiente se presentan los estadísticos más importantes de los distintos parámetros orgánicos con los que se va a trabajar. Cada cuatro filas corresponde a una variable medida a cada paciente en distinto momento temporal. En cada caso, la variable va seguida de un número que se refiere al momento temporal correspondiente. En la tabla se presentan dos bloques de variables diferenciados, las que tienen fondo rojo que son aquellas que presentan máxima

variación aumentando sus niveles iniciales y las que tienen fondo verde que son las que presentan máxima variación disminuyendo sus niveles iniciales (tabla n°7).

**Tabla 7. Descriptivo del resto de variables.**

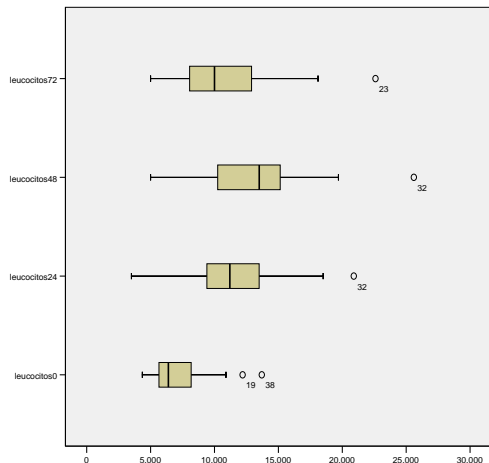
Variable	N	Media (Error típ.)	Mediana	Asimetría (Error típ.)	Curtosis (Error típ.)
leucocitos0	43	7009,30 (318,460)	6390,00	1,342 (.361)	1,757 (.709)
leucocitos24	43	11671,63 (556,534)	11200,00	,255 (.361)	,178 (.709)
leucocitos48	43	12906,28 (638,215)	13500,00	,463 (.361)	,752 (.709)
leucocitos72	43	10632,09 (559,944)	10000,00	1,037 (.361)	1,536 (.709)
procal0	29	,07231 (.005586)	,07000	1,777 (.434)	6,456 (.845)
procal24	29	2,78748 (1,086119)	,53700	2,913 (.434)	7,631 (.845)
procal48	28	1,58693 (.659066)	,45550	3,798 (.441)	15,310 (.845)
procal72	29	1,36383 (.506236)	,35100	2,939 (.434)	8,442 (.845)
PCR0	43	,30305 (.045360)	,22000	2,459 (.361)	8,987 (.709)
PCR24	43	9,01679 (.516113)	8,55000	,488 (.361)	-,473 (.709)
PCR48	43	19,70230 (.721488)	20,33700	-,479 (.361)	,695 (.709)
PCR72	43	18,62995 (.762220)	19,62400	-,698 (.361)	,453 (.709)
L - Arg 0	14	6,129 (.6179409)	6,128950	,667 (.597)	1,134 (1,154)
L - Arg 24	14	5,524 (.9916446)	4,501350	1,729 (.597)	2,453 (1,154)
L - Arg 48	14	5,796 (.5158732)	5,533900	,435 (.597)	-,671 (1,154)
L - Arg 72	14	7,382 (1,023698)	5,666500	,637 (.597)	-,796 (1,154)
CD3zeta0	29	100,00 (.000)	100,00		
CD3zeta24	29	37,58610 (2,752362)	35,35000	,450 (.434)	-,591 8 (.845)
CD3zeta48	29	11,10997 (1,238205)	10,12100	,805 (.434)	-,242 (.845)
CD3zeta72	29	9,81362 (1,348228)	6,64500	1,454 (.434)	2,674 (.845)
linfocitos0	43	,271256 (.0147123)	,255000	,651 (.361)	-,244 (.709)
linfocitos24	43	,083772 (.0070070)	,069000	2,219 (.361)	6,164 (.709)
linfocitos48	43	,113363 (.0071212)	,105000	2,062 (.361)	7,865 (.709)
linfocitos72	43	,132553 (.0082056)	,128000	,885 (.361)	,982 (.709)
plaquetas0	43	210232,56 (10351,082)	204000,00	1,579 (.361)	4,574 (.709)
plaquetas24	43	135953,49 (8589,368)	120000,00	1,282 (.361)	1,512 (.709)
plaquetas48	43	117779,07 (6425,079)	110000,00	,834 (.361)	,772 (.709)
plaquetas72	43	115830,23 (6210,945)	112000,00	,823 (.361)	,381 (.709)
lactato0	28	1,7929 (.10273)	1,7500	1,538 (.441)	4,624 (.858)
lactato24	29	1,6517 (.10154)	1,7000	,686 (.434)	-,253 (.845)
lactato48	29	1,5897 (.11632)	1,4000	1,846 (.434)	4,458 (.845)
lactato72	27	1,4111 (.07574)	1,4000	1,726 (.448)	4,813 (.872)

Se considerará máxima variación cuando la diferencia entre la medida siguiente y la anterior de momentos temporales seguidos, sea la mayor de entre las tres posibles que tenemos en este estudio ya que se han tomado muestras en 4 momentos temporales. En la mayoría de los casos la media siempre es menor que la mediana y en estos el coeficiente de asimetría es mayor que 0 por lo que desde un punto vista muestral, las variables que tienen esta situación presentan asimetría a la derecha, en las pocas que ocurre lo contrario la asimetría es hacia la izquierda no presentando simetría ninguna variable. En cuanto a la forma, buena parte de las variables tienen coeficiente de curtosis mayor que 0 por lo que presentan forma leptocúrtica, las que tienen este coeficiente en negativo, presentan forma platicúrtica. Es de sospechar que nuestras variables al presentar asimetría y no ser mesocúrtica, no seguirán distribución normal.

## RESULTADOS

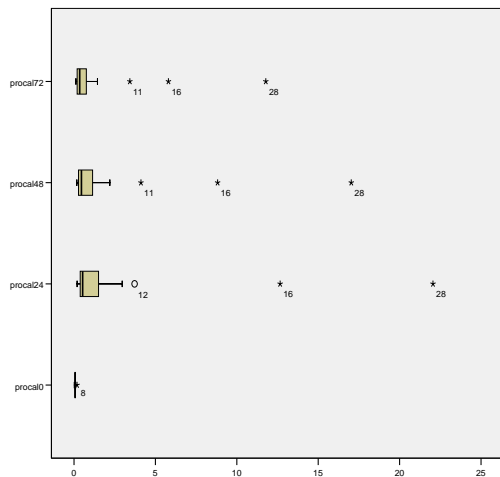
Este hecho supondrá trabajar con la mediana en vez de la media como estadístico centrado de la media. A continuación se presentará el diagrama de cajas para cada variable con sus cuatro momentos temporales (figuras n°25 y n°26) en el orden que aparecen en la tabla. El objetivo es presentar gráficamente la máxima variación de cada valor a lo largo de los 4 momentos temporales evaluados.

### LEUCOCITOS

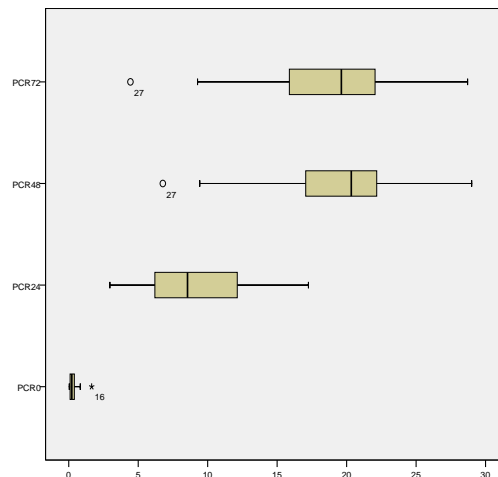


**Figura 25. Diagrama de cajas de leucocitos en los 4 momentos temporales.**

### PROCALCITONINA



### PCR



**Figura 26. Diagrama de cajas de procalcitonina y al lado diagrama de cajas de la PCR en los 4 momentos temporales.**

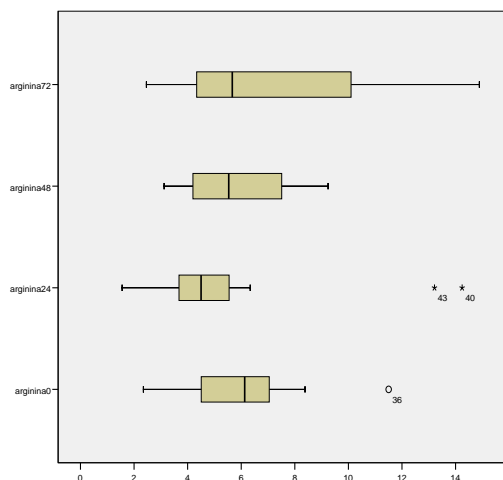
Gráficamente se tiene en cada variable que la máxima variación se da a las 24 horas de la intervención, aunque en el caso de la PCR se tiene que la máxima variación se da a las 48 horas manteniéndose este nivel de PCR a las 72 horas de la intervención (figuras n°25 y n°26).

Si observamos el diagrama de cajas de la procalcitonina se tiene la máxima variación a las 24 horas pero vuelven a los niveles de preoperatorio a las 72 horas, situación que no sucede en los leucocitos ni en la PCR que mantienen niveles elevados a las 72 horas de la intervención.

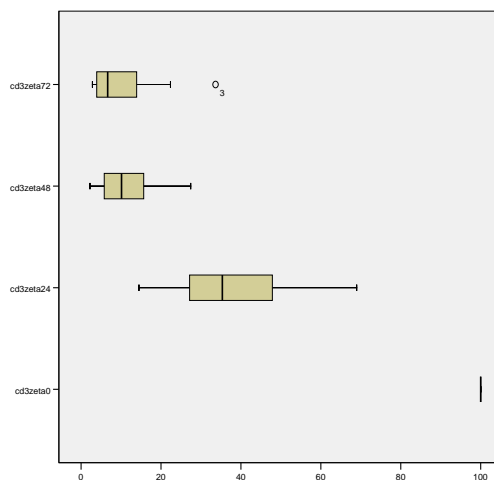
En cuanto a la simetría y la forma de estas variables se sigue confirmando la falta de simetría y se confirma que las variables en todos los momentos presentan forma leptocúrtica.

Observado el comportamiento en las variables que aumentan su nivel a las 24 horas, pasamos a ver el diagrama de cajas de las variables que sufren descenso de sus niveles a las 24 horas de la intervención. El orden que seguiremos es el que hay en la tabla anterior.

**L - ARG**

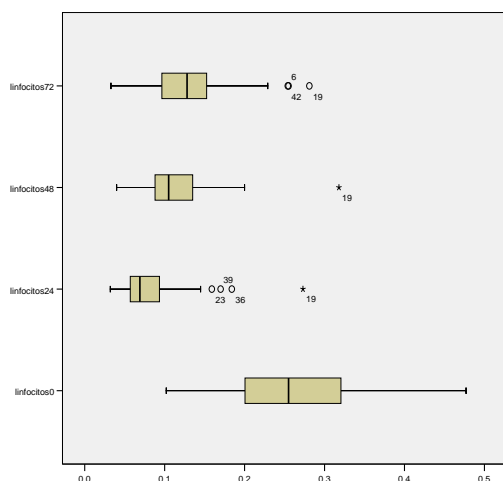


**CD3ZETA**

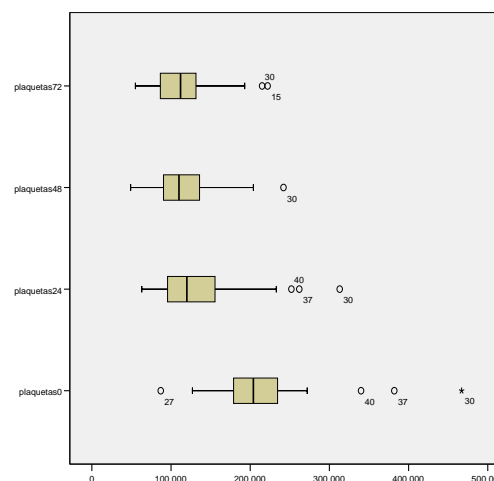


**Figura 27. Diagrama de cajas de la procalcitonina y al lado diagrama de cajas de la CD3ζ en los 4 momentos temporales.**

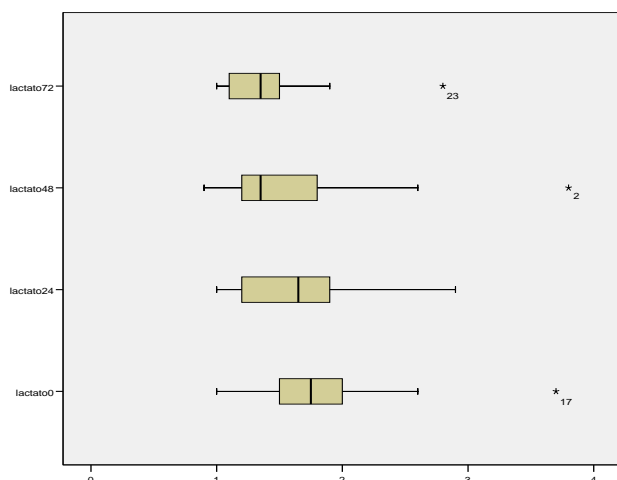
**LINFOCITOS**



**PLAQUETAS**



**LACTATO**



**Figura 28. Diagrama de cajas de los linfocitos, al lado diagrama de cajas de las plaquetas y debajo el diagrama de cajas del lactato todos ellos en los 4 momentos temporales.**

En los diagramas de caja anteriores se puede observar que hay máxima variación en descenso en todas las variables a las 24 horas de la intervención salvo en el lactato que tiene un descenso más paulatino y menos fuerte; obteniéndose la máxima variación en descenso a las 48h, dándose en este momento el valor mínimo. En estas variables, salvo en la L - Arg, ninguna vuelve a su estado inicial a las 72 horas y es posible que esta vuelta a los valores del preoperatorio tarde un poco más.

Los descensos más importantes se dan en el CD3ζ y en los linfocitos además en el CD3ζ a las 48 horas de la intervención sigue descendiendo su nivel (figuras n°27 y n°28).

El nivel de plaquetas, se mantiene una vez que se da la máxima variación de estas a las 24 horas de la intervención. Se sigue confirmando la falta de simetría y la forma de la distribución no es mesocúrtica.

Comprobamos a continuación si hay evidencias estadísticas para poder afirmar que las variables siguen la distribución normal, para ello se realiza de nuevo la prueba de K – S. En todas las variables aparece una valoración temporal que no sigue una distribución normal, es decir, que la significación muestral es menor de 0,05 además los datos son apareados por lo que para poder decidir si hay diferencias significativas entre los valores obtenidos en cada parámetro en cada momento temporal, aplicaremos la misma prueba no paramétrica que se aplicó en el apartado anterior y además igual que para la actividad ARG daremos un nivel de concordancia.

En un primer término se valora el aumento y a continuación el descenso y lo primero que observamos en cada caso son los rangos medios.

**Tabla 8. Rangos medios de variables que aumentan sus niveles.**

	Rango promedio		Rango promedio		Rango promedio
leucocitos0	1,12	procal0	1,00	PCR0	1,00
leucocitos24	2,90	procal24	3,82	PCR24	2,02
leucocitos48	3,59	procal48	3,05	PCR48	3,65
leucocitos72	2,40	procal72	2,13	PCR72	3,33

Con esta tabla (tabla nº8), se valora cuando se da la máxima variación (nº en verde) y cuando se obtiene el valor máximo (fondo en rojo). Salvo en la PCR que se obtiene la máxima variación a las 48 horas de la intervención en el resto de variables en las que aumentan sus valores, la máxima variación se da a las 24 horas aunque se obtengan niveles máximo en otro momento como es en el caso de los leucocitos que la máxima variación se da a las 24 horas pero el valor máximo se da a las 48 horas.

**Tabla 9. Prueba de Friedman para las variables que aumentan sus niveles.**

	LEUCOCITOS	PROCALCITONINA	PCR
N	43	28	43
W de Kendall o coef. de concordancia	,657	,892	,897
Chi-cuadrado	84,734	74,914	115,688
G1	3	3	3
Sig. asintót.	,000	,000	,000

Realizada la prueba de Friedman para estas tres variables, hay evidencias estadísticas para poder decir que el aumento de las medidas a las 24 horas de la intervención es significativo en todas las variables. La concordancia es buena ya que es próxima a uno, salvo en los leucocitos (tabla nº9).

Se valora ahora el descenso y lo primero que veremos en cada caso son los rangos medios

**Tabla 10. Rangos medios de variables que disminuyen sus niveles.**

	Rango promedio		Rango promedio		Rango promedio
L - Arg0	2,64	CD3zeta0	4,00	linfocitos0	3,98
L - ARG 24	2,07	CD3zeta24	2,97	linfocitos24	1,34
L - Arg48	2,50	CD3zeta48	1,72	linfocitos48	2,12
L - Arg72	2,79	CD3zeta72	1,31	linfocitos72	2,57

## RESULTADOS

	Rango promedio		Rango promedio
plaquetas0	3,93	lactato0	3,00
plaquetas24	2,50	lactato24	2,71
plaquetas48	1,77	lactato48	2,25
plaquetas72	1,80	lactato72	2,04

Con esta tabla se valora cuándo se da la máxima variación (nº en verde) y cuando se obtiene el mínimo (fondo en rojo). En la L - Arg, linfocitos y plaquetas se tiene la máxima variación a las 24 horas aunque el mínimo en las plaquetas se alcanza a las 48 horas. En el lactato y el CD3ζ la máxima variación se da a las 48 horas dándose el mínimo a las 72 horas (tabla nº 10).

**Tabla 11. Prueba de Friedman para las variables que disminuyen sus niveles.**

	L - ARG	CD3ZETA	LINFOCITOS	PLAQUETAS	LACTATO
N	14	29	43	43	26
W de Kendall o coef. de concordancia	,057	,897	,740	,620	,119
Chi-cuadrado	2,400	78,021	95,516	79,923	9,289
G1	3	3	3	3	3
Sig. asintót.	,494	,000	,000	,000	,026

Realizada la prueba de Friedman para estas cinco variables, hay evidencias estadísticas para poder decir que el descenso de las medidas a las 24 o 48 horas de la intervención es significativo en todas las variables salvo en la L - Arg que el descenso no es significativo. La concordancia entre las variables es buena salvo para la L - Arg y el lactato que presentan un coeficiente muy bajo (tabla nº11).

### 8.3. Severidad de la cirugía y variables orgánicas en el preoperatorio.

Pasamos ahora a analizar las variables que valoran la severidad de la cirugía cardíaca y la relación que existe de éstas con el aumento que hemos encontrado de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

En primer lugar se realizará el descriptivo de las variables que están valorando la severidad de la cirugía cardíaca:

- ASA
- NYHA
- EUROSCORE

Empezamos con el ASA y el NYHA, en nuestra muestra tenemos los siguientes resultados:

**Tabla 12. Tabla de doble entrada para el NYHA y el ASA.**

		NYHA			Total
		1	2	3	
ASA	2	5	8	0	13
	3	0	27	3	30
Total		5	35	3	43

Se puede observar que la mayoría de los pacientes tienen una valoración de 2 en NYHA y de 3 en ASA exactamente 27 pacientes (tabla nº12). Revisada la asignación de la puntuación del ASA y del NYHA, pasamos a describir la otra variable que se usa para valorar la severidad de la cirugía, el EUROSCORE.

**Tabla 13. Descriptivos del EUROSCORE.**

N	Válidos	43
	Perdidos	0
Media (Error típico de la media)		7,5179 (1,00729)
Mediana		5,0000
Asimetría (Error típico de asimetría)		1,918 (,361)
Curtosis (Error típico de curtosis)		3,976 (,709)

La media es mayor que la mediana y el coeficiente de asimetría mayor que 0, con lo que la distribución de la muestra presenta asimetría a la derecha, además el coeficiente de curtosis es mayor que 0 con lo que tenemos que es leptocúrtica (tabla nº13). A continuación presentamos el diagrama de cajas de la variable.

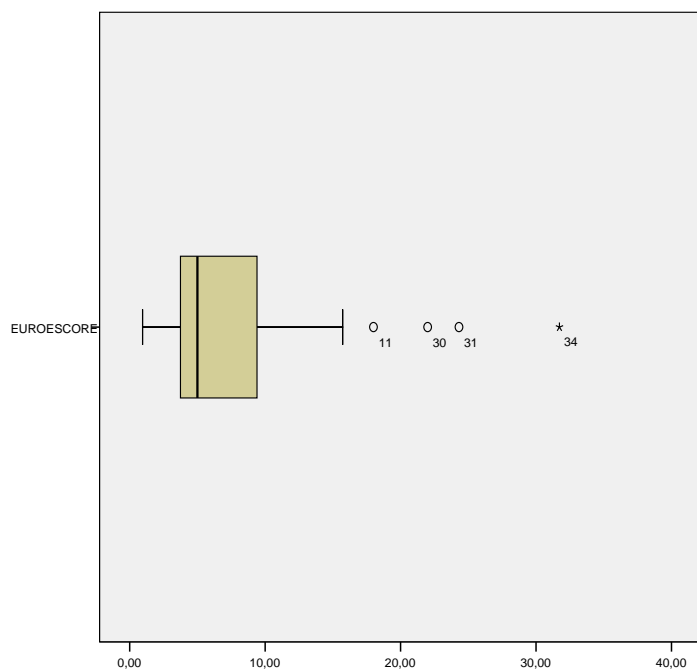
Como se puede observar en el diagrama (figura nº29) además de confirmar la falta de simetría muestral, se observa que hay 4 outliers que se corresponden con valores extremos, cómo podemos ver en la siguiente tabla (tabla nº14).

**Tabla 14. Valores atípicos del Euroscore.**

Caso	Valor	Caso	Valor	Caso	Valor	Caso	Valor
34	31,73	31	24,31	30	22,00	11	18,00



## RESULTADOS



**Figura 29. Diagrama de cajas del Euroscore.**

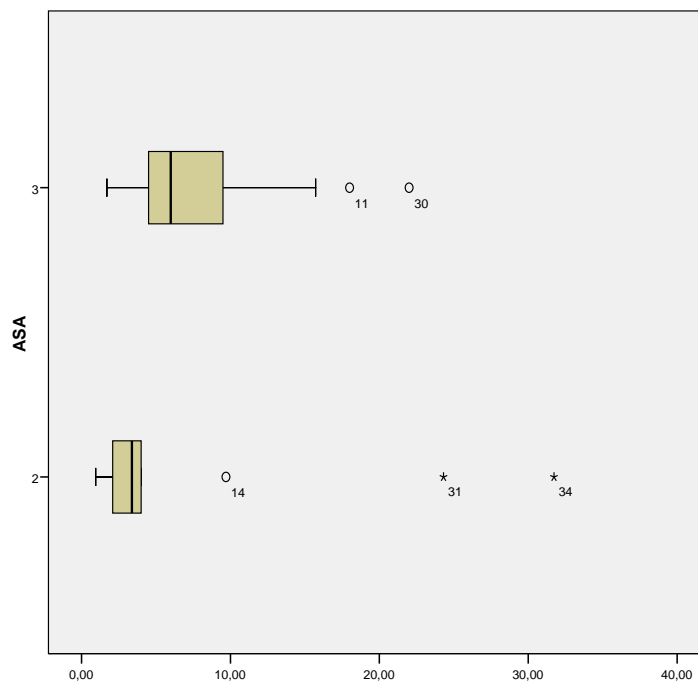
Comprobamos si hay evidencias estadísticas para poder afirmar que la variable sigue una distribución normal, para ello realizamos una prueba de normalidad, obteniéndose un valor del estadístico de 0,207 con 53 grados de libertad y la significación muestral es de ,000 luego hay evidencias estadísticas para poder decir que la variable no sigue una distribución normal.

Seguidamente comprobamos si hay relación entre la asignación de la valoración del ASA y del NYHA y la valoración del EUROSCORE. Se presenta la tabla de descriptivo del EUROSCORE según los valores del ASA en nuestra muestra.

**Tabla 15. Descriptivos del Euroscore según valores del ASA.**

	ASA 2	ASA 3
N Válidos	13	30
Perdidos	0	0
Media (Erro típico de la media)	7,1415 (2,67219)	7,6810 (,90711)
Mediana	3,3800	5,9900
Asimetría (Error típico de la asimetría)	2,083 (,616)	1,243 (,427)
Curtosis (Error típico de la curtosis)	3,397 (1,191)	1,268 (,833)

En ambos casos media mayor que la mediana y con coeficiente de asimetría mayor que 0, luego se tiene asimetría a la derecha, y distribución leptocúrtica (tabla nº15). A continuación se presenta el diagrama de cajas conjunto para cada grupo de los ASA.



**Figura 30. Diagrama de cajas del Euroscore según los valores del ASA.**

Como se puede observar en el diagrama, para los individuos valorados con ASA 2 hay tres valores atípicos, el resto de los individuos con esta valoración están más concentrados que en la caja de los individuos con ASA 3 (figura nº30). Comprobamos si hay diferencias significativas entre ambos grupos, como vimos que la variable EUROSCORE no seguía una normal, para comprobar esto último aplicamos una prueba no paramétrica (Prueba U de Mann – Whitney). Se presenta a continuación la tabla de los rangos medios según la variable ASA (tabla nº16) y se observa que los pacientes valorados con ASA 3 tienen un rango medio mayor que los valorados con 2.

**Tabla 16. Rangos medios del Euroscores según los valores del ASA.**

	ASA	N	Rango promedio	Suma de rangos
EUROSCORE	2	13	15,46	201,00
	3	30	24,83	745,00
	Total	43		

El estadístico de contraste (U de Mann – Whitney) es de 110 y su significación muestral de ,024 luego podemos decir que hay evidencias estadísticas para poder afirmar que

## RESULTADOS

existen diferencias significativas entre las medidas de EUROSCORE con ASA 2 y ASA 3. Hay evidencias estadísticas para poder afirmar que los individuos ASA 3 tienen una puntuación más elevada en la variable EUROSCORE que los individuos ASA 2.

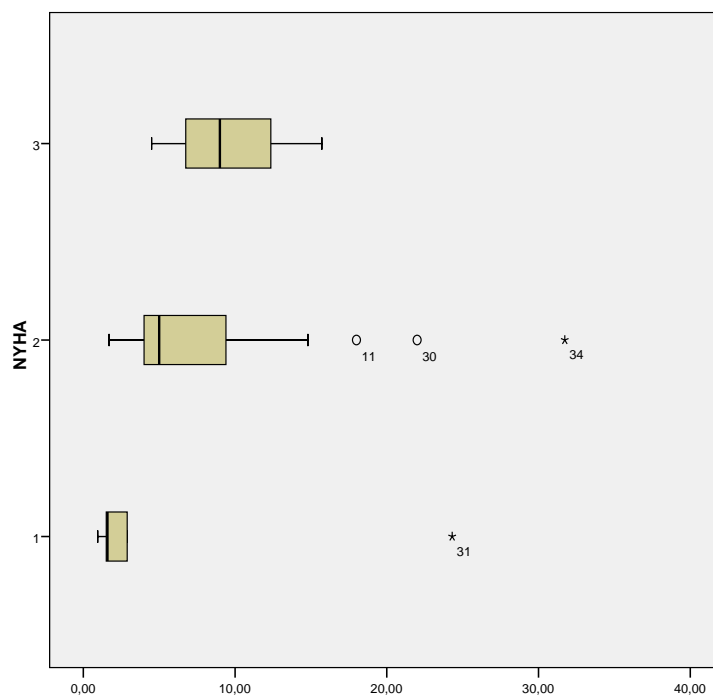
Realizamos el mismo análisis para la variable NYHA. Se presenta la tabla de descriptivo del EUROSCORE según los valores del NYHA en nuestra muestra.

**Tabla 17. Descriptivos del Euroscore según valores del NYHA.**

		NYHA 1	NYHA 2	NYHA 3
N	Válidos	5	35	3
	Perdidos	0	0	0
Media (Erro típico de la media)		6,2500 (4,52618)	7,5086 (1,05961)	9,7400 (3,2600)
Mediana		1,5900	5,0000	9,0000
Asimetría (Error típico de la asimetría)		2,209 (.913)	2,243 (.398)	,580 (1,225)
Curtosis (Error típico de la curtosis)		4,899 (2,000)	6,053 (.778)	

En los tres casos la media es mayor que la mediana y con coeficiente de asimetría mayor que 0, luego se tiene asimetría a la derecha, y distribución leptocúrtica (tabla nº 17).

A continuación se presenta el diagrama de cajas conjunto para cada grupo de la variable NYHA.



**Figura 31. Diagrama de cajas del Euroscore según los valores del NYHA.**

Como se puede observar en el diagrama, para los individuos valorados con NYHA 1 hay un valor atípico, el resto de los individuos con esta valoración están más concentrados que en el resto de cajas. En la caja de los individuos con NYHA 2 hay tres valores atípicos (figura nº31). Comprobamos si hay diferencias significativas entre los tres grupos, como vimos que la variable EUROSCORE no seguía una normal, para comprobar si hay diferencias significativas entre los tres grupos aplicamos una prueba no paramétrica (Prueba Kruskal - Wallis).

**Tabla 18. Rangos medios del Euroscores según los valores del NYHA.**

	NYHA	N	Rango promedio
EUROSCORE	1	5	11,40
	2	35	22,87
	3	3	29,50
	Total	43	

Podemos observar en la tabla anterior (tabla nº18), que existe una diferencia elevada entre los rangos promedios, y este hecho es confirmado por el estadístico de contraste Chi – cuadrado con valor de 4,814, puesto que es un contraste unilateral, hay evidencias estadísticas para poder afirmar que los grupos definidos por el NYHA tienen distinta valoración del EUROSCORE. Ya que la significación muestral (,090) es suficientemente baja y al ser un contraste unilateral, esta significación se divide entre 2, obteniendo un valor de ,045.

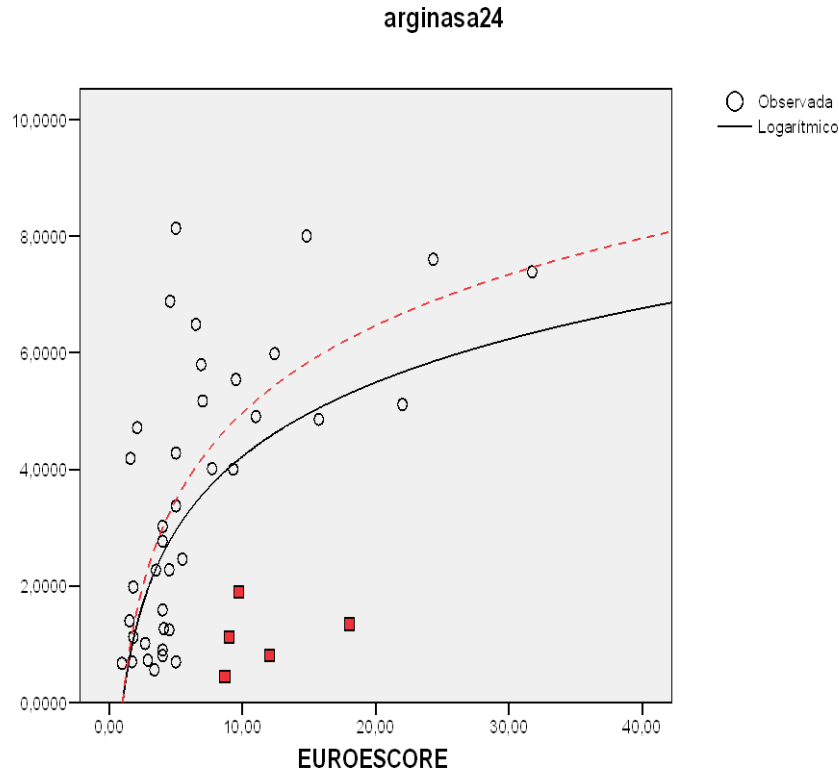
Como conclusión podemos decir que a mayor ASA y mayor NYHA se va a tener un mayor nivel de EUROSCORE.

Hemos descrito y analizado la relación entre las variables que sirven para valorar la severidad de la cirugía cardíaca, queremos ahora ver cuál sería la relación que tiene la variable actividad ARG a las 24 horas de la intervención con estas variables.

### **8.3.1. Relación de la severidad de la cirugía con la actividad ARG a las 24 horas.**

El objetivo en este punto es encontrar un modelo que pueda explicar el comportamiento de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención a partir de la valoración del EUROSCORE. Si observamos el gráfico de dispersión de la variable actividad ARG 24 y la variable EUROSCORE, (figura nº32) se tiene que el modelo que podría explicar este comportamiento es un modelo logarítmico.

## RESULTADOS



**Figura 32. Diagrama de dispersión de Euroscores con ARG y modelos logarítmicos.**

En el diagrama de dispersión se presentan dos modelos logarítmicos, la línea negra es teniendo en cuenta a todos los pacientes y la línea roja es el modelo pero sin tener en cuenta a los pacientes que están representados por un cuadradito con fondo rojo. Estos 5 pacientes de los que prescindimos para el segundo modelo tienen niveles de actividad ARG bajos con respecto a su valoración de EUROSCORE, entonces nos interesa prescindir de ellos en esta parte del estudio para valorar mejor a aquellos pacientes que tienen niveles de actividad ARG mayores y más acordes con su nivel de EUROSCORE, es decir, con el modelo que se presenta damos una frontera superior del nivel de actividad ARG que un paciente tendrá a las 24 horas de la intervención y valores que estén por encima de esta frontera se consideraran elevados.

La ecuación correspondiente al modelo en color rojo es la siguiente:

$$\text{arginasa24} = 2,159 * \ln(\text{EUROSCORE})$$

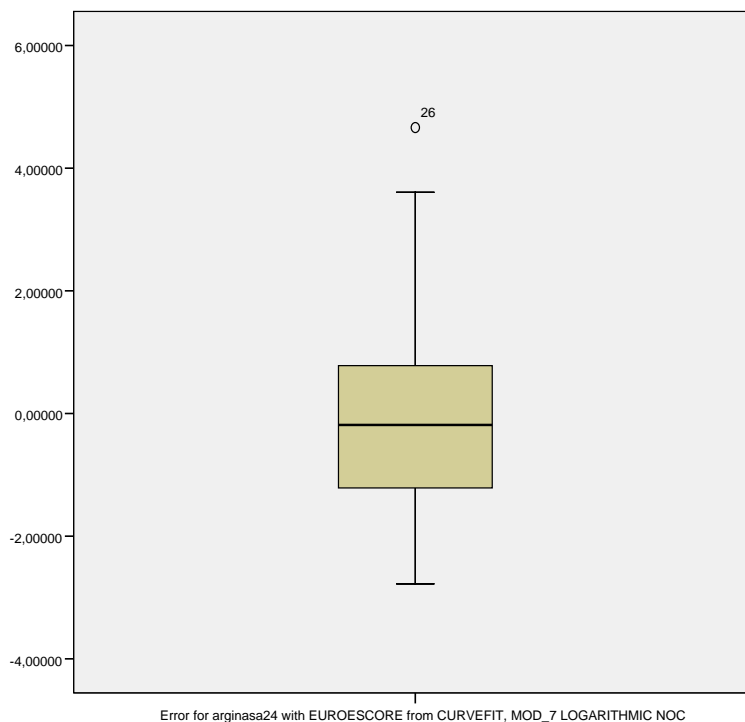
El coeficiente con valor 2,159 es significativo, ya que obtenemos una significación muestral de ,000 lo que significa que hay evidencias estadísticas para poder decir que el coeficiente es distinto de 0. Además, con el ANOVA de la regresión se muestra que la regresión es válida ya que para un valor del estadístico F de 185,868 y grados de

libertad de (1 y 37) se obtiene una significación muestral de ,000 luego hay evidencias estadísticas para poder afirmar que el modelo es apropiado. Como se puede observar en la siguiente tabla, el poder explicativo del modelo es bastante alto, puesto que el valor de la  $R^2$  es de ,834 (tabla nº19).

**Tabla 19. Resumen del modelo.**

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,913	,834	,829	1,753

A continuación se realiza el análisis de los residuos. Comprobamos si los residuos siguen distribución normal, para ello primero presentamos el diagrama de cajas y a continuación se realiza la prueba de Kolmogorov – Smirnov.



**Figura 33. Diagrama del cajas de los residuos del modelo logarítmico.**

Como se puede observar, hay simetría y tenemos un valor atípico.

Al realizar la prueba de K – S encontramos evidencias estadísticas para poder decir que la variable residuos sigue una distribución normal ya que la significación muestral es suficientemente elevada como para aceptar la hipótesis nula de la prueba (figura nº33).

Para concluir con este punto, realizamos el análisis del gráfico de los residuos. En el diagrama se observa que la variable pronosticada (eje horizontal) con respecto a los errores (eje vertical) se dispone en el gráfico de modo aleatorio (figura nº34).

## RESULTADOS

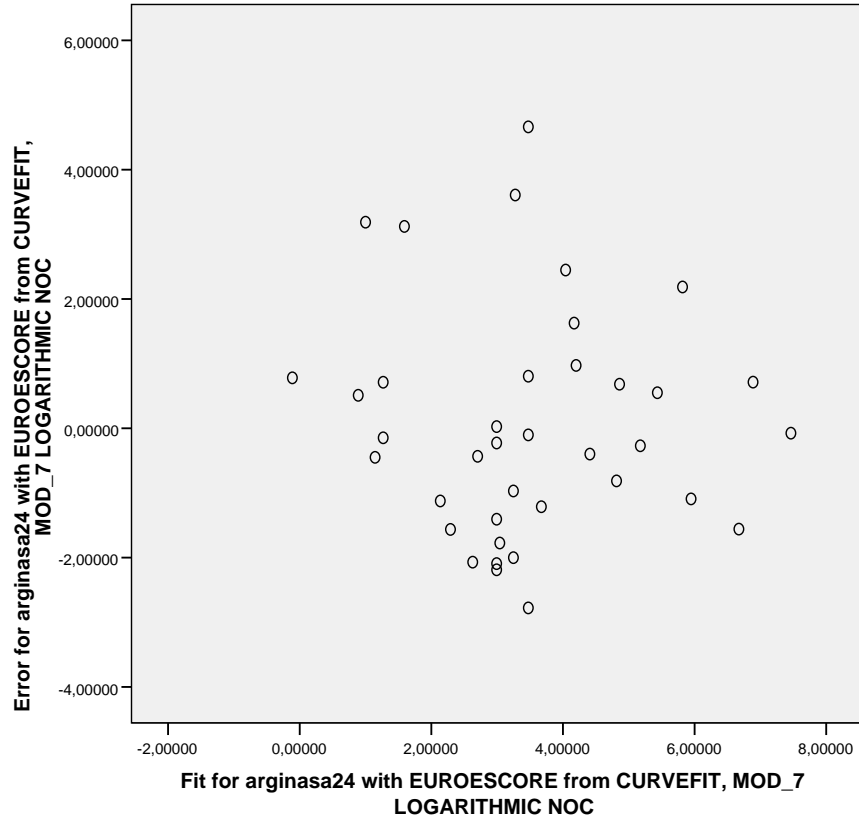


Figura 34. Diagrama de dispersión de los residuos con valores ajustados de ARG.

Presentamos a continuación los diagramas de cajas de la ARG con cada una de las categorías de la variable ASA y las categorías de la variable NYHA para encontrar alguna relación entre estas dos variables y la actividad ARG a las 24 horas de igual modo que se hizo con el EUROSCORE

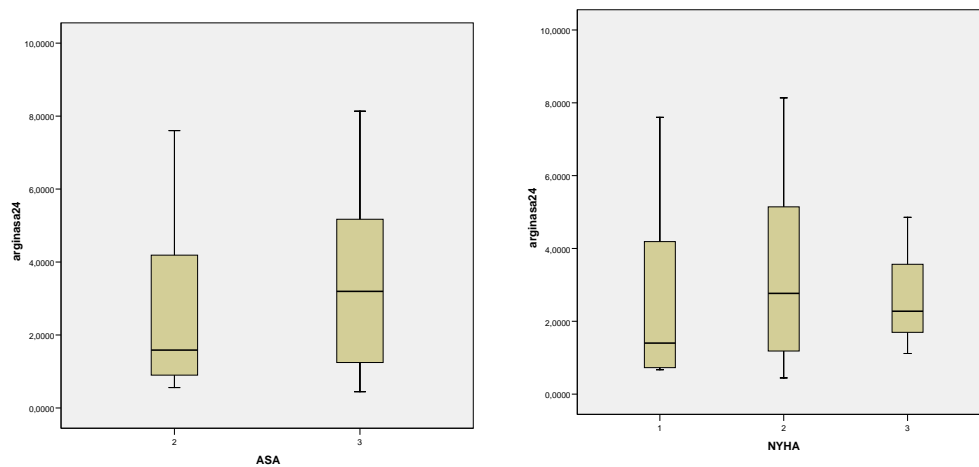


Figura 35. Diagramas de cajas del Euroscore según los valores de ASA y NYHA.

Cuando nos centramos en la variable ASA (diagrama de la izquierda) se observa que no encontramos diferencias elevadas entre la actividad ARG de los pacientes valorados con ASA 2 y los pacientes valorados con ASA 3. Lo mismo podemos decir de la variable NYHA (diagrama de la derecha), es decir, no hay diferencias importantes entre los niveles de ARG y las 3 categorías de la variable NYHA (figura nº35).

Podemos concluir que el modelo logarítmico que presentamos puede servir para estimar el comportamiento de la actividad ARG después de la cirugía según la puntuación del EUROSCORE, en cambio la variable ASA y NYHA no aporta información relevante con respecto a los niveles de actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

### 8.3.2. Relación de las variables orgánicas en el preoperatorio con ARG a las 24 horas.

Dado que la valoración de la severidad de la cirugía cardíaca se realiza con la suficiente antelación del momento de la realización de la intervención, a continuación se buscarán relaciones de la variable ARG 24 con las variables medidas en el preoperatorio. Lo primero que hacemos es comprobar si la variable ARG 24 se correlaciona linealmente con el resto de variables del preoperatorio.

**Tabla 20. Correlaciones de ARG a las 24 horas con todas las variables en el preoperatorio.**

Preopera	ARG	Linfocitos	Leucocitos	PCR	Plaquetas	Lactato	Procalcit	L - Arg
Corre. de Pearson	,141	-,061	-,084	-,062	-,014	-,013	-,229	-,232
Sig.	,366	,696	,594	,694	,929	,948	,233	,426
N	43	43	43	43	43	28	29	14

A la vista de la tabla, la significación muestral es lo suficientemente grande como para afirmar que hay evidencias estadísticas para decir que no hay relación lineal entre la variable ARG 24 y el resto de variables del preoperatorio (tabla nº20). Comprobamos mediante estimaciones curvilíneas si existe relación no lineal entre la ARG 24 con el resto de variables del preoperatorio.

Presentamos a continuación la tabla con el resumen de los modelos que mayor poder explicativo tienen, siendo la ARG 24 la variable dependiente y el resto de variables las independientes (tabla nº21).



## RESULTADOS

**Tabla 21. Modelos que relacionan ARG a las 24 horas con variables del preoperatorio.**

Modelo	Variable ind.	N	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> corregida	Error tít. de la estimación
Cúbico	ARG 0	43	,778	,605	,575	2,616
Logarítmico	Linfocitos 0	43	,793	,629	,620	2,474
Logarítmico	Leucocitos 0	43	,806	,650	,641	2,403
Logarítmico	PCR 0	43	,717	,515	,503	2,829
Logarítmico	Plaquetas 0	43	,807	,651	,643	2,399
Cuadrático	Lactato 0	28	,831	,691	,667	2,239
Logarítmico	Procalcitonina 0	29	,817	,668	,656	2,239
Inverso	L – Arg 0	14	,784	,614	,584	2,830

Todas las ecuaciones se estimarán sin el término constante.

La mejor estimación curvilínea dada la cantidad de muestra y el mayor R<sup>2</sup> podemos considerar que es la del modelo logarítmico con la variable leucocitos 0 y el modelo logarítmico con la variable plaquetas 0.

Presentamos los gráficos de dispersión sobre escribiendo el modelo, de la pareja ARG 24 – Leucocitos0 (diagrama de la derecha figura nº36) y ARG 24 – Plaquetas0 (diagrama de la izquierda, figura nº37).

Como se puede observar en ambos gráficos la función del modelo es la de separar a las pacientes con niveles de actividad ARG que vamos a considerar elevados de los pacientes con niveles de actividad argiansa 24 más bajos. Esta separación propiciará la creación de una nueva variable que la denominaremos “ARG 24alta” donde distinguiremos dos tipos de pacientes según su nivel de actividad ARG, consideraremos ARG alta a las 24 horas aquella puntuación mayor de 3,02 y con ARG baja a las 24 horas a la puntuación menor de 3,02.

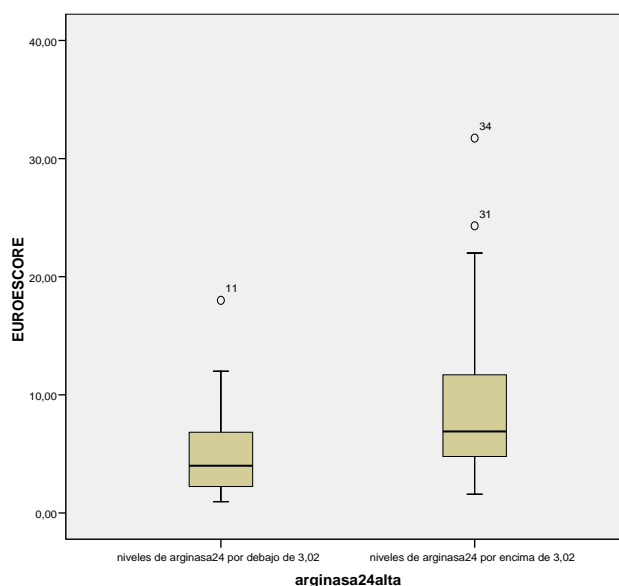


## RESULTADOS

operación, como puede observarse, hay una gran diferencia entre los niveles de ARG a las 24 horas en los pacientes según la nueva variable (figura nº38).

También podemos decir que hay evidencias estadísticas para poder admitir la elevada diferencia que existe entre los dos grupos según la variable creada en la variable ARG 24 ya que para un valor del estadístico U Mann – Whitney de 4 se obtiene una significación muestral de ,000 y se puede afirmar que hay evidencias estadísticas para decir que no hay diferencia entre los grupos en la variable ARG0 ya que el valor del estadístico es de 165 con significación muestral de ,113.

Si esta nueva partición la llevamos también a la variable EUROSCORE se obtienen los siguientes resultados.



**Figura 39. Diagrama de cajas de Euroscore a las 24 horas según la variable “ARG 24alta”.**

En este caso la nueva variable creada, también marca la diferencia entre los individuos con EUROSCORE alto y los individuos con EUROSCORE bajo, (figura nº39) para confirmar este hecho realizamos la prueba de U Mann – Whitney.

**Tabla 22. Rangos medios del Euroscores según la variable “ARG 24alta”.**

	ARG 24alta	N	Rango promedio	Suma de rangos
EUROSCORE	niveles de ARG 24 por debajo de 3,02	20	16,50	330,00
	niveles de ARG 24 por encima de 3,02	23	26,78	616,00
	Total	43		

En la tabla podemos observar que la diferencia de los rangos medios es importante en nuestra muestra (tabla nº22), lo que viene confirmado por la prueba de U de Mann – Whitney con valor del estadístico de 120 y significación muestral de ,007 mostrando que hay evidencias estadísticas para poder decir que hay diferencias significativas entre los dos grupos creados con respecto a la valoración del EUROSOCORE.

#### 8.4 Tiempo de clampaje y tiempo de circulación extracorpórea.

Queremos analizar a continuación de que manera incide el tiempo de clampaje y el tiempo de circulación extracorpórea en el aumento de la actividad ARG; presentamos primero la tabla de los estadísticos de las variables.

**Tabla 23. Descriptivos de tiempo de clampaje y de tiempo de circulación extracorpórea.**

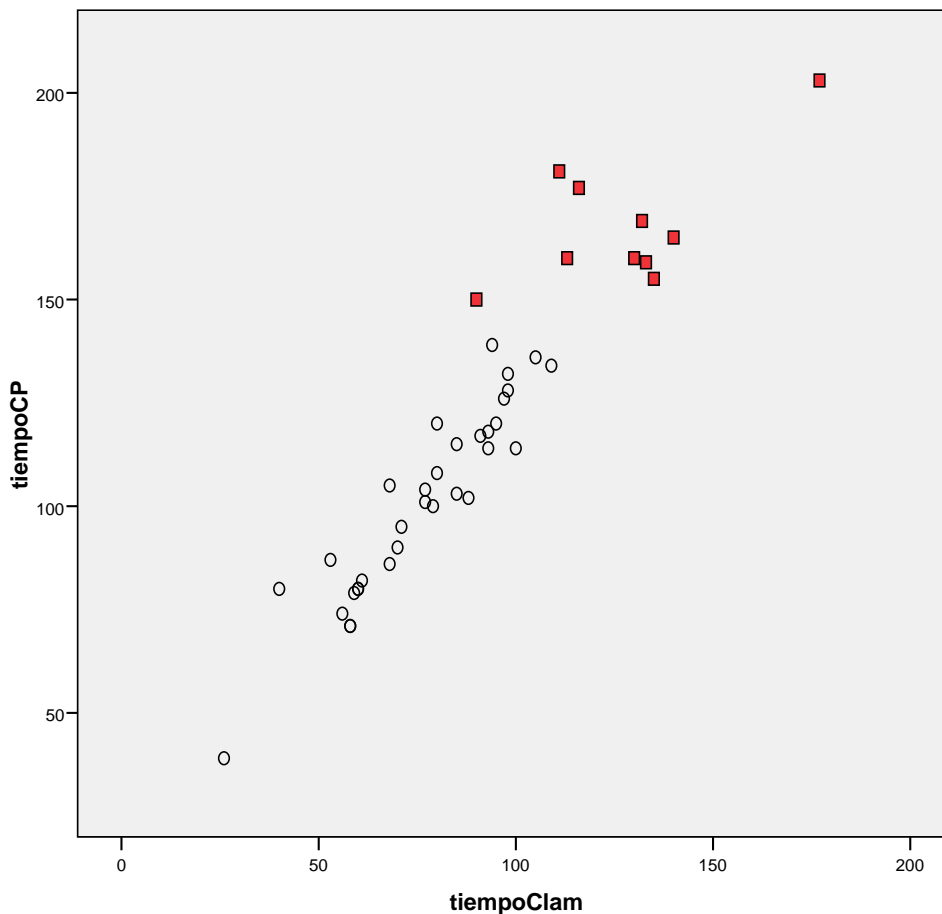
	Tiempo Clampaje	Tiempo Circulación Extracorpórea
N	43	43
Media (Error típ. de la media)	88,58(4,53)	116,95(5,42)
Mediana	88,00	114,00
Asimetría (Error típ. de asimetría)	,579(,361)	,344(,361)
Curtosis (Error típ. de curtosis)	,783(,709)	-,263(,709)

Como en el tiempo de circulación extracorpórea se incluye el tiempo de clampaje empezaremos el análisis con el tiempo de circulación extracorpórea.

La media de circulación extracorpórea en minutos son 116,95 con una mediana de 114 minutos en el tiempo de clampaje la media es de 88,58 y la mediana de 88 minutos. La forma de la distribución de las variables en la muestra presenta asimetría a la derecha y es platicúrtica (tabla nº23). Se realiza una prueba no paramétrica, la prueba de Kolmogorov – Smirnov para determinar la normalidad de las variables. La significación muestral que se obtuvo fue mayor que 0,05 por lo tanto hay evidencias estadísticas para poder afirmar que la distribución de las variables es normal.

El gráfico de dispersión que se presenta a continuación exhibe la relación existente entre el tiempo de clampaje y el tiempo de circulación extracorpórea. Como puede observarse ocurre que a mayor tiempo de clampaje hay mayor tiempo de circulación extracorpórea, además la correlación entre ambas variables es de 0,938 con significación muestral de 0,000 con lo que tenemos evidencias estadísticas para poder afirmar que hay una alta relación directa entre ambas variables, lo que era de esperar pero lo que también se observó en la muestra es que en aquellos pacientes que superaban un tiempo de

clampaje de 110 minutos presentaban más dispersión, como se observa en los pacientes que tienen una circulación extracorpórea por encima de 150 minutos. Esto se puede observar en los pacientes representados mediante cuadrados y fondo rojo (figura n°40).



**Figura 40. Diagrama de dispersión del tiempo de clampaje con tiempo de circulación extracorpórea.**

**8.4.1. Analizar la relación entre tiempo de clampaje y tiempo de circulación extracorpórea con la ARG a las 24 horas.**

Queremos saber a continuación de que manera pueden influir estas medidas de tiempo en el aumento de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención. No se encontró ningún valor de tiempo de circulación extracorpórea ni tiempo de clampaje que a partir de él se diese un aumento significativo de los niveles de actividad ARG a las 24 horas de la intervención. Presentamos a continuación el diagrama de dispersión de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención y la variable tiempo de circulación extracorpórea. Podemos observar en este gráfico que no existe una clara relación lineal o no lineal

entre estas dos variables (figura n°41). Con lo que no tiene sentido dar ningún modelo que ayude a entender el comportamiento de la actividad ARG según esta variable.

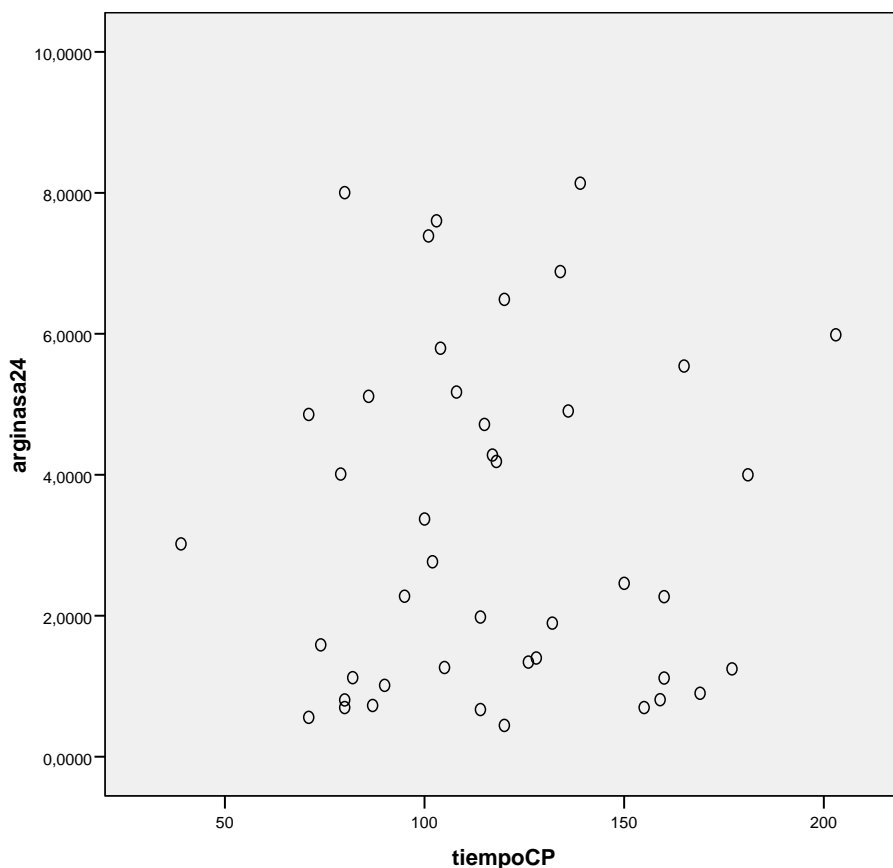


Figura 41. Diagrama de dispersión de tiempo de circulación extracorpórea con ARG a las 24 horas.

#### 8.4.2. Analizar la relación entre el tiempo de clampaje y el tiempo de circulación extracorpórea con el SIRS.

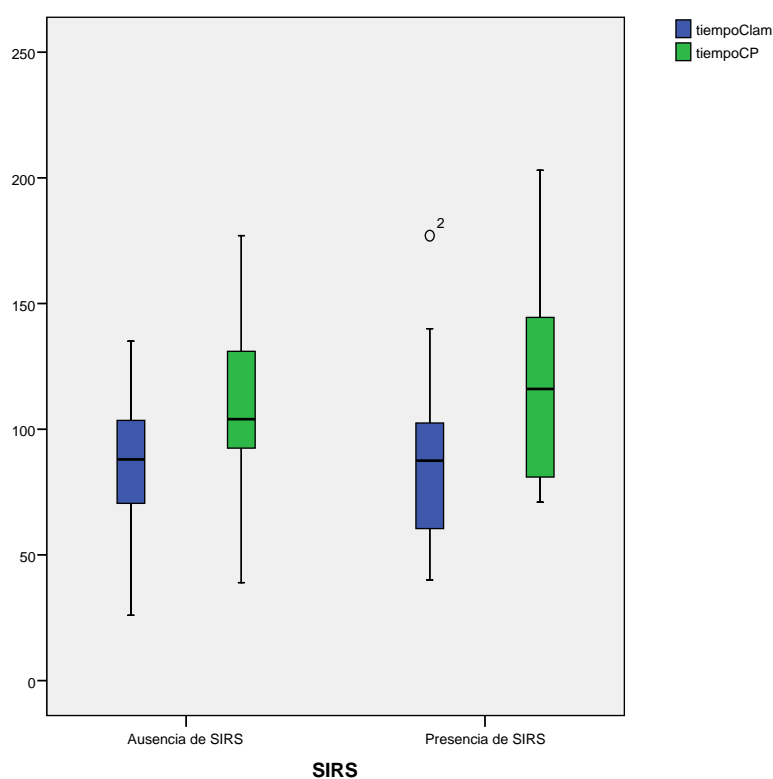
Para comprobar esta relación se realizó una prueba t – Studen para evidenciar si existía relación entre la ausencia o presencia de SIRS con el tiempo de clampaje y con el tiempo de circulación extracorpórea, (tabla n°24), observándose que la significación era muy elevada con lo que encontramos evidencias estadísticas para poder afirmar que la ausencia o presencia de SIRS no viene dada por el mayor o menor tiempo de clampaje o de circulación extracorpórea.

## RESULTADOS

**Tabla 24. Descriptivos de tiempo de clampaje y tiempo de CEC según SIRS.**

	sirs	N	Media	Mediana	Error típ. de la media
tiempoClam	0	19	87,89	88	6,516
	1	24	89,13	87,5	6,379
tiempoCP	0	19	113,63	104	7,887
	1	24	119,58	116	7,545

En nuestra muestra si hay diferencias entre los sujetos con mayor tiempo de circulación extracorpórea y mayor tiempo de clampaje y la aparición de SIRS, como se puede observar en el siguiente gráfico, aunque estas diferencias no son significativas (figura n°42).

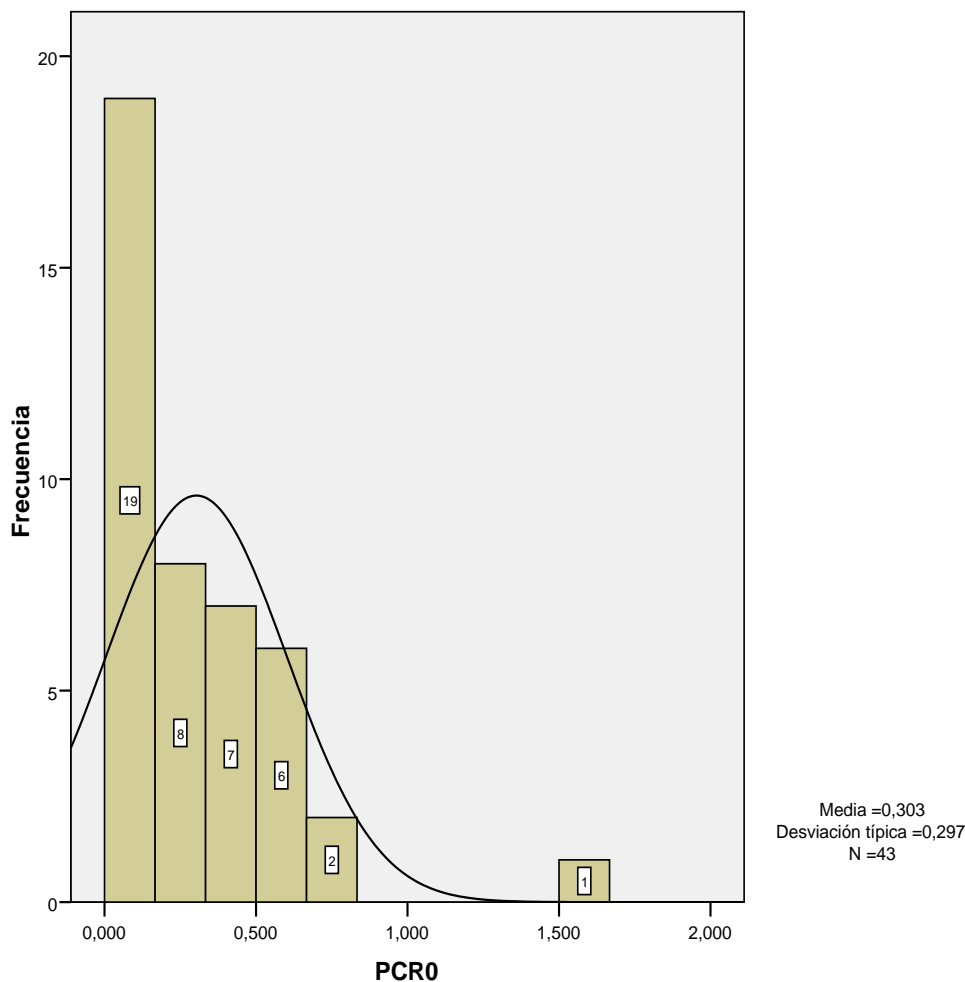


**Figura 42. Diagrama de cajas de los tiempos según SIRS.**

### 8.5. PCR preoperatoria.

Queremos ver a continuación, a partir de la variable PCR0 (en el preoperatorio), la aparición de complicaciones que se pudieran dar después de la intervención. Es decir queremos ver si niveles altos de PCR en el preoperatorio, indican que habrá aparición de complicaciones postoperatorias.

Según se observa en el gráfico, hay 19 pacientes que presentan un nivel de PCR0 menor de 0,14mg/dl. Este número es prácticamente la mitad de la muestra con la que estamos trabajando. Y solo 9 individuos tienen niveles de PCR0 igual o mayor a 0,5 mg/dl, nivel que la literatura plantea como punto crítico a la hora de aparición de complicaciones en el postoperatorio. Presentamos primero el histograma de la variable PCR en el preoperatorio (figura nº43).



**Figura 43. Histograma de la PCR en el preoperatorio.**

**8.5.1. Analizar la relación entre los niveles de PCR preoperatoria con mayor incidencia de complicaciones post-operatorias.**

Queremos saber la posibilidad de que se den complicaciones dados unos niveles de PCR en el preoperatorio, realizamos un contraste no paramétrico (Prueba de Mann – Whitney), ya que nuestros datos no siguen una distribución normal. En otras palabras, queremos saber si la aparición de complicaciones depende de niveles de PCR preoperatorios elevados. Y se obtienen los siguientes resultados.

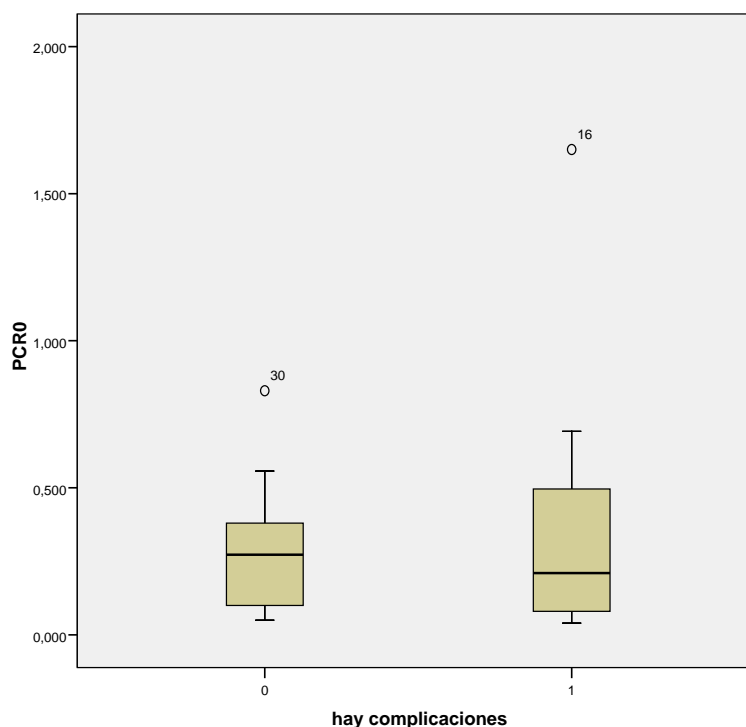


## RESULTADOS

**Tabla 25. Rangos medios de la PCR en el preoperatorio según la variable “Hay complicaciones”.**

“Hay complicaciones”		N	Rango promedio	Suma de rangos
PCR0	No aparecen complicaciones “0”	18	22,78	410,00
	Aparecen complicaciones “1”	25	21,44	536,00
	Total	43		

Analizando los rangos medios, observamos que el rango medio de los pacientes que no sufren complicaciones es mayor que aquellos que sí sufren complicaciones, aún teniendo en cuenta que en el caso de la suma de rangos esto es al contrario (tabla nº25). Con estos resultados de los rangos se construye el estadístico U de Mann-Whitney, que arroja un valor de 211, con significación muestral de ,730 que es un valor lo suficientemente alto como para aceptar la hipótesis nula, es decir, hay evidencias estadísticas para afirmar que el nivel de PCR en el preoperatorio no es determinante para que se dé el evento de complicación postoperatoria. Además para ilustrar este resultado, se presenta el diagrama de cajas según la variable de agrupación, “hay complicaciones” (figura nº44).

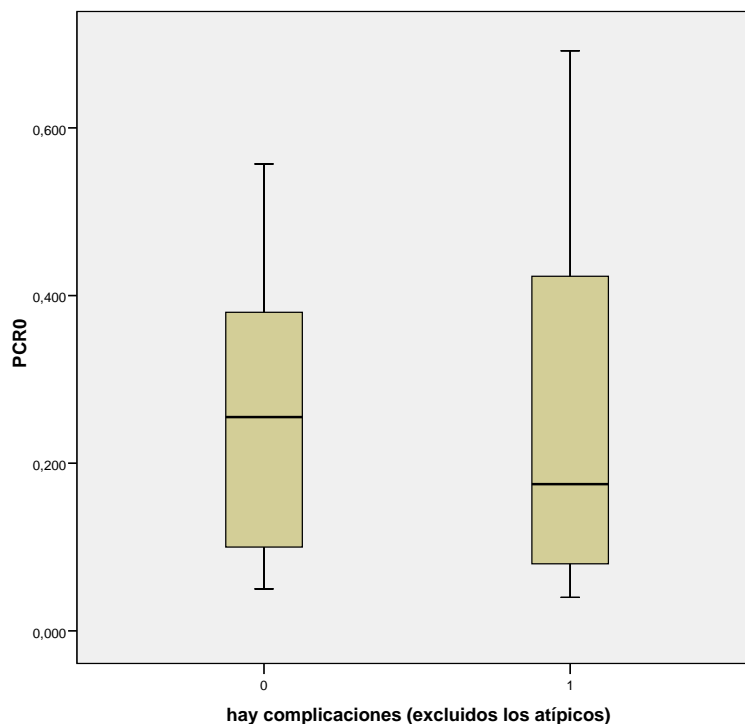


**Figura 44. Diagrama de cajas de la PCR 0 según la variable “Hay complicaciones”.**

Podemos concluir que dado un nivel de PCR preoperatoria elevado o niveles de PCR preoperatoria bajo no supone que se den o no complicaciones postoperatorias. Como la bibliografía expone que a partir del nivel 0,5 mg/dl de PCR preoperatoria aparecen

complicaciones, buscamos en nuestra muestra a partir de qué nivel se darán las complicaciones postoperatorias. Para este análisis prescindimos de los casos 16 con nivel de PCR preoperatorio por encima de 1,5 mg/dl y que sufre complicaciones y del caso 30 con nivel de PCR casi de 1 ya que aparecen como atípicos en el diagrama de cajas anterior.

El nuevo diagrama de cajas queda del siguiente modo:



**Figura 45. Diagrama de cajas de la PCR 0 según la variable “Hay complicaciones”, sin atípicos.**

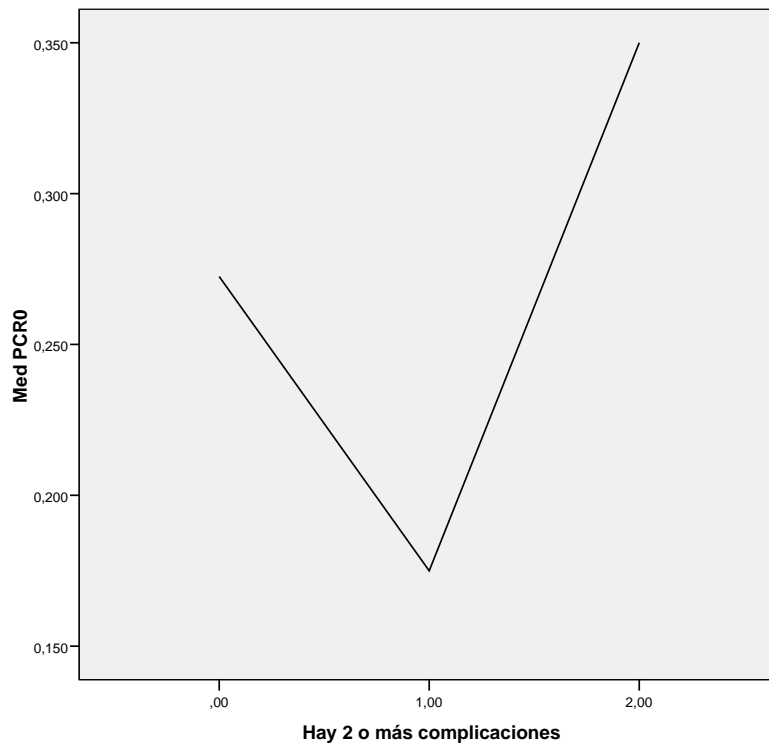
Como puede observarse, excluidos estos dos casos, las cajas se solapan más aun e incluso se observa que la mediana en el caso de los pacientes que no sufren complicaciones es mayor que en los pacientes que si sufren complicaciones (figura n°45). La realización de un contraste no paramétrico, arrojaría el mismo resultado que anteriormente.

Con el afán de encontrar el valor de PCR preoperatoria que confirmase la aparición de complicaciones en el postoperatorio, construimos una nueva variable que categorice la variable “*hay complicaciones*” de la siguiente manera. Construimos tres categorías, a saber, no hay complicaciones, hay 1 complicación y hay 2 o más complicaciones. Y

## RESULTADOS

presentamos el gráfico de las medianas del PCR preoperatorio según esta nueva variable.

Gráficamente se observa que los individuos que tienen 2 o más complicaciones presentan un nivel de PCR por encima de los pacientes que no presentan complicaciones o presentan solo 1 complicación (figura n°46).



**Figura 46. Diagrama de líneas de las medianas del PCR 0 según la variable “Hay 2 o más complicaciones.**

En la siguiente tabla se presentan los estadísticos del nivel de PCR preoperatoria según esta nueva variable (tabla n°26).

**Tabla 26. Media, intervalos de confianza y medianas de la PCR 0 según nº de complicaciones.**

0 complicaciones	Media (Error típico)		,28750 (.050087)
18 pacientes	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,18183
		Límite superior	,39317
	Mediana		,27250
1 complicación	Media (Error típico)		,31278 (.093157)
18 pacientes	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,11623
		Límite superior	,50932
	Mediana		,17500
2 complicaciones	Media (Error típico)		,31800 (.082388)
7 pacientes	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,11640
		Límite superior	,51960
	Mediana		,35000

En nuestra muestra los pacientes que presentan complicaciones si tienen niveles de PCR preoperatorio un tanto elevados con respecto al resto de pacientes, comprobamos con un contraste no paramétrico si esta diferencia es significativa. Se realiza la prueba de Kruskal – Wallis y se obtienen los siguientes resultados:

**Tabla 27. Rangos medios de la PCR0 según la variable “Hay 2 o más complicaciones”.**

	Hay más de 2 complicaciones	N	Rango promedio
PCR0	0 complicaciones	18	22,78
	1 complicación	18	20,47
	2 complicaciones	7	23,93
	Total	43	

El rango medio es mayor para aquellos pacientes que sufren 2 o más complicaciones, (tabla nº27) aunque como veremos en el siguiente resultado, esto no es significativo ya que el estadístico de la prueba es de ,501 con una significación muestral de ,778 lo cual significa que hay evidencias estadísticas para poder decir que no hay diferencias significativas entre los tres grupos.

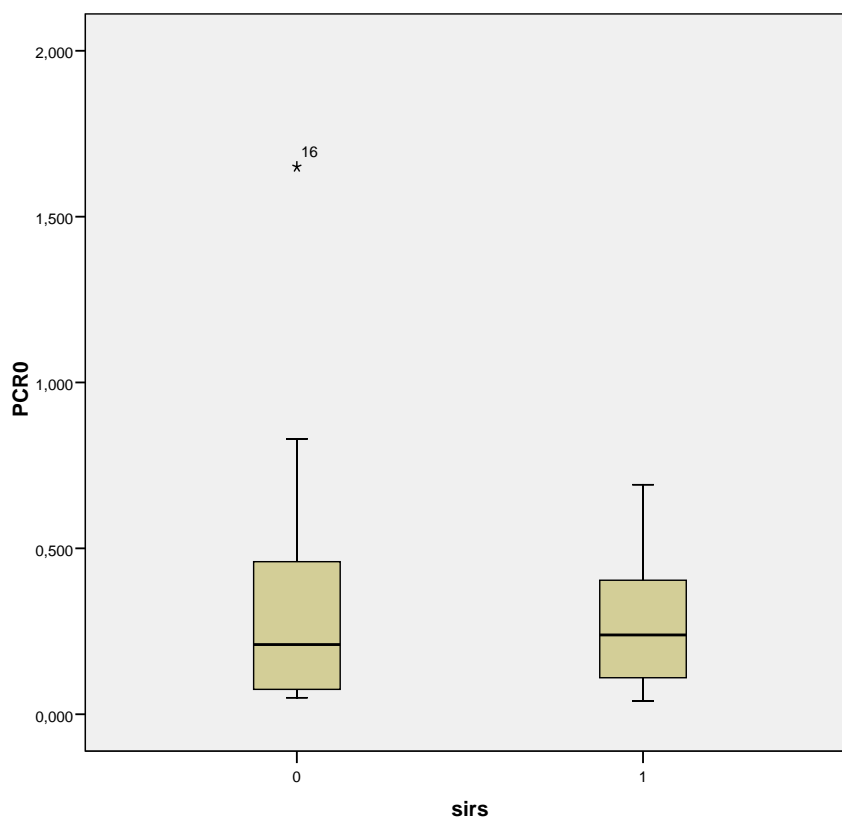
Como conclusión podemos decir que en nuestra muestra, sólo los pacientes que presentan 2 complicaciones tuvieron niveles de PCR preoperatorio superiores al resto de pacientes pero no existen diferencias significativas entre estos tres grupos de pacientes.

### **8.5.2. Analizar la relación entre los niveles de la PCR preoperatoria con SIRS.**

Revisamos los niveles de PCR en el preoperatorio de los pacientes que sufrieron SIRS y de los pacientes que no sufrieron SIRS. Presentamos el diagrama de cajas según la variable de separación y a continuación los rangos de los enfermos.

## RESULTADOS

Como se puede observar en el diagrama, (figura n°47), las medianas de los datos son casi similares y además se solapan las cajas. La tabla de rangos que se presenta también plantea el mismo hecho.



**Figura 47. Diagrama de cajas de la PCR 0 según el SIRS.**

Como se observa en la tabla n°28 los rangos medios de los pacientes que sufrieron SIRS es más elevado que los de los pacientes que no sufrieron SIRS, aunque como vemos a partir del estadístico esta diferencia no es significativa, puesto que el valor del estadístico es de 220 con una significación muestral de ,845 con lo que tenemos evidencias estadísticas para aceptar la hipótesis nula; es decir, los niveles de PCR en el preoperatorio de los individuos que no sufrieron SIRS es igual al nivel de PCR preoperatoria de los individuos que sufrieron SIRS.

**Tabla 28. Rangos medios de la PCR O según el SIRS.**

sirs	N	Rango promedio	Suma de rangos
PCR0 No sufren SIRS "0"	19	21,58	410,00
Sí sufren SIRS "1"	24	22,33	536,00
Total	43		

Como conclusión podemos decir, que en nuestra muestra los pacientes que sufrieron SIRS si presentaban niveles de PCR preoperatoria más elevados que los individuos que no sufrieron SIRS, aunque estadísticamente no es significativo.

### 8.6. Valorar la implicación de la actividad ARG en el comportamiento del resto de variables.

En este punto queremos observar cual es el comportamiento del resto de las variables orgánicas con respecto a la actividad ARG a las 24 horas de la intervención y plantear un modelo matemático, que no pretende ser el único pero si apropiado para poder explicar esta relación. El esquema a seguir en cada subpunto será el siguiente:

Siempre que se pueda se presentará un gráfico de dispersión de las dos variables del preoperatorio y de las 24 horas de la intervención para observar como es el comportamiento individual de cada paciente ya que se vio el comportamiento conjunto en el punto 2 y de modo individual para cada variable. A continuación se presentará el modelo de cómo se comporta la variable que toque en cada caso según la actividad ARG y para finalizar, para algunas variables dada su importancia se analizará su comportamiento a las 48 horas de la intervención dados unos niveles de actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

#### 8.6.1. Actividad ARG con L - Arg.

La primera variable que analizamos es el comportamiento de la L – Arg con respecto a la actividad ARG. Presentamos en primer lugar como se dijo anteriormente el diagrama de dispersión conjunto del preoperatorio y de las 24 horas (figura nº48).

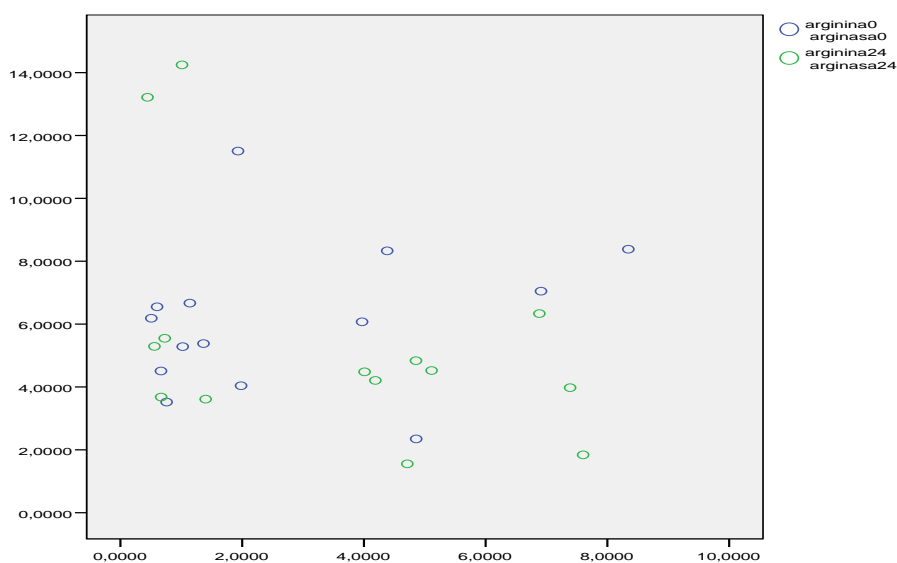
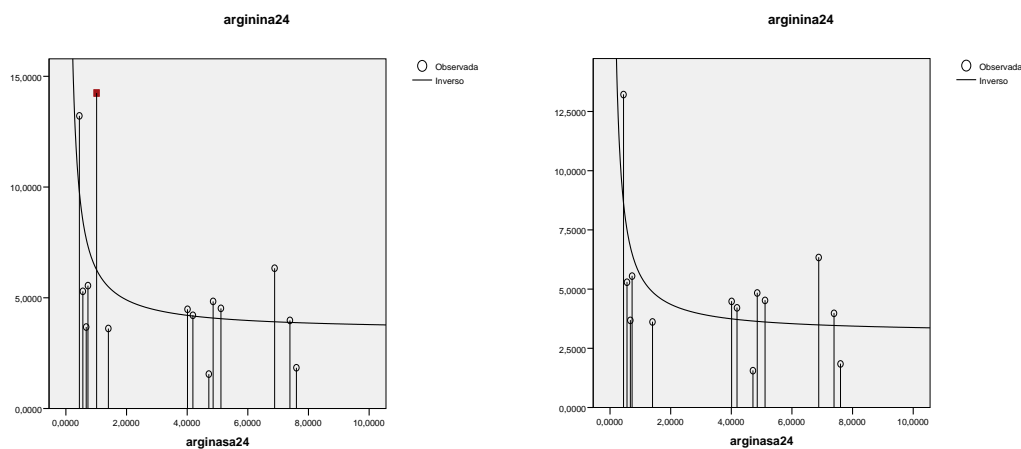


Figura 48. Gráfico de dispersión de L – Arg con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.

## RESULTADOS

Los circulitos azules se refieren a las medidas tomadas en el preoperatorio y los verdes se refieren a las medidas de ambas variables a las 24 horas de la intervención. Se puede observar que estos pacientes mantienen comportamientos muy dispares de los niveles de L - Arg con respecto a la actividad ARG tanto en el preoperatorio como a las 24 horas de la intervención. A continuación presentamos el cruce de ARG con L - Arg a las 24 horas de la intervención, el modelo que usamos para poder explicar el comportamiento de la L - Arg en función de la ARG es el inverso, que presenta los siguientes resultados. Contamos con 14 individuos de los 43 a los que se les midieron las distintas variables. El modelo explica el 30% de la variabilidad aproximadamente y la tabla del anova como los coeficientes presenta valores de significación muestral menores de 0,05 lo que nos hace pensar que el modelo es apropiado, además el gráfico de los residuos presenta una dispersión acorde con lo esperado aunque tendremos un valor que será atípico, es el que en el gráfico está marcado con un cuadradito en rojo (figura nº49).



**Figura 49. Gráfico de dispersión de L – Arg con ARG a las 24 horas con modelo inverso en el segundo se prescinde del dato atípico.**

Si en el estudio prescindimos de este dato atípico, el modelo mejora sustancialmente. Presentando valores bastante mejores usando el mismo modelo, vemos que usando el modelo inverso se consigue explicar el 42% de variabilidad y la significación muestral de la tabla del anova así como de los coeficientes sigue siendo menor de 0,05 lo que conduce a pensar que el modelo es apropiado estadísticamente y el gráfico de datos

ajustados frente a los errores presenta la dispersión apropiada (tabla nº29). Por lo tanto el modelo inverso vendrá dado por la siguiente ecuación:

**Tabla 29. Coeficientes del modelo.**

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
1 / ARG 24	2,448	,870	,647	2,813	,017
(Constante)	3,133	,877		3,573	,004

$$arginina = 3,133 + \frac{2,448}{arginasa}$$

Como conclusión podemos decir según observamos en el modelo que al aumentar el nivel de actividad ARG, disminuye el nivel de L - Arg y además esta disminución viene explicada por el modelo inverso que se presenta

### 8.6.2. Actividad ARG con CD3ζ.

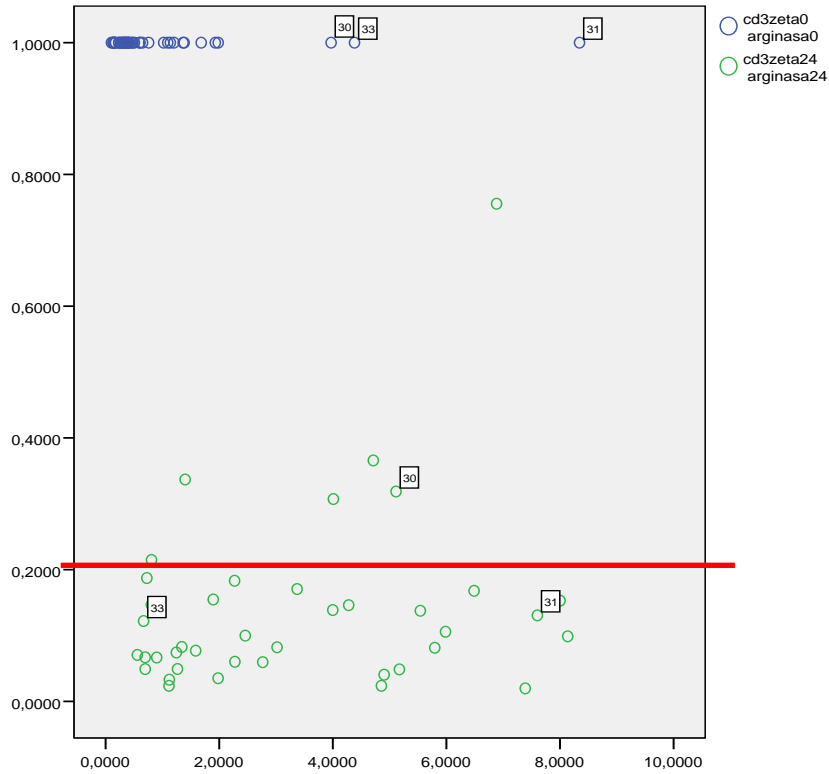
En este caso también se presentará el diagrama de dispersión conjunto del preoperatorio y de las 24 horas de la intervención, aunque el CD3ζ en el preoperatorio para todos los individuos es valorada al 100% el gráfico quedará un tanto extraño pues todos los pacientes tienen inicialmente el mismo nivel de CD3ζ pero este gráfico ayudará a entender el comportamiento de esta variable con respecto a la ARG a las 24 horas de la intervención.

En el gráfico se puede observar el fuerte descenso que sufre el CD3ζ a las 24 horas de la intervención.

También aparecen 3 pacientes que presentan niveles de actividad ARG poco apropiados en el preoperatorio, estos pacientes tienen una etiqueta. Además la línea roja horizontal separa a los pacientes que tienen niveles de CD3ζ a las 24 horas más elevados de lo normal (figura nº50).

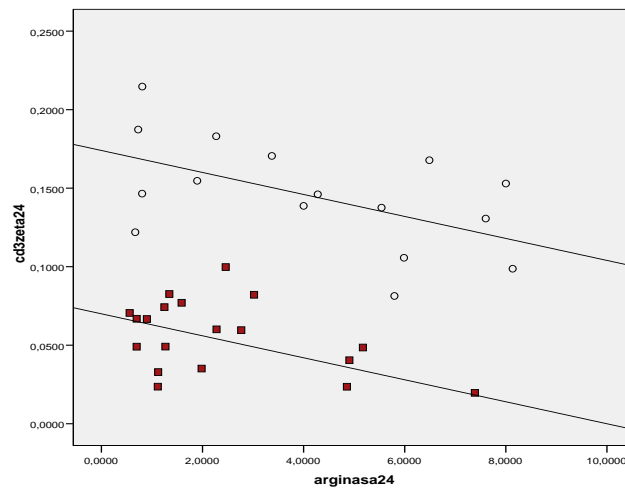


## RESULTADOS



**Figura 50. Gráfico de dispersión del CD3ζ con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.**

Los pacientes que presentan niveles de CD3ζ más elevados de lo habitual, se prescindirá de ellos en el siguiente gráfico. Al observar el comportamiento del CD3ζ con respecto a la actividad ARG a las 24 horas de la intervención se determinó que había dos tipologías de enfermos o dos grupos como se puede comprobar en el siguiente gráfico de dispersión (figura nº51).



**Figura 51. Gráfico de dispersión del CD3ζ con ARG a las 24 horas con dos modelos lineales que definen dos grupos.**

Los pacientes de cada grupo vienen representados por círculos sin fondo y por cuadraditos con fondo rojo. La recta que explica el comportamiento del CD3ζ de cada paciente según su actividad ARG y grupo, se construyó a partir de los individuos representados por círculos, y en el otro grupo se usó la misma pendiente y se ajustó el término independiente. La recta que ajusta al grupo de pacientes representados por circulitos tiene una bondad de ajuste de 0,282 que si bien es baja, la significación muestral que se obtiene al realizar el anova de la regresión es menor de 0,05 y los coeficientes también presentan significación muestral menor de 0,05. Además el gráfico de residuos, (figura nº51) presenta una distribución lo suficientemente aleatoria como para poder dar por buena la recta de regresión. Estas rectas son las siguientes:

$$\text{Circulos: } cd3\zeta = 0,174 - 0,007 * \text{arginasa}$$

$$\text{Cuadrados: } cd3\zeta = 0,07 - 0,007 * \text{arginasa}$$

En cualquier caso lo que tenemos en común en estos dos grupos es que al aumentar los niveles de actividad ARG, disminuyen los niveles de CD3ζ. Y cabe destacar que los pacientes que vienen representados por cuadraditos, a las 48 horas continuarán manteniendo niveles de actividad ARG similares a los tenidos a las 24 horas ya que como veremos a continuación en el diagrama de cajas, la diferencia entre actividades ARG a las 48 y las 24 horas está en torno al 0 y en los pacientes que vienen representados por círculos tenemos una disminución de esta actividad. Además hay diferencias significativas entre estos dos grupos. Al realizar un contraste paramétrico, una prueba t – Student para muestras independientes ya que la variable presenta evidencias estadísticas de seguir una distribución normal, el valor del estadístico es de 2,115 y la significación muestral de ,042 luego hay evidencias estadísticas para poder afirmar que hay diferencias entre los dos grupos de pacientes.

Esto se puede ver en el diagrama de cajas, figura nº52 siguiente:

## RESULTADOS

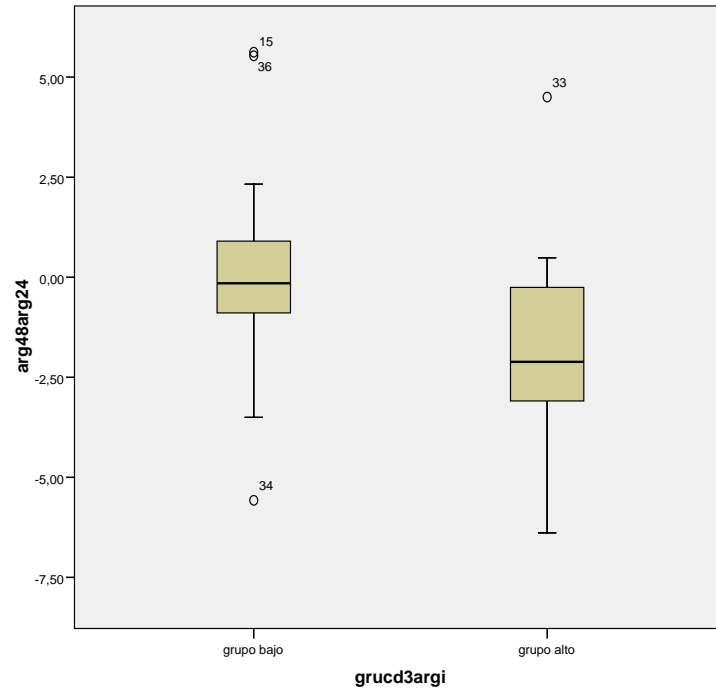


Figura 52. Diagrama de cajas de ARG según los grupos definidos por el CD3 $\zeta$ .

### 8.6.3. Actividad ARG con leucocitos.

Se presenta el gráfico de dispersión de ambas variables en el preoperatorio y a las 24 horas conjuntamente.

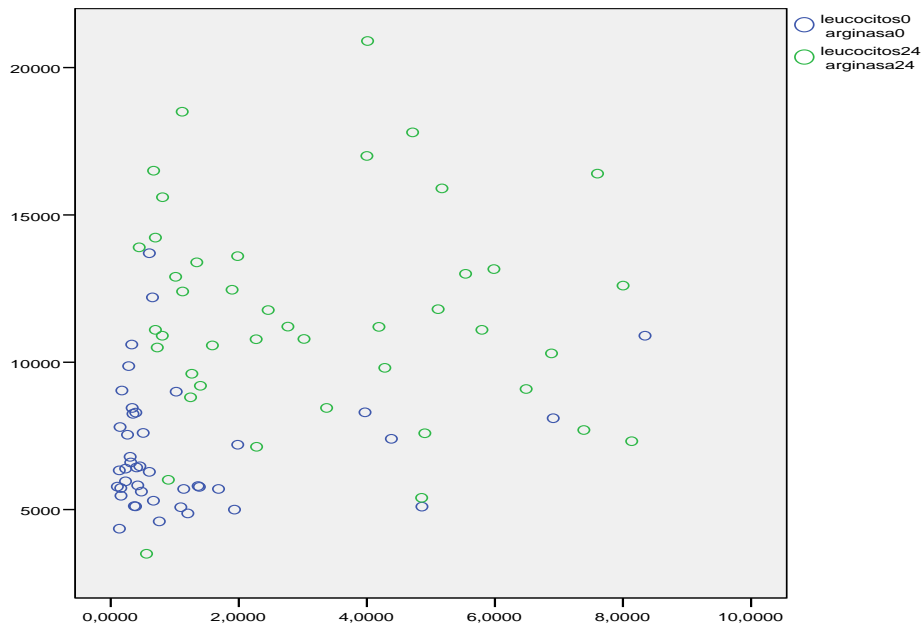


Figura 53. Gráfico de dispersión de leucocitos con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.

Se puede observar que inicialmente los pacientes tienen niveles muy concentrados con algunas excepciones pero que al transcurrir las 24 horas de la intervención aumenta considerablemente la dispersión de los individuos perdiéndose la concentración inicial (figura n°53).

Centrándonos en el momento temporal de las 24 horas de la intervención se observa con más detalle este aumento de la dispersión. Como el objetivo es confirmar el aumento de leucocitos debido al aumento de ARG se realizó un modelo de regresión lineal, obteniéndose la siguiente recta de regresión:

$$leucocitos24 = 9504,306 + 417,789 * arginasa24$$

La recta presenta coeficientes significativos ambos menores que ,05 además la regresión es significativa pues el ANOVA presenta también significación menor de ,05. El valor de la  $R^2 = 13,1\%$  valor que se puede considerar bajo.

La recta presenta pendiente positiva y el coeficiente de correlación es positivo con lo que se puede concluir que tenemos relación directa entre las variables, es decir, al aumentar el nivel de ARG, aumenta el nivel de leucocitos (figura n°54).

Se presenta a continuación el diagrama de dispersión con la recta de regresión sobre los puntos (figura n°54).

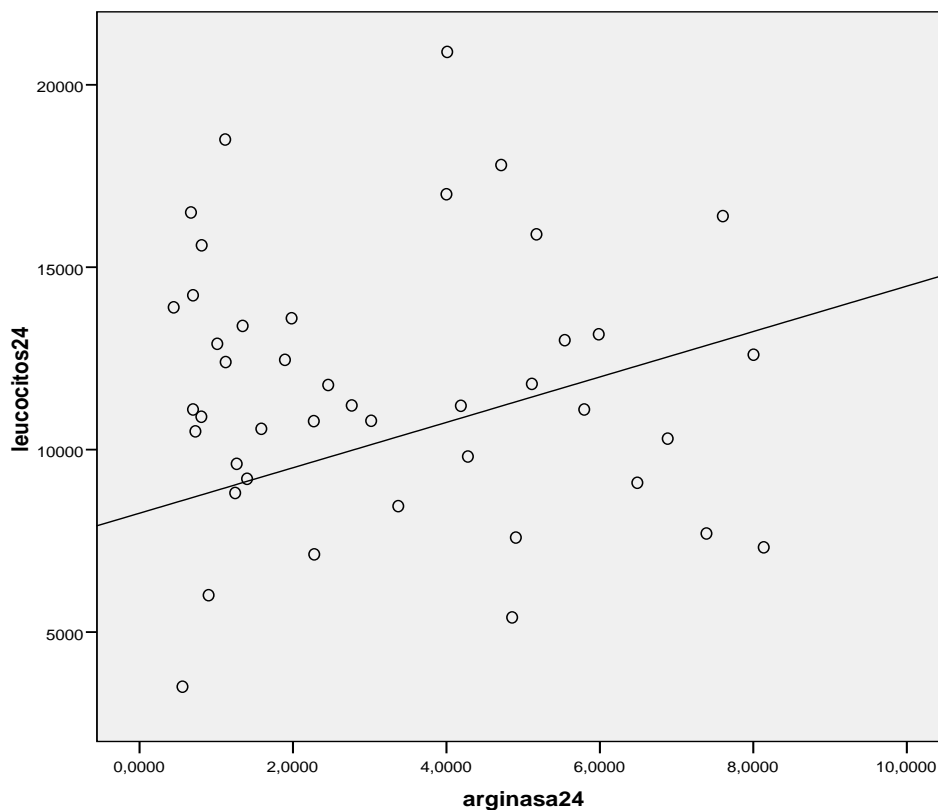
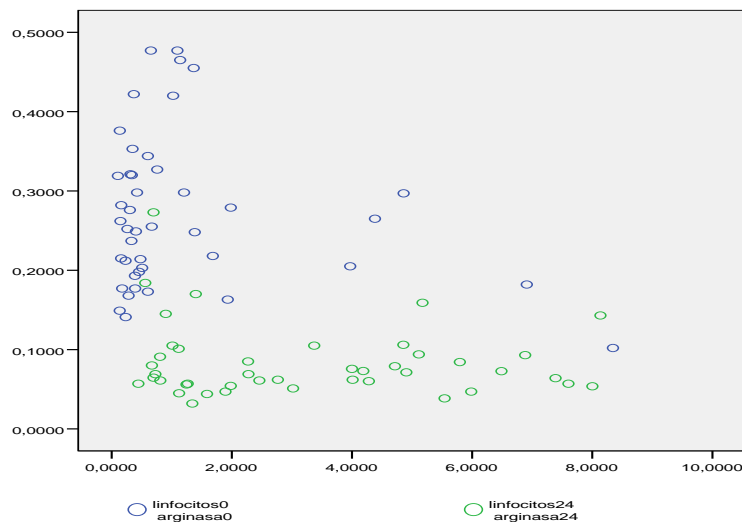


Figura 54. Gráfico de dispersión de leucocitos con ARG a las 24 horas con recta de regresión.

**8.6.4. Actividad ARG con linfocitos.**

Empezamos presentando un gráfico de dispersión, (figura nº55), donde representamos las variables de linfocitos en el eje vertical y la ARG en el eje horizontal.

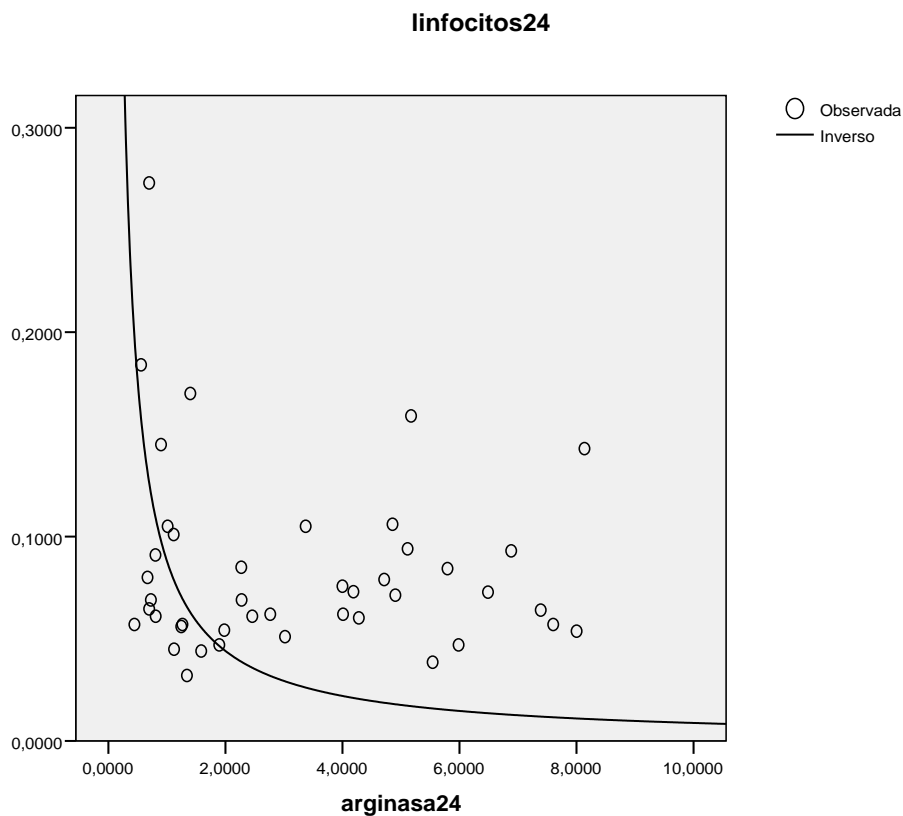


**Figura 55. Gráfico de dispersión de linfocitos con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.**

Los puntos azules representan los linfocitos frente a la ARG en el preoperatorio y los puntos verdes los linfocitos frente a la ARG a las 24 horas de la operación. Se observa que en el preoperatorio los niveles de linfocitos estaban altos y los de ARG bajos pero a las 24 horas de la operación se invierte esta situación. Presentamos a continuación un modelo no lineal, exactamente daremos un modelo inverso (figura nº56). Como se puede observar, los pacientes sufren un fuerte descenso de los linfocitos con el aumento de la ARG. Presentamos a continuación un resumen del modelo donde se observa que el valor de la  $R^2$  es 56 %, lo cual puede considerarse una buena bondad del ajuste del modelo. De igual manera que anteriormente, hay evidencias estadísticas para considerar que el modelo es válido ya que la significación muestral es menor que 0,01. Además los coeficientes del modelo pueden considerarse distintos de cero (tabla nº30).

**Tabla 30. Coeficientes del modelo.**

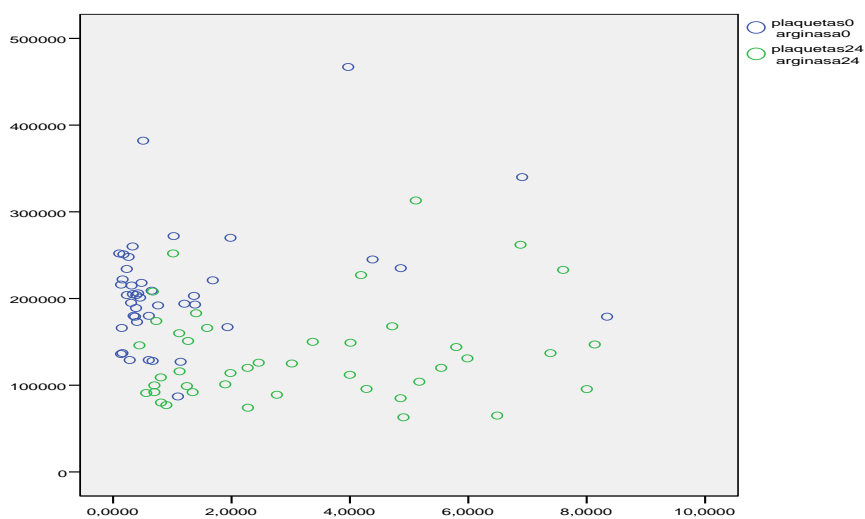
Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
1 / ARG 24	,088	,012	,748	7,305	,000



**Figura 56.** Gráfico de dispersión de linfocitos con ARG a las 24 horas con modelo inverso.

### 8.6.5. Actividad ARG con plaquetas.

Si siguiendo con el mismo procedimiento que para las anteriores variables, realizamos el mismo análisis para las plaquetas. Presentamos el gráfico de dispersión, figura nº57, de las dos variables en los dos momentos temporales de modo conjunto.



**Figura 57.** Gráfico de dispersión de plaquetas con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.

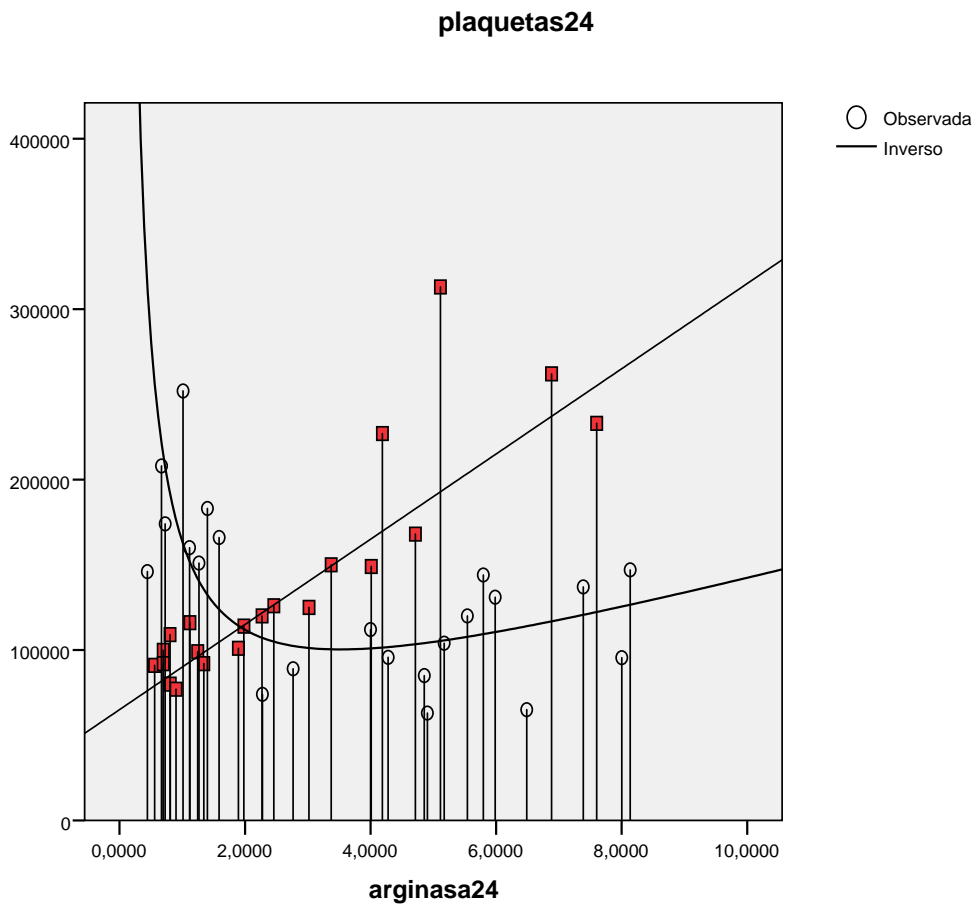
## RESULTADOS

De nuevo vemos que el nivel de plaquetas desciende a la vez que el nivel de actividad ARG aumenta aunque hay un grupo de pacientes que no les ocurre esto que son los representados con cuadrados y fondo rojo (figura nº58), presentamos a continuación dos modelos que pueden ayudar a explicar el comportamiento de las plaquetas a partir del nivel de actividad ARG a las 24 horas de la intervención. Las gráficas de los modelos se sobreescriben en el diagrama de dispersión para explicar el comportamiento de las plaquetas a partir de ciertos niveles de actividad ARG (figura nº58).

Los dos modelos que presentamos son los siguientes:

$$\text{plaquetas 24} = 25000 * \text{arginasa24} + 65000$$

$$\text{plaquetas 24} = 30000 + 10000 * \text{arginasa24} + \left( \frac{123718,54}{\text{arginasa24}} \right)$$



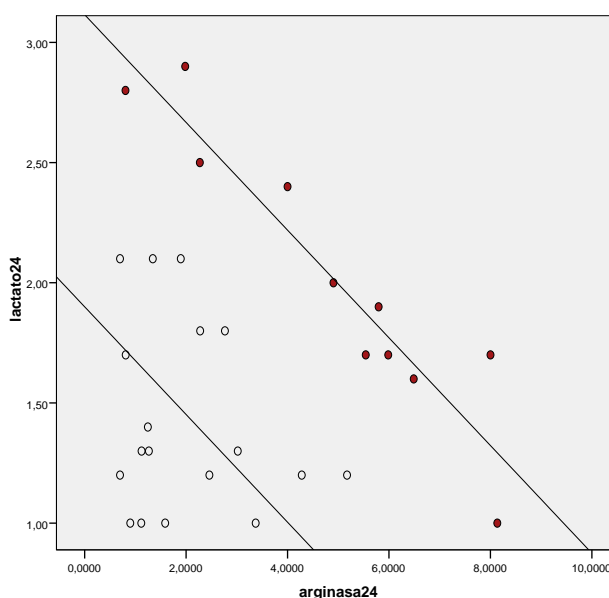
**Figura 58. Gráfico de dispersión de plaquetas con ARG a las 24 horas con modelo inverso y modelo lineal.**

Los pacientes que están representados por cuadrados están explicados por la primera ecuación y los pacientes representados por círculos están explicados por la segunda ecuación y como se dijo anteriormente hay individuos que presentan descenso de plaquetas pero hay un pequeño grupo que presentan aumento de plaquetas.

### 8.6.6. Actividad ARG con lactato.

En la pareja actividad ARG – lactado al igual que en la pareja actividad ARG – CD3ζ, hemos encontrado dos grupos de pacientes bien diferenciados.

Como se puede observar en el diagrama, (figura nº59), tenemos los círculos con fondo rojo y los círculos sin fondo, los primeros pueden ser explicados por una recta, en cambio los segundos son más complejos de interpretar aunque se optará por la solución dada anteriormente, construir una recta paralela para el segundo grupo.



**Figura 59. Gráfico de dispersión del lactato con ARG a las 24 horas con dos modelos lineales que definen dos grupos.**

Las rectas son las siguientes:

$$\text{Circulos con fondo: } \text{Lactato} = 3,115 - 0,224 * \text{arginasa}$$

$$\text{Circulos sin fondo: } 1,9 - 0,224 * \text{arginasa}$$

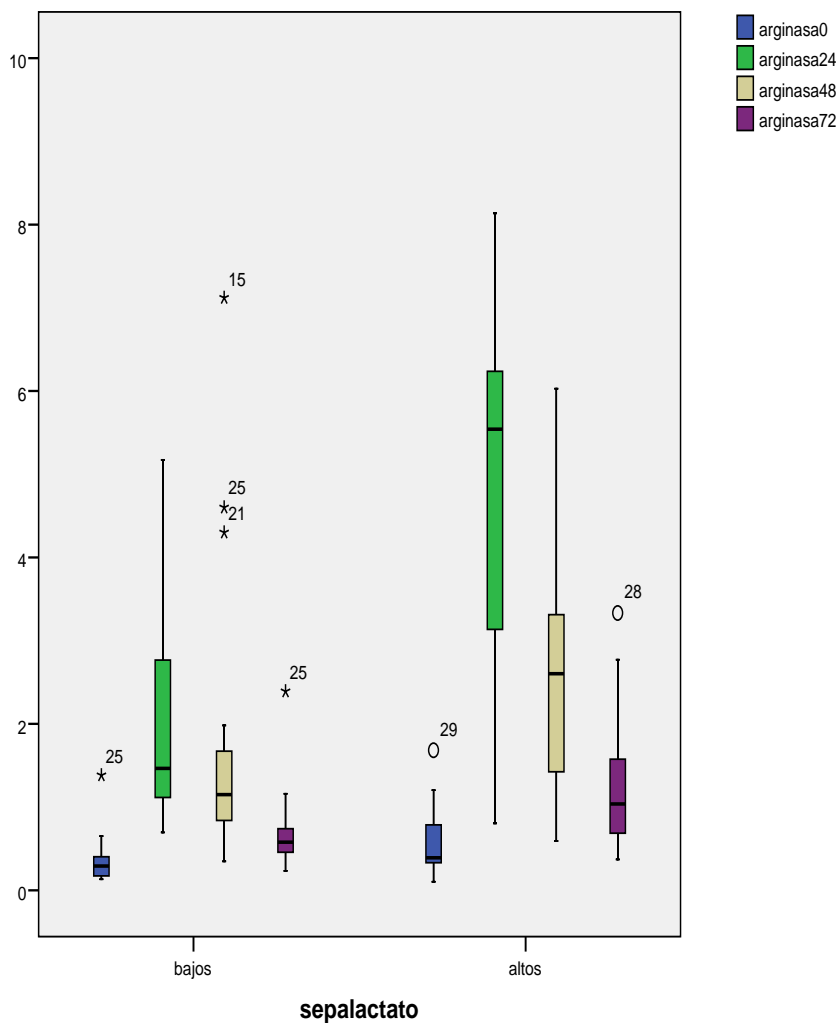
La primera recta que es nuestra referencia cumple los requisitos para poder darla por válida, (figura nº59) es decir, significación muestral del anova de la regresión y de los coeficientes menor de 0,05. Además el valor de la  $R^2$  es del orden del 0,8 lo que se puede considerar muy bueno.



## RESULTADOS

Como conclusión podemos decir que para niveles bajos de ARG encontramos que el lactato aumenta.

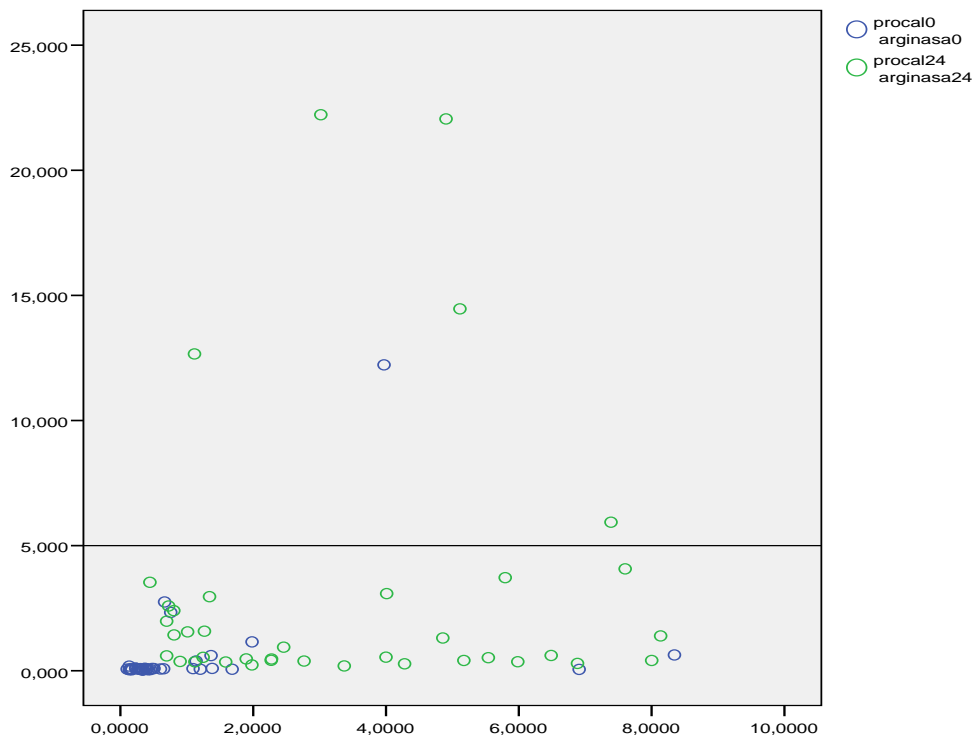
Presentamos también el comportamiento de la actividad ARG según la separación que se realizó en el lactato con el siguiente diagrama de cajas:



**Figura 60. Diagrama de cajas de ARG según los grupos definidos por el lactato en los 4 momentos temporales.**

Como se puede observar los individuos denominados altos, tienen niveles de actividad ARG muy superior a las 24 y a las 48 horas de la intervención que los denominados bajos (figura nº60).

**8.6.7. Actividad ARG con procalcitonina.**

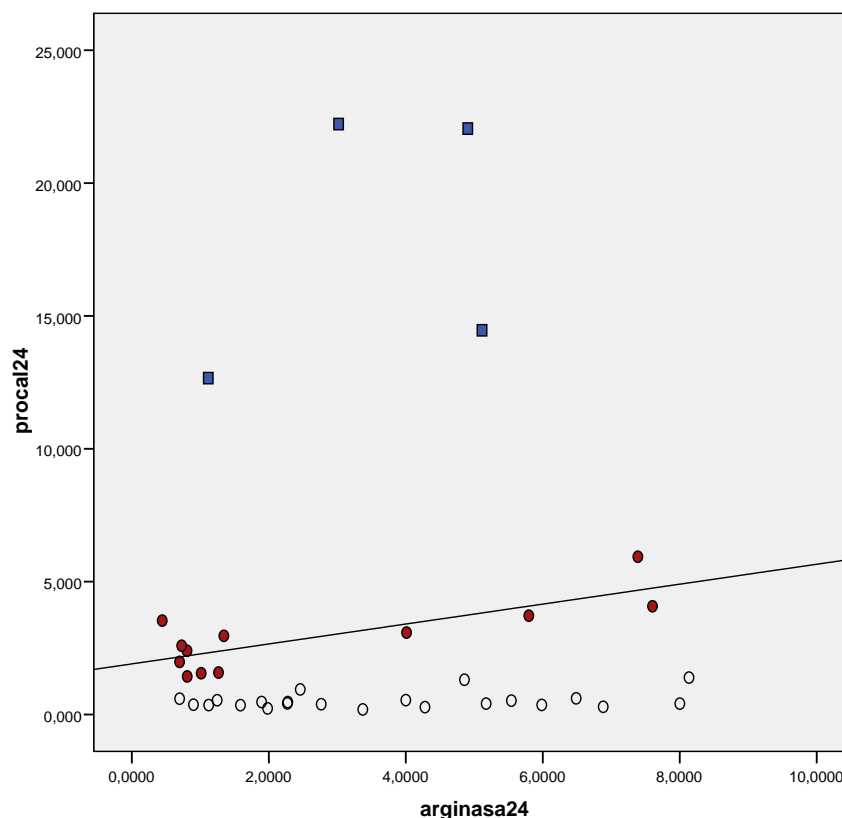


**Figura 61. Gráfico de dispersión de la procalcitonina con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.**

De nuevo se presenta el diagrama de dispersión, (figura nº 61), esta vez de la ARG y la procalcitonina, de los momentos temporales del preoperatorio y a las 24 horas de la intervención. Los círculos azules son los pacientes en el preoperatorio y los círculos verdes son los mismos pacientes pero a las 24 horas. Se puede observar que de niveles bajos de procalcitonina que se tenían en el preoperatorio, se pasa a niveles más elevados.

Si observamos el diagrama de dispersión pero solo del momento temporal de las 24 horas, tenemos tres grupos de pacientes bien diferenciados. Los pacientes que están representados por un círculo sin fondo son pacientes que no suben en exceso los niveles de procalcitonina. Los pacientes con fondo rojo si que experimentan una importante subida de niveles de procalcitonina a la vez que aumenta la ARG.

## RESULTADOS



**Figura 62. Gráfico de dispersión de la procalcitonina con ARG a las 24 horas con modelo lineal.**

Los cuatro pacientes con fondo azul tienen niveles de procalcitonina bastante elevados a la vez que sus niveles de actividad ARG son también altos (figura nº 62). Ya que se espera que los niveles de procalcitonina a las 24 horas de la intervención sean elevados pero tampoco en exceso, consideramos que los pacientes más apropiados para modelizar el comportamiento de la procalcitonina en función de la actividad ARG son aquellos que tienen el fondo rojo. El modelo que elegimos es el lineal y la ecuación que obtenemos es la siguiente:

$$\text{procalcitonina } 24 = 1,905 + 0,375 * \text{ARG}24$$

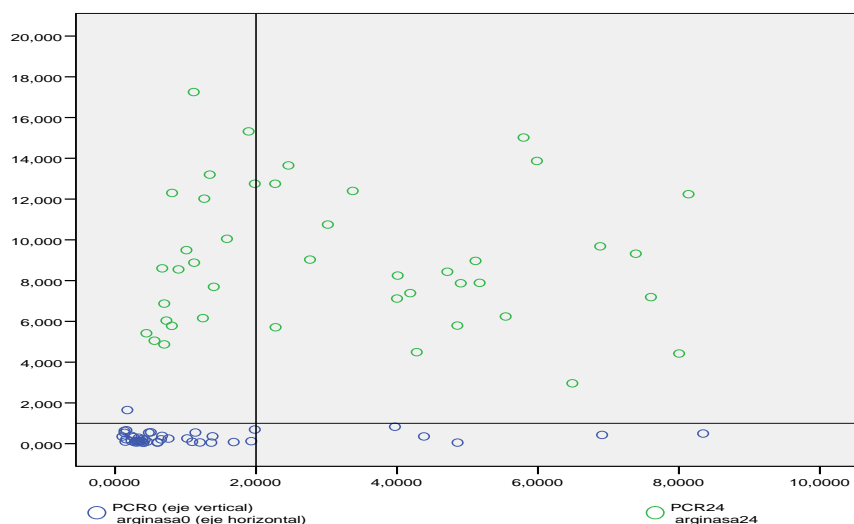
Los coeficientes de esta ecuación son significativos al igual que el ANOVA de la regresión. El valor de la  $R^2 = 63,7\%$  valor suficientemente elevado como para poder explicar el nivel de procalcitonina a partir del nivel de ARG.

Como conclusión podemos decir que se espera que el paciente tenga niveles de procalcitonina elevados cuando aumenta la ARG siguiendo el modelo que planteamos. Los pacientes que poseen niveles de procalcitonina bajos a las 24 horas no suponen

riesgo pero los que están muy por encima de nuestro modelo si que merecen una atención especial.

### 8.6.8 Actividad ARG con PCR.

En este gráfico podemos observar el comportamiento de las variables conjuntamente y se tiene que en el preoperatorio (circulitos azules) los valores de ARG y PCR están más concentrados pero a las 24 horas de la intervención esta concentración sufre una explosión dando valores de ARG por encima de 2 y de PCR no inferiores a 4. Podemos pues admitir desde un punto de vista gráfico (figura nº63), que los valores de ambas variables aumentan aunque no de modo lineal. Comprobaremos que no hay relación lineal entre las variables, para ello damos el coeficiente de correlación de Pearson.



**Figura 63. Gráfico de dispersión de la PCR con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.**

Como vemos en la tabla nº31 no existe correlación significativa entre las variables salvo entre la PCR 0 y la PCR 24 que tienen una correlación positiva de ,366 con significación muestral menor que ,05. Descartamos pues la relación lineal entre la ARG y la PCR, con lo que buscamos alguna relación no lineal entre estas variables.

**Tabla 31. Correlaciones de ARG y PCR en el preoperatorio y a las 24 horas.**

		ARG0	ARG 24	PCR0	PCR24
ARG0	Correlación de Pearson	1	,141	,111	-,184
	Sig. (bilateral)		,366	,477	,237
	N	43	43	43	43
ARG 24	Correlación de Pearson	,141	1	-,062	-,068
	Sig. (bilateral)	,366		,694	,667
	N	43	43	43	43

## RESULTADOS

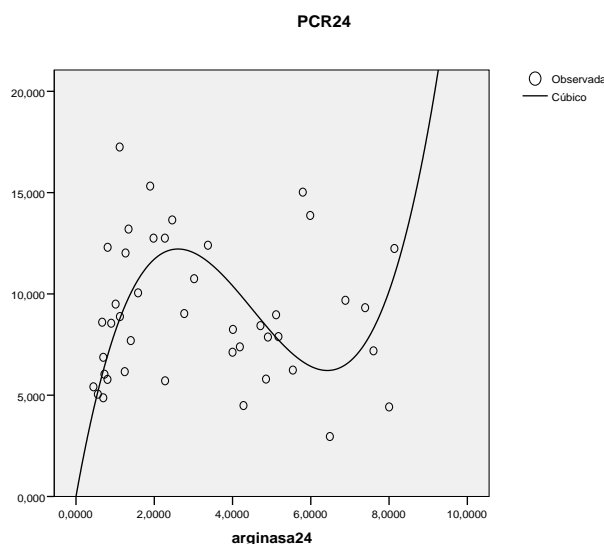
PCR0	Correlación de Pearson	,111	-,062	1	,366(*)
	Sig. (bilateral)	,477	,694		,016
	N	43	43	43	43
PCR24	Correlación de Pearson	-,184	-,068	,366(*)	1
	Sig. (bilateral)	,237	,667	,016	
	N	43	43	43	43

Se encontró que la relación no lineal que mejor se ajusta a nuestros datos es un modelo cúbico, este modelo viene dado por la siguiente ecuación:

$$PCR24 = 10,837 * arginasa24 - 2,922 * arginasa24^2 + ,216 * arginasa24^3$$

Estos coeficientes son significativos ya que la significación muestral es menor de ,05.

Gráficamente (figura nº 64) se tiene:



**Figura 64. Gráfico de dispersión de la PCR con ARG a las 24 horas con modelo cúbico.**

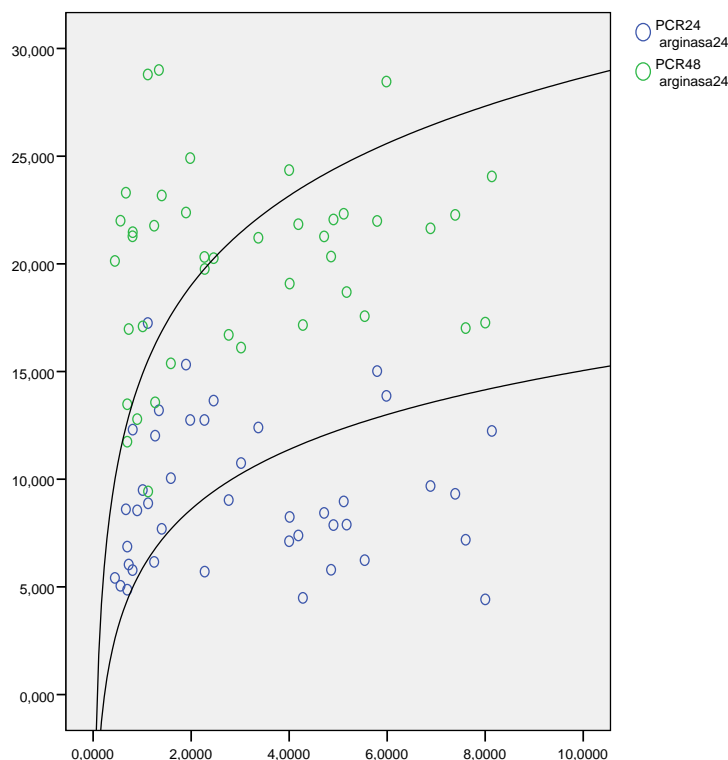
Además la regresión cúbica es válida puesto que al realizarse el ANOVA de la regresión se obtiene significación muestral menor que ,01 lo que significa que es apropiada realizar la regresión. El poder explicativo del modelo es del 88,3 %, es muy bueno, con lo que podemos afirmar que los datos de nuestra muestra están bien ajustados por nuestro modelo, es decir, la variabilidad explicada por nuestro modelo es bastante elevada. Como conclusión podemos decir que hasta niveles de ARG 24horas de 4 la PCR aumenta; con niveles de ARG 24h de 4a 8 la PCR disminuye y a partir de niveles de ARG 24horas de 8 la PCR vuelve a aumentar. Otra alternativa a valorar para poder explicar el comportamiento de la PCR a partir de la ARG serán las siguientes:

El modelo que puede explicar el comportamiento de la PCR24 y de la PCR48 según la actividad ARG 24 viene dado por las siguientes ecuaciones:

$$PCR48 = 19 + 6 * \log \frac{arginasa24}{2}$$

$$PCR24 = 13 + 4 * \log \frac{arginasa24}{6}$$

Y el gráfico que describen estas funciones junto a los datos es el que se presenta a continuación:



**Figura 65. Gráfico de dispersión, comparando evolución PCR – ARG preoperatorio con 24 horas.**

Podemos decir que dados unos niveles de ARG elevados vamos a encontrarnos con niveles de PCR a las 48 horas más elevados que los dados a las 24 horas (figura nº65).

### **8.7. Examinar la implicación de la actividad ARG en la respuesta inflamatoria sistémica (Valorar implicación de la actividad ARG 24 con SIRS).**

Estamos interesados en saber si el nivel de actividad ARG a las 24 horas de la intervención influye en el hecho que el paciente sufra SIRS o no; realizamos una prueba t de Student para comprobar si hay diferencias entre la media de actividad ARG de los pacientes que sufren SIRS y la media de la actividad ARG de los pacientes que no sufren SIRS. En la muestra se observa que el nivel de ARG en los pacientes que sufren SIRS es más elevado en media, pero observamos que esta diferencia no es significativa, es decir, no hay evidencias estadísticas para poder afirmar que existan diferencias

significativas en la actividad ARG de las 24 horas entre los pacientes que sufren SIRS y los pacientes que no lo sufren. Se presenta el siguiente gráfico de cajas (figura n°66), para poder comprobar esto último de un modo más visual y queda evidenciado, por lo menos en la muestra que los pacientes que sufren SIRS “1” sí tienen una mediana mayor que los pacientes que no sufren SIRS “0”

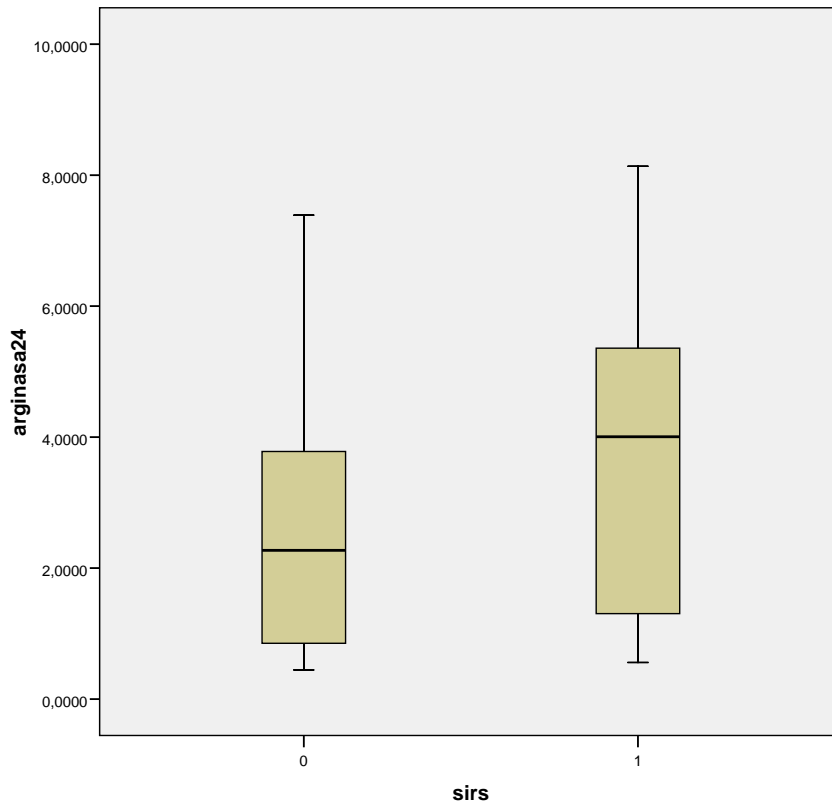


Figura 66. Diagrama de cajas de la ARG según la variable SIRS.

### 8.8. Construcción del índice de inflamación y del índice de inmunidad.

Mediante el “Análisis de Conglomerados”, un método de clasificación estadística de variables cuantitativas, clasificamos las siguientes variables para el momento temporal “24 horas”:

- Actividad ARG
- Linfocitos
- Leucocitos
- PCR
- Plaquetas
- CD3ζ

El método de conglomeración que usamos es la *vinculación inter-grupos* y la medida es la *correlación de Pearson*, es decir, la forma de medir la distancia entre las variables será el coeficiente de correlación de Pearson. Diremos que dos variables o más están muy próximas cuando su coeficiente de correlación sea elevado. Clasificamos en 3 grupos o conglomerados.

Presentamos la agrupación que podemos dar de las variables a las 24 horas de la intervención, mostrando en primer lugar la matriz de correlaciones.

**Tabla 32. Matriz de correlaciones.**

Matriz de distancias a las 24 horas de la intervención (Coeficiente de correlación de Pearson)

Caso	Archivo matricial de entrada					
	ARG	linfocitos	leucocitos	PCR	plaquetas	CD3ζ
ARG	1,000	-,134	,003	-,095	,225	,245
Linfocitos	-,134	1,000	-,185	-,160	-,018	,015
Leucocitos	,003	-,185	1,000	,243	,259	,174
PCR	-,095	-,160	<b>,243</b>	1,000	,181	-,052
Plaquetas	,225	-,018	<b>,259</b>	,181	1,000	,585
CD3ζ	<b>,245</b>	,015	,174	-,052	<b>,585</b>	1,000

La mayor correlación se tiene entre las variables plaquetas y CD3ζ, (tabla nº32), es de sospechar que estas dos variables formaran parte del mismo conglomerado, también se correlacionan de modo positivo con la ARG. En la siguiente tabla (tabla nº33), observamos cómo han quedado agrupadas las variables en los conglomerados.

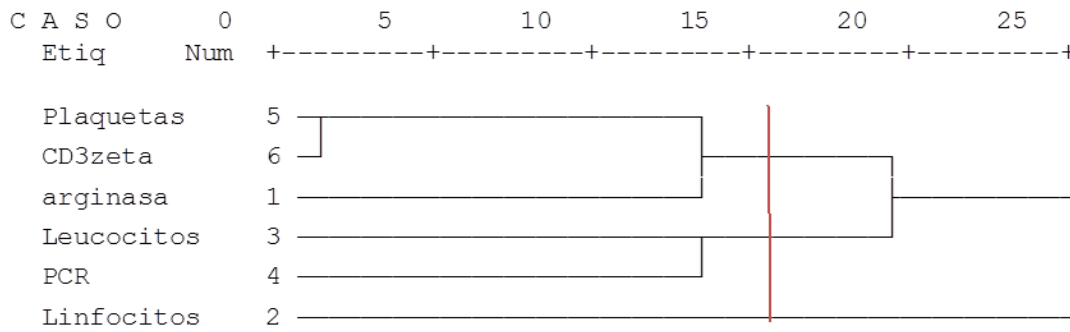
**Tabla 33. Conglomerados.**

Caso	3 conglomerados
ARG	1
Linfocitos	2
Leucocitos	3
PCR	3
Plaquetas	1
CD3ζ	1

El proceso de agrupación se puede ver observando el *dendograma* (figura nº67).



## RESULTADOS



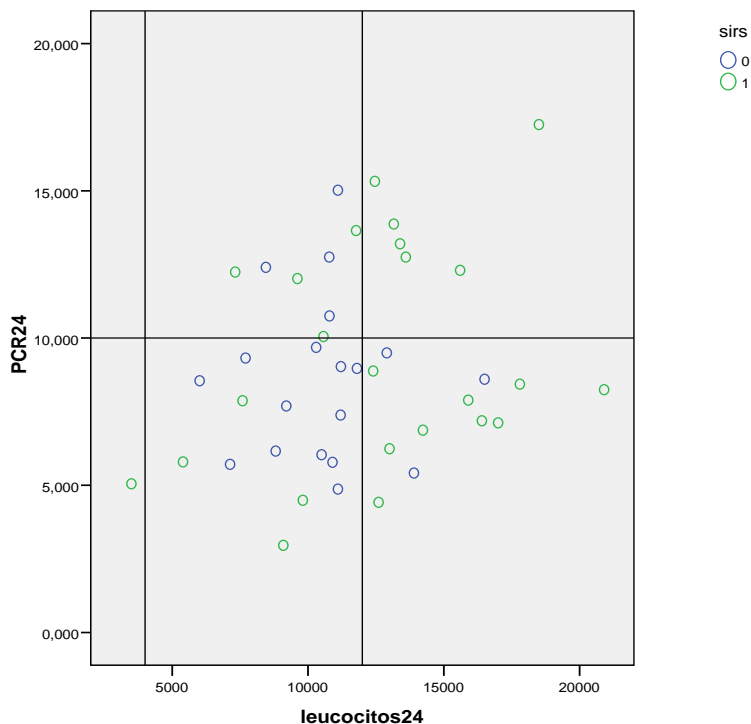
**Figura 67. Dendrograma de agrupación.**

Como hemos decidido hacer tres conglomerados, la línea roja del dendrograma, representa el corte que se realiza para dar lugar a los tres conglomerados. Transcurridas las 24 horas de la operación observamos que la ARG, las plaquetas y el CD3 $\zeta$  se agrupan en el mismo conglomerado. En otro conglomerado están los leucocitos y la PCR. Y formando un conglomerado los linfocitos (figura n°67).

Que en este momento los leucocitos y la PCR estén en el mismo conglomerado es apropiado pues ambas son variables que pueden valorar la inflamación de los pacientes y podemos analizar si los pacientes sufren SIRS o no. Para comprobar en qué medida los pacientes de nuestra muestra sufren SIRS, se presenta el siguiente diagrama de dispersión (figura n°68).

En el diagrama, se observa que son los pacientes que tienen leucocitos fuera del intervalo [4000, 12000] y PCR por encima de 10 los que son más propensos a sufrir SIRS y por lo tanto tendrán más predisposición a la inflamación, esto no es independiente que un enfermo pueda sufrir un síndrome infeccioso o inflamatorio con niveles de PCR menor de 10 y de leucocitos en el intervalo [4000, 12000].

A la vista del gráfico podemos construir una nueva variable que llamaremos “Inflamación”, será una variable dicotómica donde el 0 son pacientes que no sufren inflamación, si bien en nuestra muestra hay 4 pacientes que cumplen los criterios SIRS pero que los consideramos como 0 ya que están dentro de nuestros límites y el 1 son pacientes que sufren inflamación.



**Figura 68. Diagrama de dispersión de leucocitos con PCR a las 24 horas de la intervención.**

Nuestra nueva variable queda de la siguiente manera:

**Tabla 34. Frecuencia de la variable inflamación.**

		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	Sin inflamación	16	37,2
	Con inflamación	27	62,8
	Total	43	100,0

Este nuevo indicador pretende confirmar que los individuos que sufren SIRS van a tener por lo general niveles más elevados de lo que consideramos normales en esta situación (tabla nº34).

Como los linfocitos por si sólo determinan un conglomerado, ellos formaran el índice de inmunidad. Como ya se analizó en el punto 8.2 los linfocitos sufrían un importante descenso a las 24 horas de la intervención, este descenso puede llevar consigo la aparición en los pacientes de los distintos niveles de infección.

**8.9. Estudiar la relación del índice de inflamación con actividad ARG y PCR.**

**8.9.1. Índice de inflamación con actividad ARG**

Revisamos el comportamiento de la actividad ARG en nuestros pacientes con respecto a nuestro índice de inflamación, vemos como es el comportamiento en cada momento

## RESULTADOS

temporal y como se comporta en cuanto a la diferencia de actividad ARG de un momento a otro.

**Tabla 35. Prueba de U de Mann-Whitney.**

	U de Mann-Whitney	W de Wilcoxon	Z	Significación asint. (bilateral)
ARG0	186,000	564,000	-,754	,451
ARG 24arg0	213,000	591,000	-,075	,940
ARG 24	198,500	576,500	-,440	,660
arg48ARG 24	175,000	311,000	-1,030	,303
ARG48	155,000	291,000	-1,533	,125
arg72arg48	144,500	522,500	-1,797	,072
ARG72	191,500	569,500	-,616	,538

En cuanto a la actividad ARG no hay diferencias significativas entre los pacientes que marcamos sin inflamación y los que marcamos con inflamación, pero si podemos decir que hay descenso en la significatividad hasta llegar a una significación de 0,125 en la ARG que tienen los pacientes a las 48 horas de la operación.

Sabemos que los niveles de actividad ARG empiezan a bajar a las 48 horas y en los pacientes que sufren inflamación esta actividad ARG se mantiene elevada, podemos asumir aunque no sea significativo que se mantiene la actividad ARG elevada en los pacientes con “indicador de inflamación” con respecto a los pacientes “sin indicador de inflamación” (tabla n°35).

También vemos que la significación muestral entre los pacientes sin inflamación y los pacientes con inflamación, en la variable que mide la diferencia entre la ARG a las 72 horas y la ARG a las 48, es de 0,072 que si bien no es menor que nuestro nivel de significación habitual, es lo suficientemente baja como para que nos llame la atención, es decir, en la variable que mide el incremento / decremento de la actividad ARG en estos dos momentos hay diferencias importantes pero no significativas (figura n° 69).

Como se observa en el siguiente gráfico:

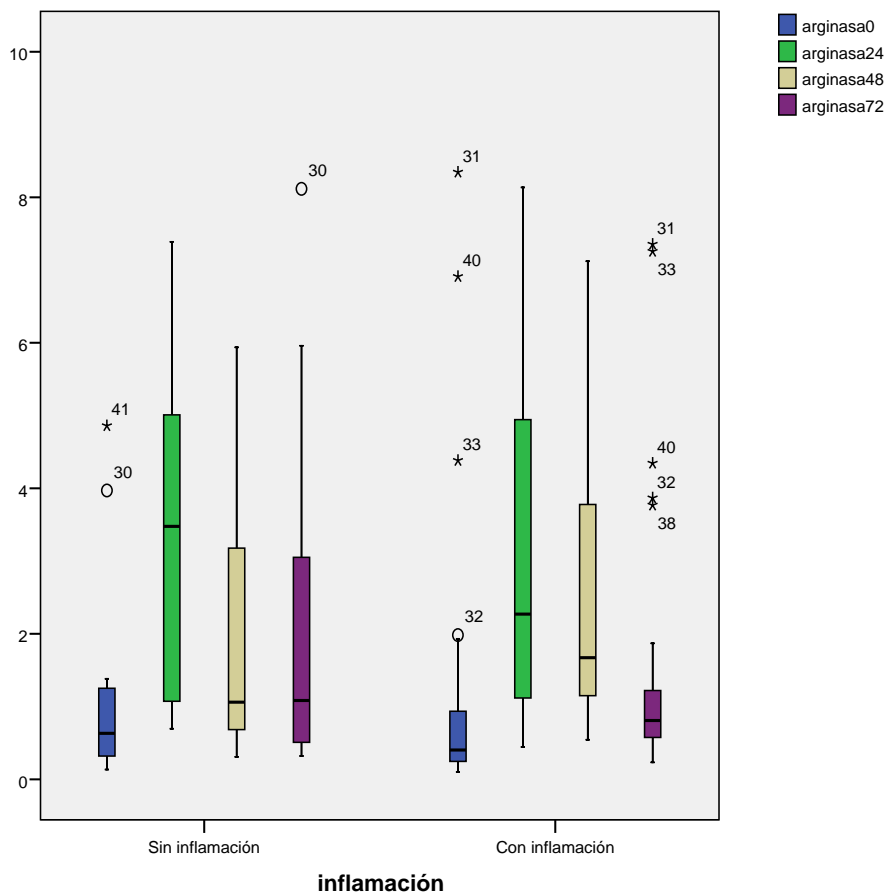


Figura 69. Diagrama de cajas de la ARG según la variable “inflamación” en los 4 momentos temporales.

### 8.9.2. Índice de inflamación con PCR.

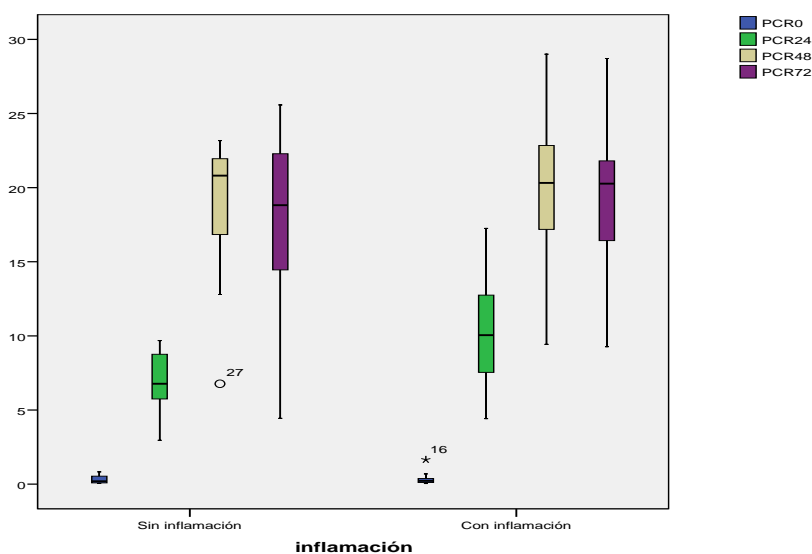
Pasamos a analizar el comportamiento de la PCR según la clasificación de pacientes sin inflamación y pacientes con inflamación.

Tabla 36. Prueba de Prueba de U de Mann-Whitney.

	U de Mann-Whitney	W de Wilcoxon	Z	Significación asintótica (bilateral)
PCR0	208,000	344,000	-,201	,841
PCR24	97,000	233,000	-2,990	,003
PCR48	190,000	326,000	-,653	,514
PCR72	203,000	339,000	-,327	,744

Encontramos que los pacientes con inflamación tienen niveles de PCR superiores a los pacientes sin inflamación a las 24 horas (tabla nº36) y además esta diferencia es

significativa. El nivel medio, asumiendo la mediana como el mejor estimador de la media de PCR en el preoperatorio de los pacientes con inflamación fue de 0,22 y en los pacientes sin inflamación fue de 0,194; con lo cual podemos concluir que los enfermos con niveles de PCR en el preoperatorio más elevada son más propensos a sufrir SIRS o inflamación (indicador de inflamación en nuestro trabajo). Los niveles de PCR se tienden a igualar en ambos grupos a las 48 y a las 72 horas como se observa en el gráfico (figura n°70), lo que nos hace sospechar que los pacientes sin inflamación a las 24 horas pueden haberse complicado a las 48 horas.



**Figura 70.** Diagrama de cajas de la PCR según la variable “inflamación” en los 4 momentos temporales.

## 8.10. Analizar relación del índice de inmunidad con CD3 $\zeta$ y con la presencia de SIRS.

### 8.10.1. Relación del CD3zeta con el índice de inmunidad

En el punto 8.6.1 se observó que existía una relación inversa no lineal significativa entre ARG y L – Arg, en el punto 8.6.2 comprobamos que existía una relación lineal significativa entre la actividad ARG y el CD3 $\zeta$  dando lugar a 2 grupos bien diferenciados; también se comprobó en el punto 8.6.4 que existía una relación inversa no lineal significativa ente ARG y linfocitos. Según el comportamiento que lleva a cabo nuestro organismo cuando se realiza una intervención de estas características lo primero que se empieza a consumir es L – Arg lo que provoca consumo de CD3 $\zeta$  que a su vez provoca variación en la cantidad de linfocitos. En primer lugar analizamos como es la

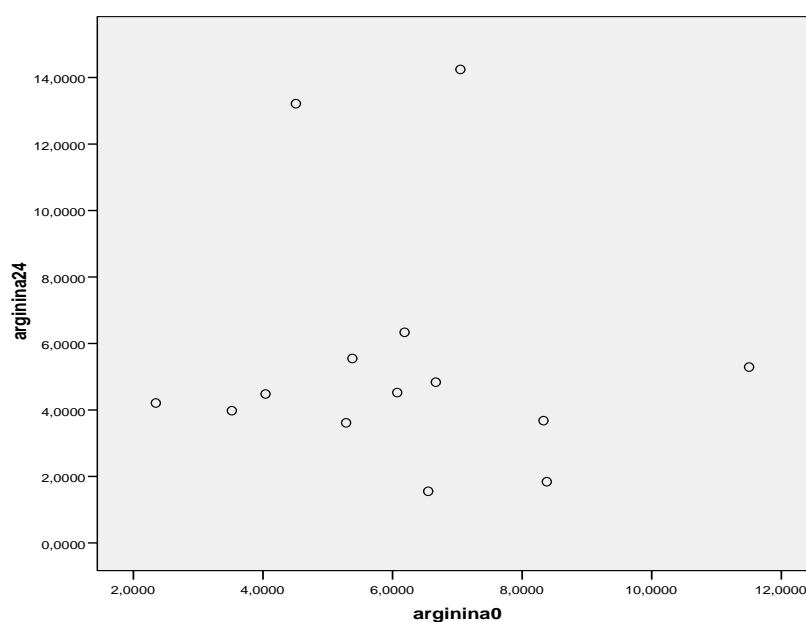
situación del CD3ζ con respecto de la L – Arg a las 24 horas de la intervención, en este caso sólo disponemos de los datos de L – Arg de 11 pacientes. Lo que comprobamos es si hay diferencias significativas en el consumo de CD3ζ entre aquellos pacientes de los que conocemos los niveles de L – Arg y de los que no conocemos estas medida. Realizamos una prueba no paramétrica ya que los niveles de CD3ζ en cada momento temporal no seguían una distribución normal. Realizamos la prueba de Mann – Whitney.

**Tabla 37. Rangos medios del CD3ζ según ciudad.**

ciudad	N	Rango promedio	Suma de rangos
CD3ζ24 1	29	18,34	532,00
2	11	26,18	288,00
Total	40		

En la tabla nº37 observamos que los rangos medios de los pacientes marcados como 1 alcanzan niveles más bajos de CD3ζ que los pacientes marcados como 2, además esta diferencia es significativa ya que realizamos un contraste unilateral y la significación que obtenemos es de ,029 con un valor del estadístico de U de Mann-Whitney de 97. La significación que obtenemos es menor de ,05 luego podemos decir que los niveles de CD3ζ alcanzados por los pacientes marcados como 1 es menor que los niveles de CD3ζ alcanzado por los pacientes marcados como 2 a las 24 horas de la intervención.

Presentamos mediante un gráfico de dispersión (figura nº71), cual es el comportamiento de la L - Arg en el preoperatorio y a las 24 horas de la intervención.



**Figura 71. Diagrama de dispersión de la L – Arg preoperatorio y la ARG 24.**

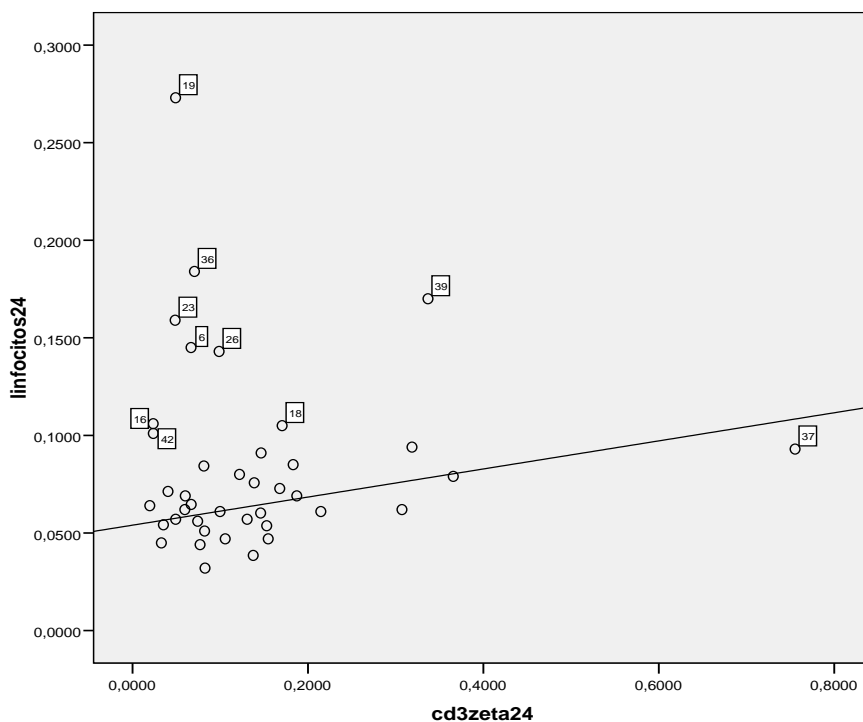
## RESULTADOS

Como se puede observar, la mayoría de los pacientes muestran valores de L - Arg a las 24 horas de la operación inferiores a los valores que tenían en el preoperatorio, salvo en dos pacientes que presentan niveles de L - Arg a las 24 horas de la intervención mayores que en el preoperatorio. Podemos decir que en nuestra muestra, los niveles de L - Arg a las 24 horas de la intervención bajan con respecto al preoperatorio (figura n° 71).

Uno de los principales responsables del comportamiento del nivel de linfocitos, que en nuestro estudio es el índice de inmunidad, es el comportamiento del CD3ζ. Por este motivo se va analizar la relación existente entre estas dos variables. Para poder analizar esta relación presentamos el diagrama de dispersión de las variables CD3ζ y linfocitos, ambas a las 24 horas de la intervención. Se observa que en la mayoría de los pacientes los niveles de CD3ζ son bajos al igual que los niveles de linfocitos salvo en aquellos individuos que presentan una etiqueta con un número que tienen niveles de ambas variables no esperados (figura n° 72).

Al excluir del análisis los datos con la etiqueta, obtenemos una recta de regresión que aparece sobreimpresionada en el diagrama. La recta es la siguiente:

$$\text{linfocitos } 24 = 0,054 + 0,072 * \text{cd}3\zeta$$

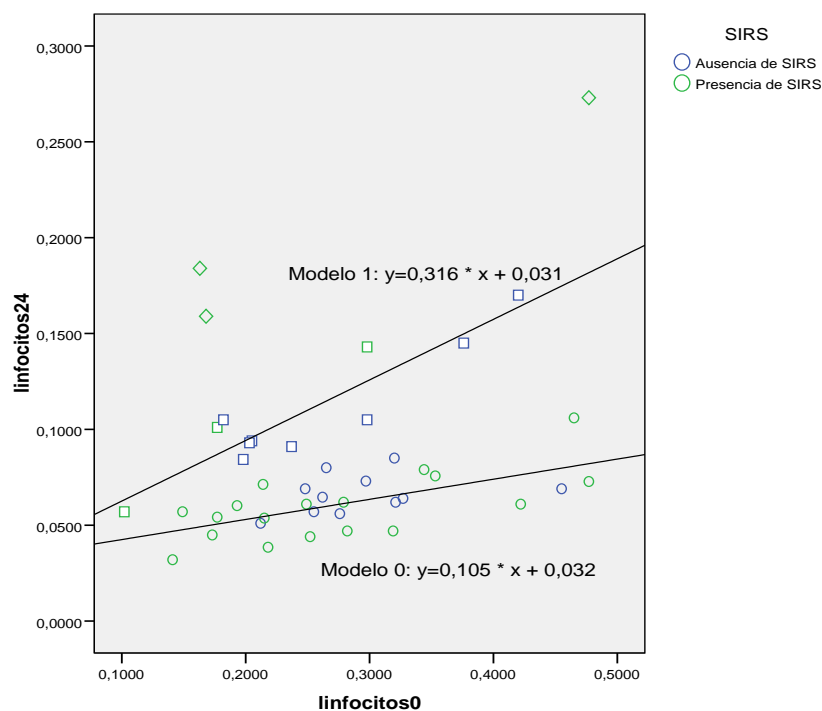


**Figura 72. Gráfico de dispersión del CD3ζ con linfocitos a las 24 horas con modelo lineal.**

Esta recta presenta en el análisis de regresión coeficientes significativos, es decir, distintos de 0. Y la significación en la tabla del anova de la regresión también es menor de ,05 con lo que podemos afirmar que hay evidencias estadísticas para la existencia de la recta (figura nº72). (A mayor consumo de CD3ζ menor cantidad de linfocitos en el organismo). La correlación entre las dos variables, excluyendo los casos etiquetados es de ,403 con significación menor de ,05. El valor de la R<sup>2</sup> es del 16,3% valor que es bajo, pero al obtener valores significativos la recta puede considerarse apropiada. Podemos decir que si bien el nivel de CD3ζ desciende de modo importante a las 24 horas de la intervención, al igual que los linfocitos, este nivel de linfocitos a las 24 horas de la intervención dependerá del nivel de CD3ζ que haya en el organismo a las 24 horas de la intervención. Esto es, si se mantienen niveles altos a las 24 horas de CD3ζ, se mantendrán niveles altos de linfocitos a las 24 horas. Se entiende la expresión de “niveles altos” de modo apropiado al contexto y la situación.

### 8.10.2. Relación del índice de inmunidad con la presencia de SIRS

Queremos saber ahora de que manera afectaría al paciente la supresión inmune en la aparición de SIRS. Para ello en primer lugar presentamos el gráfico de dispersión de los linfocitos en el preoperatorio y a las 24 horas de la intervención.



**Figura 73. Gráfico de dispersión de linfocitos en el preoperatorio y a las 24 horas con modelos lineales.**



En el gráfico se observan tres grupos, los pacientes representados con un rombo, los pacientes representados con un cuadrado y los pacientes representados con un círculo, además el color azul representa “Ausencia de SIRS” y el color verde significa “Presencia de SIRS”. Los pacientes que vienen representados por un rombo poseen a las 24 horas de la intervención niveles de linfocitos muy elevados con respecto al resto y por ser sólo tres no construiremos su correspondiente modelo (figura nº73). El modelo 1 que explica a los pacientes representados con un cuadrado presenta coeficientes significativos al igual que la regresión de la tabla del ANOVA. El valor de la R<sup>2</sup> es igual a 84,5%. De igual manera, el modelo que explica el comportamiento de los pacientes representados con un círculo presenta coeficientes y regresión significativos. El valor de la R<sup>2</sup> es igual a 38,3%. Lo que comprobamos a continuación es si la ausencia o presencia de SIRS depende del modelo en el que está el paciente, para ello, realizamos una tabla de contingencia donde se cruzarán las variables SIRS y la nueva variable “modelo linfocitos” (tabla nº38).

**Tabla 38. Tabla de contingencia de SIRS variable “modelo de linfocitos”.**

		SIRS		Total
		Ausencia de SIRS	Presencia de SIRS	
Modelo linfocitos	Modelo 0	11	18	29
	Modelo 1	8	3	11
Total		19	21	40

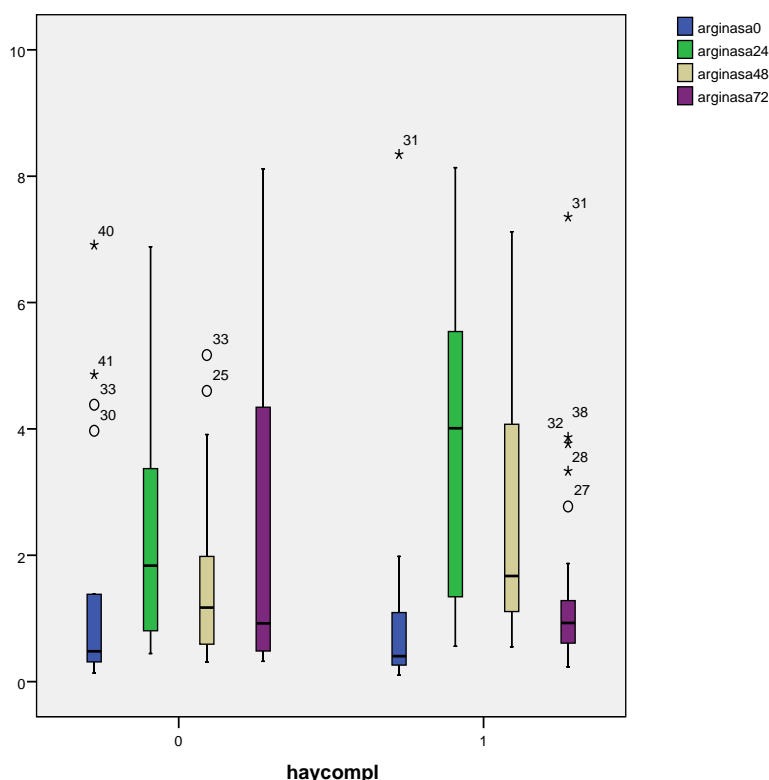
El estadístico Chi – Cuadrado que obtenemos es 3,872 con una significación muestral de ,049 con lo que aceptamos la hipótesis de dependencia, esto es, el hecho que un paciente pertenezca o sea explicado por el modelo 0 podría implicar que éste sufriera SIRS con mayor probabilidad, y si un paciente pertenece al modelo 1 implicaría que no sufriría SIRS con mayor probabilidad.

**8.11. Detallar la relación existente entre ARG y variables relacionadas con la estancia en el hospital (complicaciones postoperatorias hasta el 7º día, estancia en UCI y estancia hospitalaria total).**

En este punto nos interesa saber de qué manera ha afectado el aumento de la actividad ARG de los pacientes en la aparición de complicaciones, así como en la estancia en UCI y por lo tanto su estancia total en el hospital.

**8.11.1. Ver relación de la actividad ARG con las complicaciones postoperatorias hasta el 7º día.**

La siguiente relación que analizamos es la actividad ARG con las complicaciones postoperatorias, es decir, queremos comprobar si dado este aumento de ARG que se tiene a las 24 horas de la intervención hay un aumento de las complicaciones postoperatorias. Se presenta el siguiente diagrama de cajas (figura nº74), con el que podemos observar el comportamiento de la ARG con respecto al hecho de que se den complicaciones o no.



**Figura 74. Diagrama de cajas de ARG con variable “hay complicaciones”.**

Como comentario podemos decir que en aquellos individuos que se dan complicaciones, “1”, las cajas son mayores a las 24 y a las 48 horas de la intervención pero se reduce de un modo drástico a las 72 horas, (figura nº 74) curiosamente ocurre que en aquellos individuos que no se dan complicaciones los niveles de ARG aumentan a las 72 horas, es decir, podemos considerar que hay un repunte de la actividad ARG transcurridas 48 horas de la intervención y este hecho en los pacientes con complicaciones no se da ya que al haber complicaciones el control es más exhaustivo. Comprobamos ahora si hay diferencias significativas en los niveles de actividad ARG en cada momento temporal entre los pacientes que sufrieron complicaciones y los que

## RESULTADOS

no. Para ello realizamos un contraste no paramétrico (Prueba de Mann – Whitney) siendo la variable de separación “hay complicaciones”.

La tabla de rangos medios (tabla nº39), ya expone lo comentado en el diagrama de cajas, que los pacientes que sufren alguna complicación tienen la actividad ARG más elevada a las 24 y 48 horas de la intervención pero ocurre que los pacientes que no presentarán complicaciones tienen actividad ARG más elevada en el preoperatorio que los pacientes que presentarán complicaciones lo mismo ocurre si nos fijamos en la actividad ARG evaluada a las 72 horas.

**Tabla 39. Rangos medios de ARG según la variable “Hay complicaciones”.**

	Hay complicaciones	N	Rango promedio	Suma de rangos
ARG0	0	18	23,61	425,00
	1	25	20,84	521,00
	Total	43		
ARG 24	0	18	17,69	318,50
	1	25	25,10	627,50
	Total	43		
ARG48	0	18	18,17	327,00
	1	25	24,76	619,00
	Total	43		
ARG72	0	18	22,44	404,00
	1	25	21,68	542,00
	Total	43		

Al realizar el contraste (tabla nº40) cabe destacar que no se observan diferencias significativas entre los pacientes que presentan complicaciones y los que no presentan complicaciones en el preoperatorio y a las 72 horas de la intervención. Pero que si hay diferencias significativas en la actividad ARG a las 24 y 48 horas de la intervención entre los pacientes que presentan complicaciones y los pacientes que no presentan complicaciones.

**Tabla 40. Prueba U de Mann-Whitney.**

	ARG0	ARG 24	ARG48	ARG72
U de Mann-Whitney	196,000	147,500	156,000	217,000
W de Wilcoxon	521,000	318,500	327,000	542,000
Z	-,714	-1,908	-1,699	-,197
Sig. asintót. (unilateral)	,2375	,028	,0445	,422

**8.11.2. Ver relación de la actividad ARG con estancia hospitalaria: estancia en UCI. Estancia hospitalaria total.**

**8.11.2.1. Actividad ARG con Estancia en UCI**

Presentamos primero el descriptivo de las variables tiempo.

**Tabla n° 41. Descriptivo de las variables tiempo.**

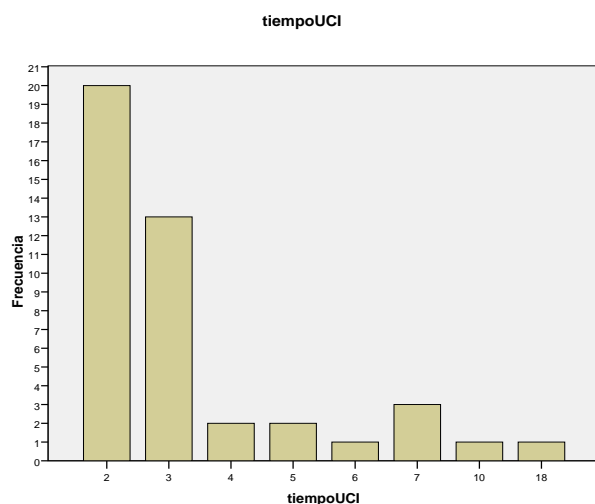
	Tiempo en UCI	Tiempo hospitalizado
Media (Error típico de la media)	3,53 (.439)	10,66 (.690)
Mediana	3,00	9,00
Asimetría	3,517	1,257
Curtosis	15,152	,695

La media de días que pasan los pacientes en la unidad de UCI son 3,53 con una mediana de 3 días. La forma de la distribución de los días es asimétrica a la derecha y leptocúrtica ya que ambos estadísticos, coeficiente de asimetría y curtosis, son mayores que 0 respectivamente (tabla n°41).

Como el 46,5 % de la muestra han pasado dos días en UCI, (figura n°75 - tabla n°42) vamos a comprobar si los niveles de ARG del preoperatorio provocan una mayor estancia en UCI (más de 2 días).

**Tiempo en UCI**

**Tabla 42. Frecuencia tiempo en UCI.**



	Frecuencia	%
2días	20	46,5
3	13	30,2
4	2	4,7
5	2	4,7
6	1	2,3
7	3	7,0
10	1	2,3
18	1	2,3
Total	43	100,0

**Figura 75. Diagrama de barras de tiempo en UCI.**

## RESULTADOS

Realizaremos una prueba no paramétrica para comprobar si hay diferencias significativas entre los individuos que están 2 días en la UCI o más de dos días. Se realiza la Prueba de Mann – Whitney obteniéndose los siguientes resultados (tabla n° 43).

**Tabla 43. Rangos medios de ARG preoperatorio según tiempo en UCI.**

	N	Rango promedio	Suma de rangos
ARG0 2 días en UCI	20	22,05	441,00
Más de 2 días en UCI	23	21,96	505,00
Total	43		

En la tabla de los rangos tenemos que hay 20 individuos que pasan 2 días en UCI y 23 pacientes que pasan más de 2 días en UCI, el rango medio es de 22,05 y 21,96 respectivamente (tabla n°43). El contraste arroja un valor del estadístico de 229 con significación bilateral de ,981 luego hay evidencias estadísticas para poder decir que no hay diferencias significativas entre los pacientes que estuvieron 2 días en UCI y los que estuvieron más de días en UCI.

Este mismo análisis lo hacemos para los mismos individuos pero con la medida de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención. En la tabla de los rangos (tabla n°44) se puede observar que el rango medio de los pacientes que están 2 días en UCI después de la intervención es 17,58 y del otro grupo de pacientes es de 25,85, la diferencia de rangos es mayor que en el análisis anterior.

**Tabla 44. Rangos medios de ARG 24 según tiempo en UCI.**

	N	Rango promedio	Suma de rangos
Más de 2 días			
ARG 24 2 días en UCI	20	17,58	351,50
Más de dos días en UCI	23	25,85	594,50
Total	43		

Al realizar el contraste encontramos que hay diferencias significativas entre ambos grupos, ya que obtenemos una significación muestral de 0,031 menor que 0,05 con lo que tenemos evidencias estadísticas para poder decir que el tiempo en UCI depende de la cantidad de actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

Comprobamos si la estancia en UCI puede deberse al aumento de la actividad ARG a las 48 horas de la intervención, es decir, si el paciente estará 3 días en UCI o más de tres días.

**Tabla 45. Rangos medios de ARG 48 según tiempo en UCI.**

	Más de 3 días	N	Rango promedio	Suma de rangos
ARG48	3 días en UCI	13	9,69	126,00
	Más de 3 días en UCI	10	15,00	150,00
	Total	23		

En la tabla de los rangos se puede observar que el rango medio de los pacientes que están 3 días en UCI después de la intervención es 9,69 y del otro grupo de pacientes es de 15 (tabla nº45).

Atendiendo a la significación muestral asintótica (,063) hay evidencias estadísticas para poder decir que no hay diferencias significativas en la actividad ARG entre los individuos que están 3 días en la UCI y aquellos que están más de 3 días. Sin embargo si realizásemos un contraste unilateral y utilizásemos la significación muestral exacta, tendríamos que si hay diferencias entre estos dos grupos de pacientes, el valor del estadístico es 35.

También se comprueba si la estancia en UCI puede deberse al aumento de la actividad ARG a las 72 horas de la intervención, es decir, si el paciente estará 4 días en UCI o más de 4 día (tabla nº46). Observando los rangos medios podemos decir que no hay diferencias significativas entre estos dos grupos de pacientes.

**Tabla 46. Rangos medios de ARG 72 según tiempo en UCI.**

	Más de 4 días	N	Rango promedio	Suma de rangos
ARG72	4 días en UCI	2	5,50	11,00
	Más de 4 días en UCI	8	5,50	44,00
	Total	10		

Como conclusión podemos decir que el aumento de actividad ARG a las 24 horas de la intervención provoca que el paciente tenga que estar por lo menos dos días en UCI. Y si estos niveles de actividad ARG continúan el paciente sigue en la unidad de la UCI.

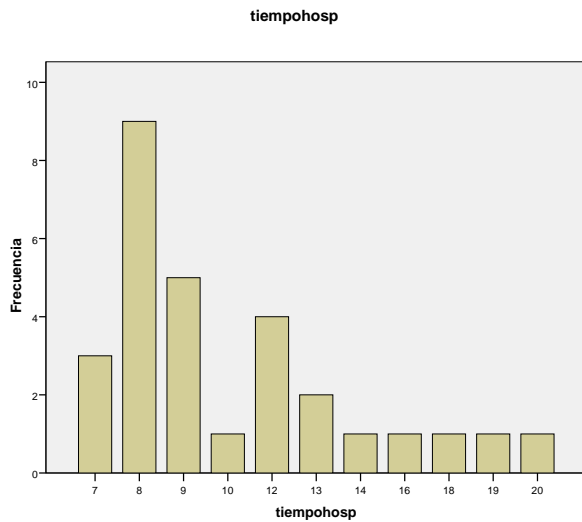
### **8.11.2.2. Actividad ARG con Estancia hospitalaria total.**

Queremos comprobar a continuación si existe relación entre los niveles de ARG y la cantidad de tiempo que el paciente va a pasar hospitalizado, como esta variable incluye a la variable tiempo en UCI, esperamos obtener resultados similares a los anteriores.

## RESULTADOS

Observamos la tabla anterior de descriptivos (tabla nº41). La media de días es de 10,66 y tenemos una mediana de 9. Igual que la variable tiempo en UCI, la forma es asimétrica a la derecha y leptocúrtica.

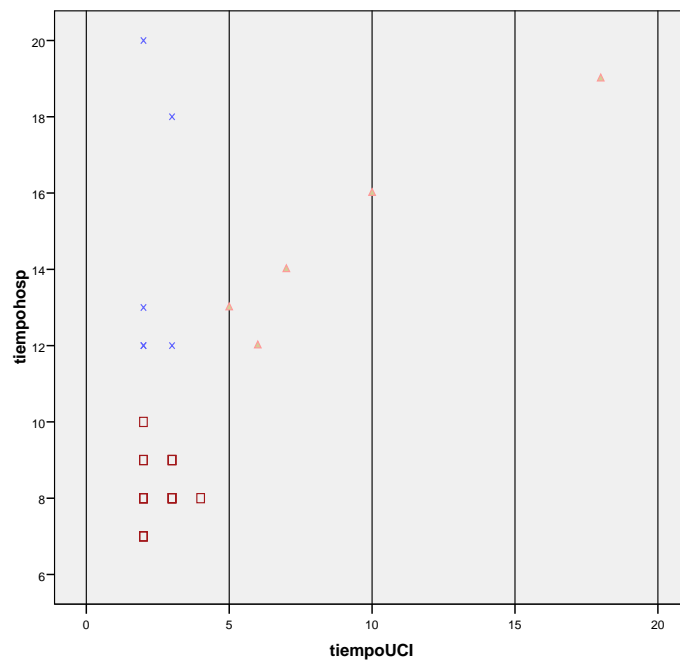
**Tabla 47. Frecuencia tiempo hospitalización.**



Días	Frecuencia	%
7días	3	10,3
8	9	31,0
9	5	17,2
10	1	3,4
12	4	13,8
13	2	6,9
14	1	3,4
16	1	3,4
18	1	3,4
19	1	3,4
20	1	3,4
	29	100,0

**Figura 76. Diagrama de barras en Tiempo hospitalización.**

Obviamente un mayor tiempo en UCI provoca una mayor hospitalización, vamos a ver gráficamente este hecho.



**Figura 77. Diagrama de barras en Tiempo hospitalización.**

Como puede observarse tenemos dos grupos de puntos bien diferenciados, aquellos que pasan hasta 4 días en UCI y hasta 10 días hospitalizados (cuadrados rojos) y el resto (aspas azules y triángulos) (figura nº77). Vamos a ver la correlación que existe entre estas dos variables.

**Tabla 48. Correlación lineal entre tiempo en UCI y tiempo de hospitalización.**

		Tiempo hospitalizado
Tiempo en UCI	Correlación de Pearson	,561(**)
	Sig. (bilateral)	,002
	N	29

Hay una correlación de 0,561 con lo que la relación entre las variables es directa y con un nivel de significación muestral de 0,002 que es menor que 0,01 luego hay evidencias estadísticas para poder decir que el aumento de estancia en UCI puede suponer mayor tiempo hospitalizado (tabla nº48).

Lo más frecuente para un paciente es estar hasta 3 días en UCI y hasta 9 días hospitalizados, si se supera esta cantidad de días es posible que las complicaciones hayan aumentado. Comprobamos si estas complicaciones son debidas a los niveles de la actividad ARG, para ello analizamos si hay diferencias entre los pacientes que cumplen nuestro criterio y los otros pacientes en la variable ARG72.

**Tabla 49. Rangos medios de ARG 72 según variable “Más tiempo hospitalizados”.**

	Más tiempo hospitalizados	N	Rango promedio	Suma de rangos
ARG72	3 días UCI y hasta 9 días en hospital	16	14,69	235,00
	Más de 3 días en UCI o más de 9 días en hospital	13	15,38	200,00
	Total	29		

Como puede verse la diferencia de los rangos medios es pequeña y no hay diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes (tabla nº49).

Como conclusión podemos decir que el nivel de actividad ARG determinará el tiempo en UCI y que existe correlación directa entre la estancia en UCI y el tiempo de hospitalización, pero que una vez que el enfermo termina en la UCI, la mayor o menor estancia en el hospital no depende de niveles elevados de actividad ARG.



## **DISCUSIÓN**



## 9. DISCUSIÓN.

La disponibilidad de L - Arg es un factor importante para la evolución de la respuesta inmune y para el desarrollo y proliferación de algunos tumores. Las células T pierden la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  en ausencia de L - Arg y pueden mantenerse en un estado no proliferativo sin que se inicie un proceso de muerte celular programado. Por el contrario, existen tumores auxótrofos a la L - Arg que mueren por apoptosis al ser tratados con enzimas que catabolizan este aminoácido. La ausencia de L - Arg aumenta la actividad del proteasoma, el cual degrada la cadena CD3 $\zeta$  del TCR/CD3.<sup>353</sup> La L - Arg es un aminoácido no esencial involucrado en varios sistemas biológicos que incluyen al sistema inmune.<sup>354</sup> Estudios in vitro e in vivo demuestran que la ausencia de L - Arg (por aumento de ARG 1 por la inflamación) no sólo bloquea la proliferación de células T, sino que también induce cambios moleculares que incluyen la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  del TCR y la producción de ciertas citoquinas como IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10.<sup>355</sup> La regulación negativa de la cadena CD3 $\zeta$ , como única consecuencia molecular relacionada directamente con la ausencia de L - Arg, no explica la incapacidad de las células T para proliferar después de la estimulación con PHA+IL-2 en ausencia de L - Arg. Los datos publicados hasta el momento en cuanto al efecto de L - Arg sobre la proliferación de las células T humanas, se han limitado a describir la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$  del TCR y la parada del ciclo celular en G0/G1 por la disminución de la expresión de la ciclina 3 y CDk 4.<sup>357, 555</sup> Sin embargo, no se han explicado los mecanismos que permiten a las células T permanecer hasta 5 días en cultivo en ausencia de L - Arg sin que se observe un aumento significativo de la muerte celular. Los resultados del trabajo de Rósula<sup>353</sup> indican que la ausencia de L - Arg induce autofagia como mecanismo de supervivencia en las células T, manteniendo un estado no proliferativo que puede revertirse restableciendo los niveles de L - Arg; demuestran que la degradación de la cadena CD3 $\zeta$  en las células T por la ausencia de L - Arg se debe a la activación de la vía proteasomal (complejo proteínico que fagocita la cadena CD3 $\zeta$ ); es decir al internalizarse la cadena CD3 $\zeta$  puede ser dirigida al RE para el ensamblaje del complejo TCR/CD3, pero debido a los cambios producidos en la homeostasis del RE por la ausencia de L - Arg y al bloqueo de la síntesis general de proteínas por la fosforilación de eIF2 $\alpha$  se supone que el complejo TCR/CD3 no puede formarse y en consecuencia la cadena CD3 $\zeta$  es rápidamente degradada por la vía proteasomal. La enzima ARG supone el último paso en la transformación del ión

amonio en urea en el proceso conocido como Ciclo de la Urea. Si bien ésta es su principal función en el hepatocito, en los últimos años se han descrito otras funciones para la misma tales como: 1. Su participación en la formación de ciertos procesos tumorales por medio de las poliaminas generadas a partir de la ornitina producida en la misma reacción. 2. Implicación en procesos granulomatosos. 3. Papel en la respuesta inmune al participar de la relación de los niveles de L - Arg (control de la síntesis de NO).

La ARG 1 cataboliza L - Arg a L - ornitina y urea, siendo su principal función eliminar nitrógeno formado durante el ciclo de la urea, disminuyendo los niveles de L - Arg disponibles. Los neutrófilos humanos expresan grandes cantidades de ARG 1, lo que podría ser perjudicial para algunas células tumorales auxótrofas para L - Arg<sup>353</sup> (líneas tumorales con deficiencia en la expresión de la enzima ASS son auxótrofas para L - Arg, y la ausencia de este aminoácido puede inducir una parada en el ciclo celular y la posterior muerte celular por apoptosis).

El traumatismo y la cirugía están asociados con un descenso de la producción de NO y de los metabolitos del NO, un aumento de la actividad y expresión de ARG 1<sup>458, 482, 483</sup> en las células del sistema inmune y un estado de inmunosupresión caracterizado por un perfil de células Th2<sup>390</sup> asociado a disfunción celular inmune; además disminuye la L - Arg, disminuye la citrulina y aumenta la ornitina. La función principal de la ARG 2 es la homeostasis de L - Arg. Nuestro objetivo es valorar el aumento de la actividad ARG después de cirugía cardíaca, su relación con L - Arg, CD3ζ, leucocitos, PCR, linfocitos, su implicación en el sistema inmune así como en la aparición de SIRS y otras complicaciones postoperatorias. Para ello todos los datos obtenidos los sometimos a análisis estadístico exhaustivo, valorando significatividad para poder compararlos con los datos encontrados en la literatura; es la primera vez que se relaciona ARG con PCR y leucocitos, integrados como “*índice de inflamación*” y también es la primera vez que se relacionan ARG e “*índice de inmunidad*”; también es la primera vez en la que se puede intuir el aumento de IRA como complicación postoperatoria a partir de cifras de ARG elevadas a las 48 horas de la cirugía.

En un estudio animal reciente la máxima actividad ARG se observó a partir de 2-4 horas después de la cirugía ( $26,6 \pm 1,9$  M mg ornitina / min). La actividad ARG comenzó a disminuir a las 8 horas después de la cirugía pero se mantuvo elevada durante 12 a 24

horas; se observó una disminución progresiva de los niveles plasmáticos de L - Arg durante las primeras 8 horas después de la cirugía probablemente como resultado de la liberación de ARG en la circulación. Esta disminución es proporcional a la gravedad de la lesión.<sup>615</sup> Los datos sugieren que la liberación de ARG después de la cirugía no viene desde el hígado; el traumatismo y la cirugía activan los neutrófilos circulantes, que expresan ARG y muestran signos de degranulación. Los datos presentados plantean la posibilidad de que la ARG circulante se produce como resultado de la activación de los neutrófilos que la liberarían. Sin embargo, estos datos no descartan la posibilidad de liberación de ARG de otras fuentes tales como el endotelio vascular. El aumento de actividad ARG es proporcional a la gravedad de la lesión. Como se estudió en ratones, los autores aprobaron la hipótesis de que existe un aumento similar de actividad ARG en la circulación en los seres humanos.

-Para Tsuei et al <sup>482</sup> el aumento de ARG 1 se hace evidente a las 6 horas de la cirugía y puede contribuir a la disfunción inmune postoperatoria al afectar el uso de L - Arg y la disponibilidad y metabolismo del NO en el sistema inmune. Según Tsuei et al <sup>482</sup> el traumatismo quirúrgico induce la expresión y actividad ARG en el sistema inmune humano. La actividad ARG en MNC aumentó a las 6 horas de la cirugía. En plasma los metabolitos del NO disminuyeron significativamente después de la operación. El aumento de expresión de ARG en MNC puede contribuir a la disfunción inmune postoperatoria al disminuir la L - Arg y la disponibilidad y el metabolismo de NO en el sistema inmune. En plasma la IL-10 puede jugar un papel en la regulación de la actividad de la ARG en MNC. <sup>482</sup>

-Para Ochoa et al <sup>390</sup> este aumento de la actividad ARG 1 aparece de forma temprana en las primeras 12 horas después de la cirugía y persiste a lo largo de su estancia en la UCI; los niveles de ornitina disminuyeron en la fase temprana después de la lesión, pero se recuperaron hacia el 3º día del postoperatorio.

En el traumatismo y cirugía la ARG 1, más que la NOS, parece ser la ruta dominante para el metabolismo de L - Arg en las células del sistema inmune. La ARG puede regular la producción de NO compitiendo con la NOS por la L - Arg. El estado inmune que induce la expresión de la iNOS está asociado con competencia celular inmune e inflamación, se trata de un perfil de citoquinas Th1.<sup>27</sup>

-Según Palomero et al,<sup>463</sup> durante las reacciones inflamatorias se degranulan los PMN, que contienen ARG y la liberan, aumentando principalmente durante las primeras 24-48 horas, que agota L - Arg extracelular, lo que suprime la traducción de iNOS; esta privación de L - Arg induce una supresión profunda de diversas funciones de la célula T, no altera la apoptosis o muerte celular, altera la activación de la célula T, disminuye la liberación de INF- $\gamma$  por parte de la célula T humana. Las células T suprimidas permanecen viables, disminuyen la cadena CD3 $\zeta$  lo que compromete la señalización de la célula T de forma eficiente.<sup>25</sup> Se observó una disminución progresiva de los niveles plasmáticos de L - Arg durante las primeras 8 horas después del traumatismo quirúrgico en un modelo animal.<sup>615</sup>

Se muestra una fuerte correlación negativa entre ARG plasmática y la actividad L - Arg. Estos datos son compatibles con la hipótesis de que la ARG circulante es biológicamente activa y responsable de la disminución de la L - Arg.<sup>615</sup> El aumento de la actividad ARG se correlacionó con la severidad de la cirugía, con los niveles elevados de forma temprana de lactato, que se sabe que son predictores independientes de pronóstico y con el aumento de los niveles circulantes de IL-10.<sup>390</sup> El aumento de la actividad ARG se asoció con un aumento en la duración de la estancia hospitalaria;<sup>390</sup> el aumento de la actividad ARG en las MNC puede ser un marcador de gravedad de enfermedad o predictor de resultado.<sup>390</sup> La expresión de CD3 $\zeta$  disminuido en las células T en estos pacientes podría ser debido a la mayor producción de ARG 1, 24 horas después de la cirugía. Estos hallazgos podrían ser la base del estado de inmunosupresión que ocurre después de la cirugía y podrían desempeñar un papel importante en el escape del tumor y en la aparición de metástasis a largo plazo después de la cirugía.<sup>463</sup>

Ichihara<sup>373</sup> demostró que el estrés quirúrgico induce un descenso de la expresión de CD3 $\zeta$  en las células T, mediado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> derivado de monocitos aunque no esté asociado este cambio con descensos de L - Arg.

Los resultados demuestran que los niveles de CD3 $\zeta$  en las células T periféricas fueron más bajos en el segundo y tercer día del postoperatorio en comparación con el período preoperatorio y se recuperaron el séptimo día del postoperatorio.

Las condiciones inflamatorias-sépticas producen una disminución significativa de las concentraciones de L - Arg para la NOS3, debido a un aumento inducido por los

## DISCUSIÓN

patógenos de ARG 1 e iNOS en macrófagos.<sup>26-28</sup> La disminución de L - Arg mediada por ARG 1 y la disminución de la NOS3 inducida por endotoxinas, afecta a la biodisponibilidad de NO en la microvasculatura,<sup>22, 565, 566</sup> lo que resulta en disfunción endotelial.<sup>567, 568</sup>

-Según Kawahito et al<sup>131</sup> el aumento del número de neutrófilos circulantes, el aumento de la agregabilidad de los neutrófilos, la producción de superóxidos y liberación de elastasas ocurre a las 12-24 horas de la cirugía,<sup>131</sup> con la función oxidativa de los neutrófilos afectada a las 48 horas de la cirugía.<sup>133</sup> Esto sugiere una respuesta bifásica con una citotoxicidad tisular temprana seguida de una disfunción de los neutrófilos tardía.

La concentración total de linfocitos cae durante la CEC, un efecto reflejado en todas las subespecies, incluyendo los linfocitos B, células NK, células T helper y linfocitos T supresores. Este descenso permanece alrededor de 3-7 días después de la cirugía.<sup>127</sup> El descenso en el número se combina con una afectación de la fagocitosis de las células blancas y una inhibición de la habilidad de los monocitos para presentar el antígeno y sintetizar IL-1, y resulta en una debilidad de la respuesta celular inmune y un aumento en la susceptibilidad de los pacientes a adquirir infecciones postbypass.<sup>128</sup>

Las alteraciones de la concentración de PCR pueden detectarse tras 6-8 horas, mientras el valor máximo se alcanza pasadas 24 a 48 horas. El seguimiento postoperatorio de los niveles de PCR permite comprobar si el paciente se recupera normalmente (los niveles disminuyen hasta ser normales) o si sufre complicaciones inesperadas (los niveles permanecen altos). Una concentración sérica elevada de PCR significa un pronóstico grave que suele indicar la presencia de una infección fuera de control; la PCR responde rápidamente a los cambios en la actividad de la enfermedad.<sup>592</sup>

La CEC produce trombopenia y aumento del tiempo de hemorragia que se normalizará dentro de 4-12 horas.<sup>129</sup>

La cirugía cardíaca utilizando CEC a menudo induce un SIRS. El concepto de MIDCAB elimina la derivación cardiopulmonar. Se evaluó el curso perioperatorio de la PCT para comparar la respuesta inflamatoria debido a estos dos procedimientos quirúrgicos diferentes. El aumento en la concentración de PCT fue más pronunciado después de CABG, lo que indica una respuesta inflamatoria reducida después de

MIDCAB. La PCR se incrementó después de ambos procedimientos. La PCT refleja la respuesta inflamatoria después de la cirugía de derivación coronaria con o sin CEC.<sup>616</sup> Se estudiaron las consecuencias biológicas del agotamiento de L - Arg planteando la hipótesis de que el sistema inmune podría verse afectado debido a que la producción de NO por la NOS de las células mieloides y la función de las células T activadas dependen de la disponibilidad de L - Arg. El trabajo de Pribis et al <sup>615</sup> muestra que una causa importante de aumento de la morbilidad, mortalidad y costo asociado con un traumatismo es el desarrollo de infecciones, por el descenso de linfocitos T debido a la ausencia de L - Arg. Similar a lo que ocurre en un traumatismo, las complicaciones infecciosas después de la cirugía electiva son proporcionales al grado de lesión física. La comprensión de los mecanismos que conducen a una mayor susceptibilidad a las infecciones después del traumatismo y / o cirugía es una estrategia valiosa que debería resultar en el desarrollo de terapias exitosas. La L - Arg es también el sustrato para la producción de NO por la NOS, una molécula biológica implicada en procesos tan diversos como la vasodilatación, y la muerte bacteriana. Además, la L - Arg desempeña otras funciones, incluyendo el ser un aminoácido esencial durante la activación de los linfocitos T, y ser el sustrato para la producción de poliaminas e hidroxiprolina y por tanto participar en la reposición de colágeno y la cicatrización de las heridas. Todas estas funciones pueden verse afectadas negativamente por la ausencia o el agotamiento de L - Arg.<sup>615</sup> Los niveles de L - Arg disminuyen sólo temporalmente en el modelo de traumatismo quirúrgico.<sup>615</sup> El estado de disfunción inmune en humanos después del traumatismo o cirugía existe, comprobado por un descenso de la reactividad de los linfocitos T a los mitógenos, descenso de la producción de interferón e IL-2 así como un aumento de la producción de IL-4, IL-10 y TGF- $\beta$ . Además, el bloqueo farmacológico de ARG con nor-NOHA (inhibidor de ARG) puede atenuar el aumento de la susceptibilidad a la infección. Se postula que la disminución del número de bacterias puede resultar de la restauración de la producción de NO o función de las células T, debido a un aumento de la disponibilidad de L - Arg. Más trabajos son necesarios para determinar si nor-NOHA restaura la disponibilidad de L - Arg, la producción de NO, y la función de las células T y si, al hacer ésto, podemos establecer un papel definitivo de ARG como causa del aumento de la susceptibilidad a la infección después de la cirugía. La utilización de dietas que contienen L - Arg puede ser un mecanismo para superar el agotamiento de L - Arg después de la cirugía o traumatismo y disminuir así el número de infecciones, complicaciones y costes.



## DISCUSIÓN

En nuestro estudio observamos que la ARG sufre un fuerte aumento a las 24 horas de la intervención reduciéndose su cantidad en el organismo según transcurre el tiempo llegando casi a las condiciones del preoperatorio a las 72 horas de la intervención; hay evidencias estadísticas para poder afirmar que hay diferencias significativas entre las medidas de ARG tomadas en los distintos momentos temporales y que la máxima variación se da a las 24 horas de la intervención. Hemos comentado anteriormente que al cabo de las 72 horas de la cirugía los pacientes vuelven a tener los niveles de ARG en la misma medida que en el preoperatorio lo cual ocurre incluso en aquellos pacientes que presentan niveles de ARG elevados en el preoperatorio.

En nuestro trabajo, muestralmente (gráficamente) la máxima variación de las variables que aumentan, se da a las 24 horas de la intervención, aunque en el caso de la PCR se tiene que la máxima variación se da a las 48 horas manteniéndose este nivel de PCR a las 72 horas de la intervención.

Si observamos el diagrama de cajas de la procalcitonina (figura nº27) se tiene la máxima variación a las 24 horas pero vuelven a los niveles del preoperatorio a las 72 horas, situación que no sucede en los leucocitos ni en la PCR que mantienen niveles elevados a las 72 horas de la intervención. Al realizar una prueba no paramétrica con los rangos medios vimos que salvo en la PCR que se obtiene la máxima variación a las 48 horas de la intervención en el resto de variables en las que aumentan sus valores, la máxima variación se da a las 24 horas aunque se obtengan niveles máximos en otro momento como en el caso de los leucocitos que la máxima variación se da a las 24 horas pero el valor máximo se da a las 48 horas. Realizada la prueba de Friedman para estas cuatro variables, hay evidencias estadísticas para poder decir que el aumento de las medidas a las 24 horas de la intervención es significativo en todas ellas.

Muestralmente se puede observar que hay máxima variación en descenso en todas las variables que disminuyen, a las 24 horas de la intervención salvo en el lactato que tiene un descenso más paulatino y menos fuerte; obteniéndose la máxima variación en descenso a las 48h, dándose en este momento el valor mínimo. El lactato (signo de hipoperfusión) es la única variable en discordancia ya que en la literatura el aumento de ARG se acompaña de aumento de lactato y en nuestro estudio disminuye. Al realizar una prueba no paramétrica con los rangos medios obtenemos que en la L - Arg, linfocitos y plaquetas, la máxima variación a las 24 horas aunque el mínimo en las

plaquetas se alcanza a las 48 horas. En el lactato y CD3 $\zeta$  la máxima variación se da a las 48 horas dándose el mínimo a las 72 horas.

En estas variables, salvo en la L - Arg, ninguna vuelve a su estado inicial a las 72 horas y es posible que esta vuelta a los valores del preoperatorio tarde un poco más.

Los descensos más importantes se dan en el CD3 $\zeta$  y en los linfocitos, además en el CD3 $\zeta$  a las 48 horas de la intervención sigue descendiendo su nivel. El nivel de plaquetas, se mantiene una vez que se da la máxima variación de éstas a las 24 horas de la intervención. Realizada la prueba de Friedman para estas cinco variables, hay evidencias estadísticas para poder decir que el descenso de las medidas a las 24 o 48 horas de la intervención es significativo en todas las variables salvo en la L - Arg en la que el descenso no es significativo.

En nuestro trabajo quisimos observar cuál era el comportamiento del resto de variables orgánicas con respecto a la actividad ARG y plantear un modelo matemático, para poder explicar esta relación. Podemos decir, que al aumentar el nivel de actividad ARG, disminuye el nivel de L - Arg y además esta disminución viene explicada por el modelo inverso (tabla nº29). Al aumentar los niveles de actividad ARG, disminuyen los niveles de CD3 $\zeta$  (figura nº51). La expresión disminuida de CD3 $\zeta$  en ausencia de L - Arg no está causada por una disminución de CD3 $\zeta$  m RNA, un aumento de la degradación del CD3 $\zeta$  o apoptosis de la célula T (muerte celular desencadenada por señales celulares controladas genéticamente), sino por un descenso de la síntesis del CD3 $\zeta$ .<sup>25, 366, 371</sup> El acoplamiento del TCR, con el antígeno o anti CD3 resulta en un ciclo de internalización y re-expresión del CD3 $\zeta$ . Siguiendo a la internalización, el CD3 $\zeta$  es degradado y reemplazado por el nuevo CD3 $\zeta$  sintetizado en la superficie celular. La disponibilidad de L - Arg modula el ciclo de internalización y re-expresión de CD3 $\zeta$  y causa disfunción de la célula T. Las células T estimuladas y cultivadas en presencia de L - Arg experimentan el ciclo normal de internalización y re-expresión del CD3 $\zeta$ ; sin embargo las células T estimuladas y cultivadas en ausencia de L - Arg presentan una baja regulación de CD3 $\zeta$  impidiendo la expresión normal del complejo TCR/CD3, mostrando una proliferación y producción disminuida de IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10 pero no de la IL-2. La reposición de L - Arg recupera la expresión del CD3 $\zeta$ .<sup>366</sup> Además, este proceso parece ser selectivo para la cadena CD3 $\zeta$ , porque no parece afectar a otras proteínas del TCR ni a otros receptores de membrana como al receptor IL-2. La función

reguladora también parece ser aminoácido específico, porque el agotamiento de L - glutamina no conduce a una disminución de la cadena CD3 $\zeta$ . Los resultados demuestran que los niveles del CD3 $\zeta$  en las células T periféricas fueron más bajos en el segundo y tercer día del postoperatorio en comparación con el período preoperatorio y se recuperaron el séptimo día del postoperatorio. La disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  se ve pronto, a las 2 h, seguido por una caída más significativa después de 24 h de inanición de L - Arg. Las correlaciones realizadas entre los hallazgos clínicos, resultados patológicos y expresión de la cadena  $\zeta$  en las células inmunes sugieren que los bajos (ausencia) niveles de la cadena CD3 $\zeta$  es predictivo de mal pronóstico y supervivencia en pacientes con cáncer.<sup>531</sup> Hallazgos recientes en ratones portadores de tumores y pacientes con cáncer indican que el aumento del metabolismo de L - Arg por las MDSCs, que producen ARG 1, inhiben las respuestas de los linfocitos T.<sup>454</sup> Los datos sugieren que el aumento de expresión de ARG 1 por las MDSCs, puede tener un efecto local o sistémico de descenso de L - Arg resultando en un descenso de la expresión de CD3 $\zeta$ , disminuyendo la producción de citoquinas como el INF- $\gamma$ , pero no de la IL-2, inhibiendo la proliferación de las células T activadas, permitiendo a los tumores escapar a la respuesta inmune.<sup>359, 371, 540, 541</sup>

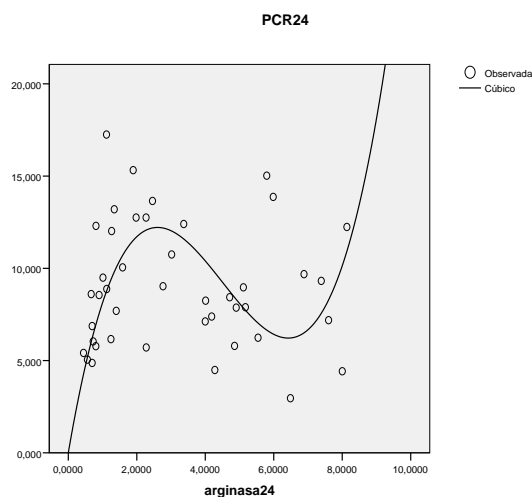
Además de la disminución de la expresión de la cadena CD3 $\zeta$ , se han descrito otras alteraciones en la respuesta inmune frente al tumor asociadas al metabolismo de L - Arg, por lo que la expresión de la ARG y el agotamiento de L - Arg se han convertido en una vía inmunosupresora potente.<sup>356</sup>

Kawahito et al <sup>131</sup> publicaron que el aumento de leucocitos se producía a las 12-24h de la cirugía. La activación de los neutrófilos es un componente integral de la respuesta sistémica del huésped. Los neutrófilos son las células inflamatorias más abundantes, y su activación es esencial para la defensa del huésped contra la infección bacteriana o fúngica, además de estar principalmente involucrados en lesiones del huésped en estados de inflamación persistente.<sup>617</sup>

El modelo que mejor ajusta los datos de la relación ARG y leucocitos (al aumentar ARG aumentan los leucocitos) es un modelo lineal con pendiente positiva (figura nº54). Se observa que en el preoperatorio los niveles de linfocitos estaban altos y los de ARG bajos pero a las 24 horas de la operación se invierte esta situación. Como se puede observar, los pacientes sufren un fuerte descenso de los linfocitos con el aumento de

ARG (figura n°56). De igual manera que anteriormente, hay evidencias estadísticas para considerar que el modelo inverso es válido ya que la significación muestral es menor que 0,01. De nuevo vemos que el nivel de plaquetas desciende a la vez que el nivel de actividad ARG aumenta (figura n°58), aunque también vimos un pequeño número de pacientes en quienes aumentaban las plaquetas.

Podemos decir que para niveles bajos de ARG encontramos que el lactato aumenta (figura n°59). Aunque los niveles de procalcitonina (PCT), experimentan el máximo aumento a las 24 horas de la cirugía, el modelo matemático que mejor explica en nuestra muestra su relación con la ARG es el modelo lineal con pendiente positiva, es decir para niveles altos de ARG tenemos niveles altos de PCT (figura n°62). Con respecto a la PCR podemos decir que hasta niveles de ARG 24 horas de 4, la PCR aumenta; con niveles de ARG 24 h de 4 a 8 la PCR disminuye y a partir de niveles de ARG 24 horas de 8 la PCR vuelve a aumentar (figura n°64). Descartamos pues la relación lineal entre la ARG y la PCR, con lo que buscamos alguna relación no lineal entre estas variables. Se encontró que la relación no lineal que mejor se ajusta a nuestros datos es un modelo cúbico.



**Figura 64. Gráfico de dispersión de la PCR con ARG a las 24 horas con modelo cúbico.**

Estamos interesados en saber si el nivel de actividad ARG a las 24 horas de la intervención influye en el hecho que el paciente sufra SIRS o no; en la muestra se

observa que el nivel de ARG en los pacientes que sufren SIRS es más elevado en media, pero observamos que esta diferencia no es significativa, es decir, no hay evidencias estadísticas para poder afirmar que existen diferencias significativas en la actividad ARG de las 24 horas entre los pacientes que sufren SIRS y los pacientes que no lo sufren.

Numerosos estudios han evaluado el impacto de la CEC sobre la reacción inflamatoria observada tras cirugía cardíaca. Por lo tanto, el estado inflamatorio preoperatorio podría ser considerado un factor de riesgo para la reacción inflamatoria postoperatoria, magnificando los efectos de los factores de estrés inflamatorios intraoperatorios de la CEC, la isquemia, la endotoxemia, y el traumatismo quirúrgico. Se ha planteado la hipótesis, pero aún no está claramente demostrado, que el nivel de reacción inflamatoria postoperatoria puede influir en el desarrollo de complicaciones graves tales como disfunción miocárdica, IRA, IR, y disfunción neurológica, trastornos de la coagulación, y en última instancia MODS.<sup>305</sup>

Es la primera vez que se analiza el comportamiento de la actividad ARG después de la cirugía cardíaca según la puntuación del *EUROSCORE*; es la primera vez que se relacionan las variables que valoran la severidad de la cirugía cardíaca con el aumento que hemos encontrado de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención. Las variables que valoran la severidad de la cirugía cardíaca son:

- ASA
- NYHA
- EUROSCORE

La mayoría de los pacientes tienen una valoración de 2 en NYHA y de 3 en ASA, exactamente 27 pacientes. El estadístico de contraste (U de Mann – Whitney) es de 110 y su significación muestral de ,024 luego podemos decir que hay evidencias estadísticas para poder afirmar que existen diferencias significativas entre las medidas de EUROSCORE con ASA 2 y ASA 3. Hay evidencias estadísticas para poder afirmar que los individuos con ASA 3 tienen una puntuación más elevada en la variable EUROSCORE que los individuos con ASA 2.

Podemos decir que a mayor ASA y mayor NYHA se va a tener un mayor nivel de EUROSCORE. Queremos ahora ver cuál sería la relación que tiene la variable actividad ARG a las 24 horas de la intervención con el EUROSCORE.

El modelo logarítmico que presentamos puede servir para estimar el comportamiento de la actividad ARG después de la cirugía según la puntuación del EUROSCORE.

$$\mathbf{arginasa24 = 2,159 * \ln(EUROSCORE)}$$

El coeficiente con valor 2,159 es significativo, ya que obtenemos una significación muestral de ,000 lo que significa que hay evidencias estadísticas para poder decir que el coeficiente es distinto de 0. Además, con el ANOVA de la regresión se muestra que la regresión es válida y hay evidencias estadísticas para poder afirmar que el modelo es apropiado. Podemos concluir que el modelo logarítmico que presentamos puede servir para estimar el comportamiento de la actividad ARG después de la cirugía según la puntuación del EUROSCORE, en cambio la variable ASA y NYHA no aportan información relevante con respecto a los niveles de actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

Analizamos a continuación de que manera incide el tiempo de clampaje y el tiempo de CEC en el aumento de la actividad ARG. La media de CEC en minutos en nuestro estudio fue de 116,95 con una mediana de 114 minutos; en el tiempo de clampaje la media fue de 88,58 y la mediana de 88 minutos. Como puede observarse ocurre que a mayor tiempo de clampaje hay mayor tiempo de CEC, además la correlación entre ambas variables es de 0,938 con significación muestral de 0,000 con lo que tenemos evidencias estadísticas para poder afirmar que hay una alta relación directa entre ambas variables, lo que era de esperar. Queremos saber a continuación de que manera pueden influir estas medidas de tiempo en el aumento de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención.

No se encontró ningún valor de tiempo de CEC ni tiempo de clampaje que a partir de él se diese un aumento significativo de los niveles de actividad ARG a las 24 horas de la intervención. No existe una clara relación lineal o no lineal entre estas dos variables. Con lo que no tiene sentido dar ningún modelo que ayude a entender el comportamiento de la actividad ARG según esta variable.

En nuestra muestra si hay diferencias entre los sujetos con mayor tiempo de clampaje y mayor tiempo de CEC con la aparición de SIRS, aunque estas diferencias no son significativas.

La mayoría de los procesos que producen lesiones tisulares, tales como infecciones, inflamaciones y neoplasias malignas, se asocian con una fuerte respuesta de fase aguda de la PCR. La respuesta de la PCR frecuentemente precede a los síntomas clínicos, incluyendo la fiebre. Al iniciarse la respuesta de fase aguda, la concentración sérica de PCR aumenta rápida y acentuadamente. Las alteraciones de su concentración pueden detectarse tras 6-8 horas, mientras el valor máximo se alcanza pasadas 24 a 48 horas. ¿Sería la PCR un marcador válido de inflamación en el contexto de la cirugía cardíaca?. Aunque se han descrito los mecanismos de acción específicos para cada molécula inflamatoria, todos ellos están involucrados en el mismo proceso inflamatorio. De hecho, se ha demostrado una correlación positiva y significativa entre la PCR y las citoquinas proinflamatorias después de la cirugía cardíaca<sup>603</sup> y en pacientes con angina estable o inestable.<sup>604</sup> La evaluación perioperatoria de otros marcadores inflamatorios como interleucinas proinflamatorias o TNF- $\alpha$  en grandes series de pacientes quirúrgicos sería difícil, caro, y probablemente menos útil para la evaluación clínica de riesgo. La PCR podría evaluar el estado inflamatorio antes y después de la cirugía cardíaca. La capacidad de la PCR preoperatoria para predecir el resultado a corto plazo después de la cirugía cardíaca ya ha sido reconocida. Cappabianca et al<sup>597</sup> mostraron que un nivel de PCR preoperatoria de 0,5 mg / dL o más fue un predictor independiente de infecciones generales e infecciones de la herida esternal. Además, los pacientes con este nivel de PCR experimentaron una mayor incidencia de sepsis, muerte causada por sepsis, y un tiempo prolongado de ventilación mecánica. Boeken et al,<sup>224</sup> mostraron en un estudio de 100 pacientes que habían sido sometidos a cirugía coronaria y valvular que un nivel de PCR preoperatoria superior a 0,5 mg / dl se asoció con una mayor incidencia de complicaciones sépticas, necesidad de soporte inotrópico, y significativamente mayor duración de la ventilación mecánica y la estancia en la unidad de cuidados intensivos. En consecuencia, Fransen<sup>606</sup> evidenció que la incidencia de infecciones postoperatorias fue significativamente mayor en los pacientes con un aumento de los niveles de PCR preoperatoria (17,8 +/- 3,9 mg / L) que en aquellos con niveles normales de PCR; Fransen et al<sup>606</sup> evidenciaron que la PCR superior a 0,8 mg / dl, junto con diabetes

mellitus y el tiempo de CEC de más de 112 minutos, fueron factores de riesgo independientes de infecciones postoperatorias.

Una posible explicación de la mayor tasa de complicaciones infecciosas postoperatorias en pacientes con alto estado inflamatorio preoperatorio consiste en la observación de que el crecimiento de bacterias se incrementa en presencia de concentraciones elevadas de mediadores proinflamatorios.<sup>608</sup>

En su estudio de pacientes con síndrome de SDRA, Meduri et al<sup>609</sup> demostraron que la neumonía asociada a la ventilación mecánica y la mortalidad consecuente se relacionaba con la magnitud y la duración de la respuesta inflamatoria del huésped.

La interpretación de los valores preoperatorios de PCR elevados puede ser difícil, puede ser debido a una infección oculta subyacente o a la extensión y la gravedad de la patología cardíaca (por ejemplo, angina inestable, IAM reciente, ICC). El hallazgo original del trabajo de Cappabianca es que los pacientes con un estado inflamatorio activado antes de la cirugía cardíaca tenían un peor resultado a medio plazo. Las evaluaciones de la PCR postoperatorias mostraron que después de un pico alcanzado en el 2º día del postoperatorio, la inflamación tiende a disminuir en el 4º día del postoperatorio pero, por desgracia, no son capaces de proporcionar los datos que describen el estado inflamatorio durante el seguimiento. Es posible que sus pacientes, a pesar de la corrección quirúrgica de su enfermedad, continúen teniendo un estado inflamatorio altamente activado. La elevación de las proteínas de fase aguda sensible, PCR y amiloide A sérico en el momento del ingreso en el hospital predice un mal resultado en los pacientes con angina inestable y puede reflejar un importante componente inflamatorio en la patogénesis de esta enfermedad.<sup>614</sup>

En nuestro estudio el máximo aumento de la PCR se da a las 48 horas de la intervención manteniéndose este nivel de PCR elevado a las 72 horas de la misma. Quisimos ver si niveles altos de PCR en el preoperatorio, indicaban que habría aparición de complicaciones postoperatorias. Hay 19 pacientes que presentan un nivel de PCR0 menor de 0,14mg/dl. Este número es prácticamente la mitad de la muestra con la que estamos trabajando. Y sólo 8 individuos tienen niveles de PCR0 igual o mayor a 0,5 mg/dl, nivel que la literatura plantea como punto crítico a la hora de aparición de complicaciones en el postoperatorio. Realizamos un contraste no paramétrico (Prueba de Mann – Whitney), ya que nuestros datos no siguen una distribución normal. En otras



palabras, queremos saber si la aparición de complicaciones depende de niveles de PCR preoperatorio elevados. Hay evidencias estadísticas para afirmar que el nivel de PCR<sub>0</sub> en el preoperatorio no es determinante para que se dé la complicación postoperatoria. Dado un nivel de PCR preoperatorio elevado o niveles de PCR preoperatorio bajos no supone que se den o no complicaciones postoperatorias. Como la bibliografía expone que a partir del nivel 0,5 mg/dl de PCR preoperatoria aparecen complicaciones, buscamos en nuestra muestra a partir de qué nivel se darán las complicaciones postoperatorias.

Como conclusión podemos decir que en nuestra muestra, sólo los pacientes que presentan 2 complicaciones tuvieron niveles de PCR preoperatorio superiores al resto de pacientes, pero no existen diferencias significativas entre estos grupos de pacientes.

Revisamos a continuación los niveles de PCR en el preoperatorio de los pacientes que sufrieron SIRS y de los pacientes que no sufrieron SIRS. Los rangos medios (tabla nº28) de los pacientes que sufrieron SIRS es más elevado que los de los pacientes que no sufrieron SIRS, aunque como vemos a partir del estadístico esta diferencia no es significativa; por lo que podemos afirmar que en nuestra muestra los pacientes que sufrieron SIRS si presentaban niveles de PCR preoperatorio más elevados que los individuos que no sufrieron SIRS, aunque estadísticamente no es significativo.

Dados unos niveles de ARG elevados vamos a encontrarnos con niveles de PCR a las 48 horas más elevados que los encontrados a las 24 horas. Estamos interesados en saber si el nivel de actividad ARG a las 24 horas de la intervención influye en el hecho que el paciente sufra SIRS o no; en la muestra se observa que el nivel de ARG en los pacientes que sufren SIRS es más elevado en media, pero observamos que esta diferencia no es significativa, es decir, no hay evidencias estadísticas para poder afirmar que existen diferencias significativas en la actividad ARG de las 24 horas entre los pacientes que sufren SIRS y los pacientes que no lo sufren.

Los valores de ambas variables, ARG y PCR, a las 24 horas aumentan aunque no de modo lineal, el modelo que mejor se ajusta al aumento de estas dos variables es un modelo cúbico.

Se sugirió inicialmente ser un biomarcador, la PCR ahora parece ser un mediador de la aterogénesis,<sup>610</sup> capaz de regular al alza al factor nuclear-kappa B, un factor nuclear

clave que facilita la transcripción de numerosos genes proateroscleróticos.<sup>138</sup> La PCR activa las células endoteliales y aumenta la actividad y expresión del PAI-1 en las células endoteliales humanas.<sup>611</sup>

Cabe señalar que los grandes estudios retrospectivos han demostrado que el tratamiento preoperatorio con estatinas está asociado con una disminución de la morbilidad y la mortalidad después de las operaciones cardíacas.<sup>613</sup> Los efectos del tratamiento con estatinas en el estado protrombótico después de la cirugía cardíaca podrían ser prometedores.

Una fuerte inflamación sistémica perioperatoria contribuye a la depresión inmune de larga duración. Los estudios indican que la lesión quirúrgica, el traumatismo y pérdida de sangre producen una marcada supresión de la inmunidad mediada por células y una mayor susceptibilidad a la infección de la herida quirúrgica y sepsis. Por lo tanto, tiene sentido tratar de prevenir esa extensa depresión inmune mediante el bloqueo de la inflamación sistémica. Angele y Faist<sup>34</sup> informaron en un ensayo piloto que el G-CSF, en los pacientes quirúrgicos, estimula la liberación de monocitos inalterados.<sup>34</sup> Los efectos inmunoprotectores del G-CSF pudieran ser debidos además de la capacidad antimicrobiana avanzada de los neutrófilos G-CSF-activados, a la capacidad anti-inflamatoria de G-CSF.<sup>14</sup>

En nuestro estudio hay un aumento máximo de ARG a las 24h, coincidiendo con un aumento máximo de leucocitos y de procalcitonina a las 24 horas, de PCR a las 48h; en los leucocitos ocurre similar situación que en la PCR, serán mejor pronosticados (es decir se ajustan mejor a nuestro modelo) los pacientes con leucocitos por debajo de 12000, en la PCR eran pacientes entre 5 y 10. Valores por debajo o por encima son más difíciles de poder pronosticar. Los pacientes con niveles de ARG de hasta 2,5 en general tendrán valores de PCR entre 5 y 14 según nuestro modelo, si por cualquier circunstancia estos niveles fuesen superados el enfermo necesitaría una atención mayor. También encontramos que enfermos con niveles de ARG entre 2,5 y 6, sus niveles de PCR están elevados. Los pacientes que presentan mayores valores de leucocitos son peor pronosticados. En cuanto a las plaquetas tenemos dos grupos, pacientes por encima de 140000 plaquetas y pacientes por debajo de este valor. Son peor pronosticados aquellos pacientes que se les disparan las plaquetas.

## DISCUSIÓN

Mediante el Análisis de Conglomerados, un método de clasificación estadística de variables cuantitativas, clasificamos las variables ARG, linfocitos, leucocitos, PCR, plaquetas y CD3 $\zeta$  para el momento temporal “24 horas”.

El método de conglomeración que usamos es la vinculación inter-grupos y la medida es el coeficiente de correlación de Pearson. Diremos que dos variables o más están muy próximas cuando su coeficiente de correlación sea elevado. Clasificamos en 3 grupos o conglomerados. La mayor correlación se tiene entre las variables plaquetas y CD3 $\zeta$ , es de sospechar que estas dos variables formarán parte del mismo conglomerado, también se correlacionan de modo positivo con la ARG. Transcurridas 24 horas de la operación observamos que la ARG, las plaquetas y el CD3 $\zeta$  se agrupan en el mismo conglomerado. En otro conglomerado están los leucocitos y la PCR. Y formando un conglomerado los linfocitos que formarán el índice de inmunidad (figura nº67). Que en este momento los leucocitos y la PCR estén en el mismo conglomerado es apropiado pues ambos son variables que pueden valorar la inflamación de los pacientes y podemos analizar si los pacientes sufren SIRS o no. Se observa que son los pacientes que tienen leucocitos fuera del intervalo [4000, 12000] y PCR por encima de 10 los que son más propensos a sufrir SIRS y por lo tanto tendrán más predisposición a la inflamación.

Revisamos el comportamiento de la actividad ARG en nuestros pacientes con respecto a nuestro “índice de inflamación”. En cuanto a la actividad ARG no hay diferencias significativas entre los pacientes que marcamos “sin inflamación” y los que marcamos “con inflamación”, pero si podemos decir que hay descenso en la significatividad hasta llegar a una significación de 0,125 en la ARG que tienen los pacientes a las 48 horas de la operación. Sabemos que los niveles de actividad ARG empiezan a bajar a las 48 horas y en los pacientes que sufren inflamación esta actividad ARG se mantiene elevada, podemos asumir aunque no sea significativo que se mantiene la actividad ARG elevada en los pacientes con “indicador de inflamación” con respecto a los pacientes “sin indicador de inflamación”. También vemos que la significación muestral entre los pacientes sin inflamación y los pacientes con inflamación, en la variable que mide la diferencia entre la ARG a las 72 horas y la ARG a las 48, es de 0,072 que si bien no es menor que nuestro nivel de significación habitual, es lo suficientemente baja como para que nos llame la atención, es decir, en la variable que mide el incremento / decremento de la actividad ARG en estos dos momentos hay diferencias importantes pero no significativas.

Analizamos el comportamiento de la PCR según la clasificación de pacientes sin inflamación y pacientes con inflamación. Encontramos que los pacientes con inflamación tienen niveles de PCR superiores a los pacientes sin inflamación a las 24 horas y además esta diferencia es significativa. Podemos concluir que los enfermos con niveles de PCR en el preoperatorio más elevados son más propensos a sufrir SIRS o inflamación (indicador de inflamación en nuestro trabajo). Los niveles de PCR se tienden a igualar en ambos grupos a las 48 y a las 72 horas como se observa en el gráfico (figura nº70) lo que nos hace sospechar que los pacientes sin inflamación a las 24 horas pueden haberse complicado a las 48 horas.

La asociación de la ARG con el sistema inmune fue descubierta hace más de 30 años cuando Kung y colaboradores demostraron que el agotamiento de L - Arg por la ARG de los macrófagos provocaba deficiencias en la producción de anticuerpos en linfocitos murinos.<sup>353, 386</sup> El déficit de L - Arg induce disfunción de las células T y podría modular las propiedades de las células NK que participan en la defensa del huésped contra las infecciones y tumores. El destino metabólico de la L - Arg en el sistema inmune está determinado por el estado de activación de las células T y el patrón de expresión de las citoquinas en el proceso inflamatorio. Por ejemplo, la L - Arg mediante su catabolismo puede intervenir en el SIRS a través de dos mecanismos básicos: (i) la producción de NO en los macrófagos por la ruta inducible;<sup>16, 26, 410</sup> (ii) y la utilización de L - Arg por parte de las células T para su activación y proliferación.<sup>443</sup> El papel de la ARG de los macrófagos en la inflamación también se demuestra claramente por el hecho de que la ARG murina es inducible por macromoléculas derivadas de patógenos tales como LPS o lipoproteínas.<sup>410</sup> Se planteó la hipótesis de que la enzima causalmente podría estar implicada en la patogénesis de enfermedades debido a la supresión de la citotoxicidad mediada por NO, a través del consumo de L - Arg, aumento de la síntesis de colágeno y fibrosis a través de la generación de prolina y aumento de la proliferación celular a través de la generación de poliaminas. Kung y colaboradores observaron que en cultivos de leucocitos murinos, la adición de macrófagos peritoneales que sobre-expresan ARG, suprimía la generación de linfocitos citotóxicos, posiblemente por el agotamiento de L - Arg en el medio de cultivo.<sup>386</sup> En las células del sistema inmune la expresión de ARG 1 juega un papel importante en la regulación de infecciones, por ejemplo en macrófagos la ARG 1 participa en la regulación de las infecciones por esquistosoma y leishmania.<sup>402, 450</sup> En los neutrófilos humanos la ARG 1 se almacena en

gránulos intracelulares.<sup>396</sup> La ARG 1 en los neutrófilos parece intervenir en un mecanismo antimicrobiano novedoso, independiente de oxígeno. Cuando los gránulos azurófilos se fusionan con los fagosomas, ARG 1 agota la L - Arg disponible, impidiendo la duplicación de microorganismos como *Candida albicans*.

Las alteraciones del sistema inmune del huésped siguiendo a la cirugía se cree que es responsable del mayor riesgo de infección. La respuesta inmune del huésped a la lesión tisular generalizada se piensa que sigue una respuesta bimodal, con el SIRS, seguido por el CARS. Lesiones físicas relacionadas con traumatismo y cirugía aumentan la expresión de linfocitos Th2 que causan trastornos en la inmunidad mediada por células (CMI). La disminución de la expresión y la señalización de la IL-12 y el aumento de expresión de las Treg parecen desempeñar un papel central en la mediación de esta depresión inmune. Además, las citoquinas Th2 aumentan la expresión de la ARG 1 en MDSCs que causan un estado de déficit de L - Arg, que deteriora la función de los linfocitos. Dietas inmunomoduladoras que contienen suplementos de L - Arg y ácidos grasos  $\omega$  - 3 se han demostrado para restablecer el equilibrio Th1 / Th2 después de un traumatismo quirúrgico y para reducir el riesgo de complicaciones infecciosas.<sup>548</sup> Los linfocitos Th1 producen IFN- $\gamma$ , una citoquina esencial en la respuesta inmune mediada por células. Las células Th2 producen selectivamente IL-4 e IL-5 que participan en el desarrollo de la inmunidad humoral y tienen un papel prominente en la hipersensibilidad de tipo inmediato.

Los macrófagos estimulados por la vía alterna, con la IL-4 más IL-13 inducen un aumento de la expresión de ARG 1, pero no de ARG 2 o iNOS, disminución de los niveles extracelulares de L - Arg y una rápida disminución de la expresión de CD3 $\zeta$  en las células Jurkat. En contraste, los macrófagos estimulados con INF- $\gamma$ , por la vía clásica, aumentan la expresión de la iNOS y aumentan la producción de NO, disminuyendo la expresión de ARG 1 sin alterar la expresión de CD3 $\zeta$ .<sup>371</sup>

La ARG 1 disminuye L - Arg, la ausencia de L - Arg afecta la re-expresión de la cadena CD3 $\zeta$  por el bloqueo de su síntesis. La ARG 1 disminuye L - Arg, disminuye la expresión de CD3 $\zeta$  y altera la proliferación de las células T.<sup>355, 443, 452-454</sup> La baja expresión de la cadena CD3 $\zeta$  no puede explicar por sí sola la disminución de la proliferación de los linfocitos T.

-El traumatismo y cirugía están asociados con un descenso de la producción de NO y de los metabolitos del NO, un aumento de la actividad y expresión de ARG 1<sup>458, 482, 483</sup> en las células del sistema inmune y un estado de inmunosupresión caracterizado por un perfil de células Th2<sup>390</sup> asociado a disfunción celular inmune; además disminuye la L - Arg, disminuye la citrulina y aumenta la ornitina. Este aumento de la actividad ARG 1 aparece de forma temprana en las primeras 12 horas después de la cirugía y persiste a lo largo de su estancia en la UCI; los niveles de ornitina disminuyeron en la fase temprana después de la lesión, pero se recuperaron hacia el 3º día del postoperatorio.<sup>390</sup> La expresión CD3ζ disminuida en las células T en estos pacientes podría ser debido a la mayor producción de ARG 1 24 horas después de la cirugía. Estos hallazgos podrían ser la base del estado de inmunosupresión que ocurre después de la cirugía y podrían desempeñar un papel importante en el escape del tumor y en la aparición de metástasis a largo plazo después de la cirugía.<sup>463</sup>

En condiciones de inflamación-sepsis hay aumento de la actividad ARG 1,<sup>1, 4, 16-25, 389</sup> un descenso significativo de las concentraciones de L - Arg para la NOS3 y un aumento de la NOS2 (iNOS) en los macrófagos, aumentando por ello el NO.<sup>366, 415</sup> La microcirculación, presenta varios cambios funcionales y estructurales característicos en respuesta a la sepsis. Estos incluyen la disfunción vasomotora (alteración de la dilatación y constricción de los vasos), la adherencia y la migración transendotelial de leucocitos, disfunción de la barrera endotelial (aumento de la permeabilidad vascular), proliferación de vasos sanguíneos (angiogénesis), y aumento de la formación de trombos.

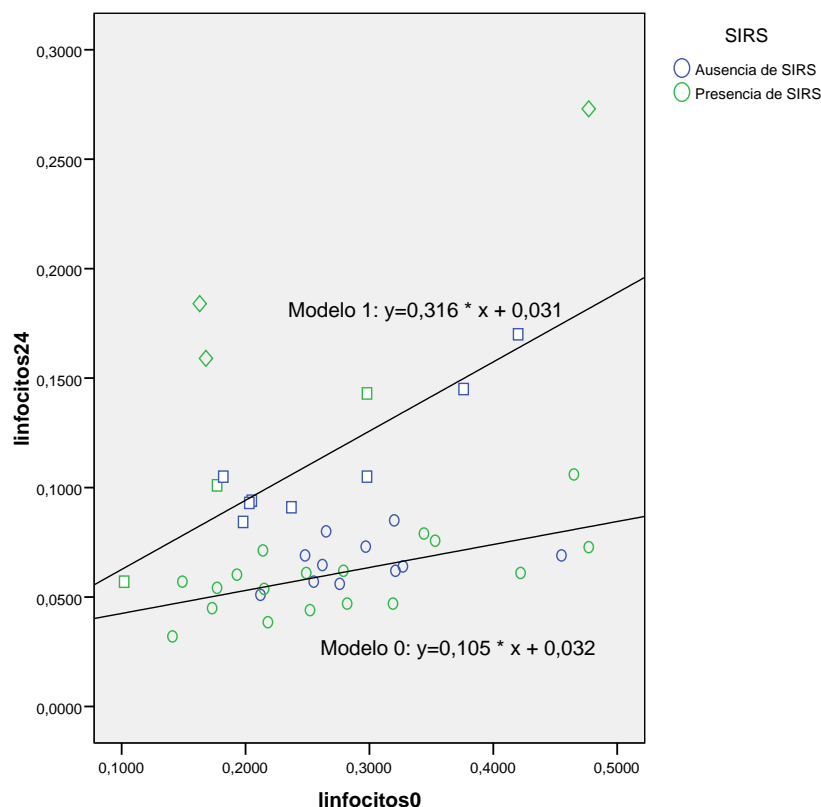
En el punto 8.6.1 se observó que existía una relación inversa no lineal significativa entre ARG y L – Arg, en el punto 8.6.2 comprobamos que existía una relación inversa lineal significativa entre la actividad ARG y el CD3ζ. También se comprobó en el punto 8.6.4 que existía una relación inversa no lineal significativa ente ARG y linfocitos. Toda la literatura revisada coincide afirmando que cuando se realiza una intervención quirúrgica de estas características se produce un aumento de ARG, y lo primero que empieza a consumir es L – Arg lo que provoca descenso de CD3ζ que a su vez provoca variación en la cantidad de linfocitos. La mayoría de los pacientes muestran valores de L -Arg a las 24 horas de la operación inferiores a los valores que se tenían en el preoperatorio. Uno de los principales responsables del comportamiento del nivel de linfocitos, que en nuestro estudio es el *índice de inmunidad*, es el comportamiento del CD3ζ. Por este

## DISCUSIÓN

motivo se va a analizar la relación existente entre estas dos variables. Obtenemos una recta de regresión que es la siguiente:

$$\text{linfocitos 24} = 0,054 + 0,072 * \text{cd3}\xi$$

Esta recta presenta en el análisis de regresión coeficientes significativos, es decir, distintos de 0. Y la significación en la tabla del anova de la regresión también es menor de ,05 con lo que podemos afirmar que hay evidencias estadísticas para la existencia de la recta (a mayor consumo de CD3 $\zeta$  menor cantidad de linfocitos en el organismo). Podemos decir que si bien el nivel de CD3 $\zeta$  desciende de modo importante a las 24 horas de la intervención, al igual que los linfocitos, este nivel de linfocitos a las 24 horas de la intervención dependerá del nivel de CD3 $\zeta$  que haya en el organismo a las 24 horas de la intervención. También queremos saber de que manera afectaría al paciente la supresión inmune en la aparición de SIRS.



**Figura 73. Gráfico de dispersión de linfocitos en el preoperatorio y a las 24 horas con modelos lineales.**

Lo que comprobamos es si la ausencia o presencia de SIRS depende del modelo en el que está el paciente, para ello, realizamos una tabla de contingencia donde se cruzarán las variables SIRS y la nueva variable “modelo linfocitos”. El estadístico Chi –

Cuadrado que obtenemos es 3,872 con una significación muestral de ,049 con lo que aceptamos la hipótesis de dependencia, esto es, el hecho que un paciente pertenezca o sea explicado por el modelo 0 podría implicar que éste sufriera SIRS con mayor probabilidad, y si un paciente pertenece al modelo 1 implicaría que no sufriría SIRS con mayor probabilidad.

La siguiente relación que analizamos es la actividad ARG con las complicaciones postoperatorias, es decir, queremos comprobar si dado este aumento de ARG que se tiene a las 24 horas de la intervención hay un aumento de las complicaciones postoperatorias y el resultado es que sí hay diferencias significativas en la actividad ARG a las 24 y 48 horas de la intervención entre los pacientes que presentan complicaciones y los pacientes que no presentan complicaciones.

Nosotros como complicaciones recogimos 2 casos de muerte, 2 paradas cardiorespiratorias, 1 caso de pericarditis, 5 pacientes con F.A, 2 casos de sepsis, 6 pacientes con IRA, 6 pacientes con IR, 7 coagulopatías y un paciente con IAM. Además 24 pacientes cumplen criterios de SIRS.

Analizamos en nuestra muestra la relación entre IRA como complicación postoperatoria y PCR postoperatoria; podríamos anticipar la probabilidad de IRA teniendo unos valores de PCR de 15-20 mg/dl, que corresponden con los valores de PCR a las 72h del postoperatorio. En nuestro estudio niveles de ARG de 48 horas asociado a un prolongado tiempo de CEC se asocia con alta probabilidad de sufrir IRA en el postoperatorio. En concreto y por primera vez también estudiamos la relación entre ARG en pacientes que habían sufrido IRA como complicación. Lo que estamos interesados en ver es si hay diferencias significativas entre la ARG en cada momento temporal según la variable de agrupación, es decir, si la actividad ARG es mayor o igual en los pacientes que no sufren IRA que los pacientes que sufren IRA o si por el contrario la actividad ARG de los pacientes que no sufren IRA es menor que los pacientes que sufren IRA.

En el único momento temporal donde se encuentran diferencias significativas es en la medida de la actividad ARG a las 48 horas, esto es, la actividad ARG a las 48 horas es mayor en los pacientes que sufren IRA que en los pacientes que no sufren IRA.

La media de días que pasan los pacientes en la unidad UCI son 3,53 con una mediana de 3 días. Como el 46,5 % de la muestra han pasado dos días en U.C.I, vamos a comprobar



## DISCUSIÓN

si los niveles de ARG del preoperatorio provocan una mayor estancia en UCI (más de 2 días). Hay 20 individuos que pasan 2 días en UCI y 23 pacientes que pasan más de 2 días en UCI. El contraste arroja un valor del estadístico de 229 con significación bilateral de ,981 luego hay evidencias estadísticas para poder decir que no hay diferencias significativas entre los pacientes que estuvieron 2 días en UCI y los que estuvieron más de días en UCI.

Este mismo análisis lo hacemos para los mismos individuos pero con la medida de la actividad ARG a las 24 horas de la intervención. Tenemos evidencias estadísticas para poder decir que el tiempo en UCI depende de la cantidad de actividad ARG a las 24 horas de la intervención. Comprobamos si la estancia en UCI puede deberse al aumento de la actividad ARG a las 48 horas de la intervención, es decir, si el paciente estará 3 días en UCI o más de tres días. Si realizásemos un contraste unilateral y utilizásemos la significación muestral exacta, tendríamos que sí hay diferencias entre estos dos grupos de pacientes. También se comprueba si la estancia en UCI puede deberse al aumento de la actividad ARG a las 72 horas de la intervención, es decir, si el paciente estará 4 días en UCI o más de 4 días. Podemos decir que no hay diferencias significativas entre estos dos grupos de pacientes. Como conclusión podemos decir que el aumento de actividad ARG a las 24 horas de la intervención provoca que el paciente tenga que estar por lo menos dos días en UCI. Y si estos niveles de actividad ARG continúan el paciente seguirá en la unidad UCI. Comprobamos a continuación si existe relación entre los niveles de ARG y la cantidad de tiempo que el paciente va a pasar hospitalizado; como esta variable incluye a la variable tiempo en UCI, esperamos obtener resultados similares a los anteriores. La media de días es de 10,46 y tenemos una mediana de 9.

Como puede observarse tenemos dos grupos bien diferenciados, aquellos que pasan hasta 4 días en UCI y hasta 10 días hospitalizados y el resto. Hay evidencias estadísticas para poder decir que el aumento de la estancia en UCI puede suponer mayor tiempo de hospitalización. Lo más frecuente para un paciente es estar hasta 3 días en UCI y hasta 9 días hospitalizado. Comprobamos si estas complicaciones son debidas a los niveles de la actividad ARG; como conclusión podemos decir que el nivel de actividad ARG determinará el tiempo en UCI y que existe correlación directa entre la estancia en UCI y el tiempo de hospitalización, pero que una vez que el enfermo pasa a planta, la mayor o menor estancia en el hospital no depende de niveles elevados de actividad ARG



## **CONCLUSIONES**



**10. CONCLUSIONES.**

1. La cirugía cardíaca provoca una intensa reacción inflamatoria con un aumento significativo de ARG a las 24 horas. Hay evidencias estadísticas para afirmar que hay un aumento significativo a las 24 horas de leucocitos, PCT y PCR y hay un descenso significativo de CD3 $\zeta$ , linfocitos, plaquetas y lactato; la L - Arg disminuye a las 24 horas pero no hay diferencia significativa.
2. Valores altos de Euroscore (severidad de cirugía) explicarán valores altos de ARG a las 24 horas.
3. Existe relación directa entre el aumento de la ARG y tiempo de CEC pero esta relación es débil. Sí hay diferencias entre el tiempo de clampaje y de CEC y sufrir SIRS pero no son significativas.
4. No encontramos diferencias significativas entre la PCR en el preoperatorio y la incidencia de complicaciones en el postoperatorio, aunque la PCR si era mayor; tampoco encontramos diferencias significativas entre la PCR preoperatoria y el desarrollo de SIRS.
5. El aumento de ARG a las 24 horas explica el comportamiento de L - Arg, CD3 $\zeta$ , leucocitos, linfocitos, plaquetas, lactato, P.C.T, P.C.R mediante distintos modelos matemáticos.
6. Se observa que el nivel de ARG en los pacientes que sufren SIRS es más elevado en media, pero observamos que esta diferencia no es significativa.
7. Se construye el “*índice de inflamación*” y asumimos, aunque no sea significativo, la actividad ARG elevada en los pacientes con “*indicador de inflamación*”. Sí hay diferencias significativas entre PCR 24 horas e “*indicador de inflamación*”. Se construye el “*índice de inmunidad*”. El nivel de CD3 $\zeta$  desciende de modo importante a las 24 horas de la intervención; el nivel bajo de linfocitos dependerá del nivel de CD3 $\zeta$  que haya en el organismo. La ausencia o presencia de SIRS depende de forma significativa de la supresión inmune.
8. El aumento de ARG se asocia con la aparición de complicaciones, mayor estancia en UCI y por lo tanto mayor estancia hospitalaria total.



## **BIBLIOGRAFÍA**





**11. BIBLIOGRAFIA.**

1. - Warren OJ, Smith AJ, Alexiou C, Rogers PL, Jawad N, Vincent C, et al. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 1--mechanisms of pathogenesis. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2009 Apr; 23(2):223-31. doi:10.1053/j.jvca.2008.08.007. Epub 2008 Oct 19.
2. - Laffey JG, Boyland JF, Cheng DCH. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist *Anesthesiology.* 2002 Jul;97(1):215-52.
3. - Warren OJ, Watret AL, de Wit KL, Alexiou C, Vincent C, Darzi AW, et al. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 2-anti-inflammatory therapeutic strategies. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2009 Jun; 23(3):384-93. doi: 10.1053/j.jvca.2008.09.007. Epub 2008 Dec 3.
4. - Sobieski MA 2nd, Graham JD, Pappas PS, Tatooles AJ, Slaughter MS. Reducing the effects of the systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: can single dose steroids blunt systemic inflammatory response syndrome? *ASAIO J.* 2008 Mar-Apr; 54(2):203-6. doi:10.1097/MAT.0b013e3181640331.
5. - Rossaint E, Berger C, Van Aken H, Scheld HH, Zahn PK, Rukosujew A, et al. Cardiopulmonary bypass during cardiac surgery modulates systemic inflammation by affecting different steps of the leukocytes recruitment cascade. *PLoS One.* [Journal on line]. 2012 sep 19;7(9):e45738. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0045738. Epub 2012 Sep 19.
6. - De Somer F. Recent advances in the comprehension and the management of perioperative systemic host response during cardiopulmonary bypass. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov.* 2012 Dec;7(3):180-5.
7. - Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg.* 2005; 3(2):129-40. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijssu.2005.04.002>.

8. - Andersen KS, Nygreen EL, Grong K, Leirvaag B, Holmsen H. Comparison of the centrifugal and roller pump in elective coronary artery bypass surgery--A prospective, randomized study with special emphasis upon platelet activation. *Scand Cardiovasc J*. 2003 Dec;37(6):356-62.
9. - Belhaj A. Actual knowledge of systemic inflammation reaction during cardiopulmonary bypass. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*. 2012 Dec;7(3):165-9.
10. - Raja SG, Dreyfus GD. Modulation of systemic inflammatory response after cardiac surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2005 Dec;13(4):382-95.
11. - Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2009 Mar;9(3):162-74. doi:10.1038/nri2506.
12. - Larmann J, Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2004 Sep;18(3):425-38.
13. - Elahi MM, Khan JS, Matata BM. Deleterious effects of cardiopulmonary bypass in coronary artery surgery and scientific interpretation of off-pump's logic. *Acute Card Care*. 2006; 8(4):196-209.
14. - Hans Dieter Volk. Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Crit Care*. 2002;6(4):279-281.
15. - Paśnik J. The significance of neutrophil in inflammatory response after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Wiad Lek*. 2007;60(3-4):171-7.
16. - Wijnands KA, Hoeksema MA, Meesters DM, van den Akker NM, Molin DG, Briedé JJ, et al. Arginase-1 Deficiency Regulates Arginine Concentrations and NOS2-Mediated NO Production during Endotoxemia. *PLoS One*. [Journal on line]. 2014; [Cited 2014 Jan 21]; 9(1):e86135. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0086135. eCollection 2014.
17. - Mielczarek-Putna M, Chrzanowska A, Grabón W, Baranczyk-kuzma A. New insights into arginase. Part II. Role in physiology and pathology. *Postepy Hig Med Dosw* [Journal on line]. 2008; [Cited 2008.05.14]; 62:214-21. Available from: [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_62/11581.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11581.pdf).

## BIBLIOGRAFÍA

18. - Markus Munder. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br J Pharmacol.* 2009 Oct; 158(3):638-651. Published online 2009 Sep 25. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00291.x.
19. - Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radic Biol Med.* 2012 Feb 1;52(3):556-92. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.002. Epub 2011 Nov 12.
20. - Horowitz S, Binion DG, Nelson VM, Kanaa Y, Javadi P, Lazarova Z, et al. Increased arginase activity and endothelial dysfunction in human inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007 May;292(5):G1323-36. Epub 2007 Jan 11.
21. - Luyking YC, Poeze M, Ramsay G, Deutz NE. The Role of arginine in infection and sepsis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2005 Jan-Feb;29(1Suppl):S70-4.
22. - Luyking YC, Poeze M, Dejong CH, Ramsay G, Deutz NE. Sepsis: an arginine deficiency state? *Crit Care Med* 2004 Oct;32(10):2135-45.
23. - Waddington SN, Mosley K, Cook HT, Tam FW, Cattel V. Arginase I is upregulated in acute immune complex-induced inflammation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 Jun 9; 247(1):84-7.
24. - Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nat Rev Immunol.* 2004 Dec;4(12):941-52.
25. - Munder M, Schneider H, Luckner C, Giese T, Langhans CD, Fuentes JM, et al. Suppression of T-cell functions by human granulocyte arginase. *Blood.* 2006 Sep 1;108(5):1627-34. Epub 2006 May 18.
26. - Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007 Sep;34(9):906-11.
27. - Ochoa JB, Bernard AC, O'Brien WE, Griffen MM, Maley ME, Rockich AK, et al. Arginase I expression and activity in human mononuclear cells after injury. *Ann Surg.* 2001 Mar;233(3):393-9.

- 28.** - Soeters PB, Hallemeesch MM, Bruins MJ, van Eijk HM, Deutz NE. Quantitative in vivo assessment of arginine utilization and nitric oxide production in endotoxemia. *Am J Surg.* 2002 Apr;183(4):480-8.
- 29.** - Luiking YC, Deutz NE. Exogenous arginine in sepsis. *Crit Care Med.* 2007 Sep;35(9 Suppl):S557-63.
- 30.** -Luiking YC, Engelen MP, Deutz NE. Regulation of nitric oxide production in health and disease.*Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010 Jan;13(1):97-104. doi: 10.1097/MCO.0b013e328332f99d.
- 31.** - Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radic Biol Med.* 2012 Feb 1;52(3):556-92. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.002. Epub 2011 Nov 12.
- 32.** - Predescu D, Predescu S, Shimizu J, Miyawaki-Shimizu K, Malik AB. Constitutive eNOS-derived nitric oxide is a determinant of endothelial junctional integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005 Sep;289(3):L371-81.
- 33.** - Kollef MH, Wragge T, Pasque C. Determinants of mortality and multiorgan dysfunction in cardiac surgery patients requiring prolonged mechanical ventilation. *Chest.* 1995 May;107(5):1395-401.
- 34.** - Martin KA, Faist E. Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Crit Care.* 2002;6(4):298-305.
- 35.** - Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell.* 2009 Sep 8;16(3):183-94. doi: 10.1016/j.ccr.2009.06.017.
- 36.** - Davis JS, Anstey NM. Is plasma arginine concentration decreased in patients with sepsis? A systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2011 Feb;39(2):380-5. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181ffd9f7.
- 37.** - Gough MS, Morgan MA, Mack CM, Darling DC, Frasier LM, Doolin KP, et al. The ratio of arginine to dimethylarginines is reduced and predicts outcomes in patients with severe sepsis. *Crit Care Med.* 2011 Jun;39(6):1351-8. doi:10.1097/CCM.0b013e318212097c.

## BIBLIOGRAFÍA

- 38.** - McBride WT, McBride SJ. The balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in cardiac surgery. *Curr Opin Anaesthesiol.* 1998 Feb;11(1):15-22.
- 39.** - Wan S, Marchant A, DeSmet JM, Antoine M, Zhang H, Vachiere JL, et al. Human cytokine responses to cardiac transplantation and coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996 Feb;111(2):469-77.
- 40.** - Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clin Microbiol Rev.* 2012 Oct;25(4):609-34. doi: 10.1128/CMR.00016-12.
- 41.** - Mangano DT: Effects of acadesine on myocardial infarction, stroke, and death following surgery: A meta-analysis of the 5 international randomized trials. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. *JAMA.* 1997 Jan 22-29;277(4):325-32.
- 661.** - Nashef SA, Roques F, Michel P, Gauducheau E, Lemeshow S, Salamon R. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999 Jul; 16 (1):9-13.
- 42.** - Christenson JT, Aeberhard JM, Badel P, Pepcak F, Maurice J, Simonet F, et al. Adult respiratory distress syndrome after cardiac surgery. *Cardiovasc Surg.* 1996 Feb;4(1):15-21.
- 43.** - Meldrum DR, Donnahoo KK. Role of TNF in mediating renal insufficiency following cardiac surgery: Evidence of a postbypass cardiorenal syndrome. *J Surg Res.* 1999 Aug;85(2):185-99.
- 44.** - Jansen NJ, van Oeveren W, van Vliet M, Stoutenbeek CP, Eysman L, Wildevuur CR. The role of different types of corticosteroids on the inflammatory mediators in cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1991;5(4):211-7.
- 45.** - Davies SW, Duffy JP, Wickens DG, Underwood SM, Hill A, Alladine MF, Feneck RO, Dormandy TL, Walesby RK. Time-course of free radical activity during coronary artery operations with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Jun;105(6):979-87.

- 46.** - Te Velthuis H, Jansen PG, Oudemans-van Straaten HM, Sturk A, Eijnsman L, Wildevuur CR. Myocardial performance in elderly patients after cardiopulmonary bypass is suppressed by tumour necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995 Dec;110(6):1663-9. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995 Dec;110(6):1663-9.
- 47.** - Schirmer WJ, Schirmer JM, Fry DE. Recombinant human tumor necrosis factor produces hemodynamic changes characteristic of sepsis and endotoxemia. *Arch Surg.* 1989 Apr;124(4):445-8.
- 48.** - Edmunds LH. Why cardiopulmonary bypass makes patients sick: strategies to control the blood-synthetic surface interface. In: Karp RB, Laks H, Wechsler AS, editors. *Advances in Cardiac Surgery.* St Louis: MO, Mosby-Yearbook; 1995.P.131-67.
- 49.** - Soulika AM, Khan MM, Hattori T, Bowen FW, Richardson BA, Hack CE, et al. Inhibition of heparin/protamine complex-induced complement activation by Compstatin in baboons. *Clin Immunol.* 2000 Sep;96(3):212-21.
- 50.** - Castellheim A, Brekke OL, Espevik T, Harboe M, Mollnes TE. Innate immune responses to danger signals in systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Scand J Immunol.* 2009 Jun; 69 (6):479-91. doi: 10.1111 /j.1365-3083.2009.02255.x.
- 51.** - Edmunds LH Jr. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 66(5 suppl 1):S12-S16.
- 52.** - George J, Shmuel SB, Roth A, Herz I, Izraelov S, Deutsch V, et al. L - Arg attenuates lymphocyte activation and anti-oxidized LDL antibody levels in patients undergoing angioplasty. *Atherosclerosis.* 2004 Jun;174(2):323-7.
- 53.** - Deng GM, Beltran J, Chen C, Terhorst C, Tsokos GC. T cell CD3 $\zeta$  deficiency enables multiorgan tissue inflammation. *J Immunol.* 2013 Oct 1;191(7):3563-7. doi: 10.4049/jimmunol.1300634.Epub 2013 Aug 26.
- 54.** - Edmunds LH Jr, Colman RW. Thrombin during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2006 Dec;82(6):2315-22.

## BIBLIOGRAFÍA

- 55.** - Khan MM, Hattori T, Niewiarowski S, Edmunds LH Jr , Colman RW. Truncated and microparticles-free soluble tissue factor bound to peripheral monocytes preferentially activate factor VII. *Thromb Haemost.* 2006 Mar;95(3):462-8.
- 56.** - Diamant M, Nieuwland R, Pablo RF, Sturk A, Smit JW, Radder JK. Elevated numbers of tissue factor exposing microparticles correlate with components of the metabolic syndrome in uncomplicated diabetes type 2 mellitus. *Circulation.* 2002 Nov 5;106(19):2442-7.
- 57.** - Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B, Kling D, Roqué M, Fallon JT, et al. GiesenPL, Rauch U, Bohrmann B, et al. Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Mar 2;96(5):2311-5.
- 58.** - Engelmann B. Initiation of coagulation by tissue factor carriers in blood. *Blood Cells Mol Dis.* 2006 Mar-Apr;36(2):188-90.Epub 2006 Feb 13.
- 59.** - Rauch U, Nemerson Y. Circulating tissue factor and thrombosis. *Curr Opin Hematol.* 2000 Sep;7(5):273-7.
- 60.** - Nieuwland R, Berckmans RJ, Rotteveel-Eijkman RC, Maquelin KN, Roozendaal KJ, Jansen PG, et al. Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation.* 1997 Nov 18;96(10):3534-41.
- 61.** - Nijziel M, van Oerle R, van 't Veer C, van Pampus E, Lindhout T, Hamulyák K. Tissue factor activity in human monocytes is regulated by plasma: Implications for the high and low responder phenomenon. *Br J Haematol.* 2001 Jan;112(1):98-104.
- 62.** - Maugeri N, Brambilla M, Camera M, Carbone A, Tremoli E, Donati MB, et al. Human polymorphonuclear leukocytes produce and express functional tissue factor after stimulation. *J Thromb Haemost.* 2006 Jun;4(6):1323-30.
- 63.** - Hattori T, Khan MM, Colman RW, Edmunds LH Jr. Plasma tissue factor plus activated peripheral mononuclear cells activate factors VII and X in cardiac surgical wounds. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Aug 16;46(4):707-13.

- 64.** - Hunt BJ, Parratt RN, Segal HC, Sheikh S, Kallis P, Yacoub M. Activation of coagulation and fibrinolysis during cardiothoracic operations. *Ann Thorac Surg.* 1998 Mar;65(3):712-8.
- 65.** - Arnoletti JP, Whitman GJ. Heparin-induced thrombocytopenia in coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 1999 Aug;68(2):576-8.
- 66.** - Edes TE, Sunderrajan EV. Heparin-induced hyperkalemia. *Arch Intern Med.* 1985;145(6):1070-1072. doi:10.1001/archinte.1985.00360060134021.
- 67.** - Philippou H, Adami A, Davidson SJ, Pepper JR, Burman JF, Lane DA. Tissue factor is rapidly elevated in plasma collected from the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost.* 2000 Jul;84(1):124-8.
- 68.** - Philippou H, Davidson SJ, Mole MT, Pepper JR, Burman JF, Lane DA, et al. Two-chain factor VIIa generated in the pericardium during surgery with cardiopulmonary bypass: Relationship to increased thrombin generation and heparin concentration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Feb;19(2):248-54.
- 69.** - Warkentin TE, Greinacher A, Koster A. Bivalirudin. *Thromb Haemost.* 2008 May;99(5):830-9. doi:10.1160/TH07-10-0644.
- 70.** -Warkentin TE. Anticoagulation for cardiopulmonary bypass: Is a replacement for heparin on the horizon? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006 Mar;131(3):515-6.
- 71.** – Walport MJ.Complement.Second of two parts. *N Engl J Med.* 2001 Apr 12;344(15):1140-4.
- 72.** - Walport MJ.Complement.First of two parts. *N Engl J Med.* 2001 Apr 5;344(14):1058-66.
- 73.** - Day JR, Taylor KM.The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg.* 2005;3(2):129-40.Epub 2005 Aug 1.
- 74.** - Carr JA, Silverman N. The heparin-protamine interaction.A review. *J Cardiovasc Surg.* 1999 Oct;40(5):659-66.



- 75.** - Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. The inflammatory response to extracorporeal circulation: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chestonline* [journal on line]. 1997; [cited 2015 Feb 10];112:676-92. Available from: <http://chestjournal.chestpubs.org/content/112/3/676>.
- 76.** - Downing SW, Edmunds LH Jr. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1992 Dec;54(6):1236-43.
- 77.** - Chenoweth DE, Hugli TE. Demonstration of specific C5a receptor on intact human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978 Aug;75(8):3943-7.
- 78.** - Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: The role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7(11):563-73.
- 79.** - Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983 Dec; 86 (6): 845-57.
- 80.** - Shastri KA, Logue GL, Stern MP, Rehman S, Raza S. Complement activation by heparin-protamine complexes during cardiopulmonary bypass: Effect of C4A null allele. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997 Sep;114(3):482-8.
- 81.** - Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Faymonville ML, Messmer BJ, Buro-Rathsmann K, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children: Relation to postoperative multiple system organ failure. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Dec;106(6):978-87.
- 82.** - Bruins P, te Velthuis H, Eerenberg-Belmer AJ, Yazdanbakhsh AP, de Beaumont EM, Eijssman L, et al. Heparin-protamine complexes and C-reactive protein induce activation of the classical complement pathway: Studies in patients undergoing cardiac surgery and in vitro. *Thromb Haemost.* 2000 Aug;84(2):237-43.
- 83.** - Bruins P, te Velthuis H, Yazdanbakhsh AP, Jansen PG, van Hardevelt FW, de Beaumont EM, et al. Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: Postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia. *Circulation.* 1997 Nov 18;96(10):3542-8.

- 84.** - Ranucci M, Mazzucco A, Pessotto R, Grillone G, Casati V, Porreca L, et al. Heparin-coated circuits for high-risk patients: A multicenter, prospective, randomized trial. *Ann Thorac Surg.* 1999 Apr;67(4):994-1000.
- 85.** - Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, et al. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1999 Dec 21-28;100(25):2499-506.
- 86.** - Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, et al. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. *Chest.* 1995 Apr;107(4):1062-73.
- 87.** - Sablotzki A, Mann V, Simm A, Czeslick E. Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2001 Sep;36(9):552-9.
- 88.** - Hauser GJ, Ben-Ari J, Colvin MP, Dalton HJ, Hertzog JH, Bearb M, et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med.* 1998 May;24(5):481-6.
- 89.** - Jongman RM, Zijlstra JG, Kok WF, van Harten AE, Mariani MA, Moser J, et al. Off-Pump CABG Surgery Reduces Systemic Inflammation Compared With On-Pump Surgery but Does Not Change Systemic Endothelial Responses: A Prospective Randomized Study. *Shock.* August 2014; 42(2); 121-128. doi: 10.1097/SHK.0000000000000190.
- 90.** - Sandison A, Evans TW. NObel laurels, but where is the therapeutic advance? *Anaesthesia.* 1999 May;54(5):411-2.
- 91.** - Hammon JWJr, Vinten-Johansen J. Augmentation of microvascular nitric oxide improves myocardial performance following global ischemia. *J Card Surg.* 1995 Jul;10(4 Suppl):423-7.

- 92.** - Lanzarone E, Gelmini F, Fumero A, Carini M, Costantino ML, Fumero R, et al. Preservation of endothelium nitric oxide release during beating heart surgery with respect to continuous flow cardiopulmonary bypass. *Perfusion*. 2010 Mar;25(2):57-64. doi: 10.1177/0267659110364442. Epub 2010 Mar 1.
- 93.** - Redington AE. Modulation of nitric oxide pathways: therapeutic potential in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Pharmacol*. 2006 Mar 8;533(1-3):263-76. Epub 2006 Feb 7.
- 94.** - Que LG, George SE, Gotoh T, Mori M, Huang YC. Effects of arginase isoforms on NO production by nNOS. *Nitric Oxide*. 2002 Feb;6(1):1-8.
- 95.** - Elliott MJ, Finn AHR. Interaction between neutrophils and the endothelium. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 1503-8.
- 96.** - Behr-Roussel D, Rupin A, Sansilvestri-Morel P, Fabiani JN, Verbeuren TJ. Histochemical evidence for inducible nitric oxide synthase in advanced but non-ruptured human atherosclerotic carotid arteries. *Histochem J*. 2000 Jan;32(1):41-51.
- 97.** - Perrotta I, Brunelli E, Sciangula A, Zuccalà V, Donato G, Tripepi S, et al. Inducible and endothelial nitric oxide synthase expression in human atherogenesis: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Cardiovasc Pathol*. 2009 Nov-Dec;18(6):361-8. doi: 10.1016/j.carpath.2008.08.005. Epub 2008 Oct 1.
- 98.** - Matthys KE, Bult H. Nitric oxide function in atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 1997;6(1):3-21.
- 99.** - Tenu JP, Lepoivre M, Moali C, Brollo M, Mansuy D, Boucher JL. Effects of the new arginase inhibitor N (omega)-hydroxy-nor-L - Arginine on NOS synthase activity in murine macrophages. *Nitric Oxide*. 1999 Dec;3(6):427-38.
- 100.** - Bhagat K, Hingorani AD, Palacios M, Charles IG, Vallance P. Cytokine-induced venodilatation in humans in vivo: eNOS masquerading as iNOS. *Cardiovasc Res*. 1999 Mar;41(3):754-64.
- 101.** - Evans T, Carpenter A, Kinderman H, Cohen J. Evidence of increased nitric oxide production in patients with the sepsis syndrome. *Circ Shock*. 1993, Oct; 41(2):77-81.

- 102.** - Walker JB, Nesheim ME. The molecular weights, mass distribution, chain composition, and structure of soluble fibrin degradation products released from a fibrin clotperfused with plasmin. *J Biol Chem.* 1999 Feb 19;274(8):5201-12.
- 103.** - Stibbe J, Kluft C, Brommer EJ, Gomes M, de Jong DS, Nauta J. Enhanced fibrinolytic activity during cardiopulmonary bypass in open-heart surgery in man is caused by extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. *Eur J Clin Invest.* 1984 Oct;14(5):375-82.
- 104.** - Khalil PN, Ismail M, Kalmar P, von Knobelsdorff G, Marx G. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity after cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost.* 2004 Sep;92(3):568-74.
- 105.** - Tabuchi N, de Haan J, Boonstra PW, van Oeveren W. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Nov;106(5):828-33.
- 106.** - Levin EG, Santell L. Stimulation and desensitization of tissue plasminogen activator release from human endothelial cells. *J Biol Chem.* 1988 Jul 5;263(19):9360-5.
- 107.** - Gram J, Janetzko T, Jespersen J, Bruhn HD. Enhanced effective fibrinolysis following the neutralization of heparin in open-heart surgery increases the risk of postsurgical haemorrhage. *Thromb Haemost.* 1990 Apr 12;63(2):241-5.
- 108.** - Beghetti M, Silkoff PE, Caramori M, Holtby HM, Slutsky AS, Adatia I. Decreased exhaled nitric oxide may be a marker of cardiopulmonary bypass-induced injury. *Ann Thorac Surg.* 1998 Aug;66(2):532-4.
- 109.** - Cardigan RA, Mackie IJ, MachinSJ. Hemostatic-endothelial interactions: A potential anticoagulant role of the endothelium in the pulmonary circulation during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997 May;11(3):329-36.
- 110.** - Ranucci M. The endothelial function in cardiac surgery. *Minerva Anesthesiol.* 2006 Jun;72(6):503-6.
- 111.** - Kinlay S, Ganz P. Relation between endothelial dysfunction and the acute coronary syndrome: implications for therapy. *Am J Cardiol.* 2000 Oct 19;86(8B):10J-13J; discussion 13J-14J.

## BIBLIOGRAFÍA

- 112.** - Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M, et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation*. 2000 Aug 29;102(9):994-9.
- 113.** - Gimbrone MA Jr, Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardena G. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 May;902:230-9; discussion 239-40.
- 114.** - Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia: Mechanisms, pathophysiological importance, and therapeutic interventions. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(5):529-37.
- 115.** - Butler J, Parker D, Pillai R, Westaby S, Shale DJ, Rocker GM. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Jan;105(1):25-30.
- 116.** - Asimakopoulos G. Mechanisms of the systemic inflammatory response. *Perfusion*. 1999 Jul;14(4):269-77.
- 117.** - Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001 Jun;94(6):1133-8.
- 118.** - Ratliff NB, Young WG Jr, Hackel DB, Mikat E, Wilson JW. Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation. An ultrastructural study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1973 Mar;65(3):425-32.
- 119.** - Ng CS, Wan S, Arifi AA, Yim AP. Inflammatory response to pulmonary ischemia-reperfusion injury. *Surg Today*. 2006;36(3):205-14.
- 120.** - Clark SC. Lung injury after cardiopulmonary bypass. *Perfusion*. 2006 Jul;21(4):225-8.
- 121.** - Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2004 Feb 15;61(3):481-97.
- 122.** - Warren O, Alexiou C, Massey R, Leff D, Purkayastha S, Kinross J, et al. The effects of various leukocyte filtration strategies in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007 Apr;31(4):665-76. Epub 2007 Jan 19.

- 123.** - Wakayama F, Fukuda I, Suzuki Y, Kondo N. Neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, attenuates acute lung injury after cardiopulmonary bypass in the rabbit endotoxemia model. *Ann Thorac Surg.* 2007 Jan;83(1):153-60.
- 124.** - Ando M, Murai T, Takahashi Y. The effect of sivelestat sodium on postcardiopulmonary bypass acute lung injury in a neonatal piglet model. *Interact CardioVasc Thorac Surg.* 2008 Jul 2. [Epub ahead of print]. Available from <http://dx.doi.org/10.1510/icvts.2008.177576>.
- 125.** - Chung JH, Gikakis N, Rao AK, Drake TA, Colman RW, Edmunds LH Jr. Pericardial blood activates the extrinsic coagulation pathway during cardiopulmonary bypass clinical. *Circulation.* 1996 Jun 1;93(11):2014-8.
- 126.** - Weerasinghe A, Athanasiou T, Philippidis P, Day J, Mandal K, Warren O, et al. Platelet- monocyte procoagulant interactions in on-pump coronary surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006 Mar;29(3):312-8.Epub 2006 Jan 19.
- 127.** - DePalma L, Yu M, McIntosh CL, Swain JA, Davey RJ. Changes in lymphocyte subpopulations as a result of cardiopulmonary bypass.The effect of blood transfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991 Feb;101(2):240-4.
- 128.** - Roth JA, Golub SH, Cukingnan RA, Brazier J, Morton DL. Cell-mediated immunity is depressed following cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1981 Apr;31(4):350-6.
- 129.** - Despotis GJ, Goodnough LT. Management approaches to platelet-related microvascular bleeding in cardiothoracic surgery. *Ann Thorac Surg.* 2000 Aug;70(2 Suppl):S20-32.
- 130.** - Tonz M, Mihaljevic T, von Segesser LK, Fehr J, Schmid ER, Turina MI. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass: Are the neutrophils responsible? *Chest.* 1995 Dec;108(6):1551-6.
- 131.** - Kawahito K, Kobayashi E, Ohmori M, Harada K, Kitoh Y, Fujimura A, et al. Enhanced responsiveness of circulatory neutrophils after cardiopulmonary bypass: Increased aggregability and superoxide producing capacity. *Artif Organs.* 2000 Jan;24(1):37-42.

- 132.** - Franke A, Lante W, Kurig E, Zöller LG, Weinhold C, Markewitz A. Hyporesponsiveness of T cell subsets after cardiac surgery: a product of altered cell function or merely a result of absolute cell count changes in peripheral blood? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006 Jul;30(1):64-71.Epub 2006 May 26.
- 133.** - Partrick DA, Moore EE, Fullerton DA, Barnett CC Jr, Meldrum DR, Silliman CC. Cardiopulmonary bypass renders patients at risk for multiple organ failure via early neutrophil priming and late neutrophil disability. *J Surg Res.* 1999 Sep;86(1):42-9.
- 134.** - Ratliff NB, Young WG Jr, Hackel DB, Mikat E, Wilson JW. Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation: An ultrastructural study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1973 Mar;65(3):425-32.
- 135.** - Abdel-Rahman U, Margraf S, Aybek T, Lögters T, Bitu-Moreno J, Francischetti I, et al. Inhibition of neutrophil activity improves cardiac function after cardiopulmonary bypass. *J Inflamm (Lond).* 2007 Oct 10;4:21.
- 136.** - Rossi M, Sganga G, Mazzone M, Valenza V, Guarneri S, Portale G, et al. Cardiopulmonary bypass in man: Role of the intestine in a self-limiting inflammatory response with demonstrable bacterial translocation. *Ann Thorac Surg.* 2004 Feb;77(2):612-8.
- 137.** - Krishnadasam B, Griscavage-Ennis J, Aldea GS, Verrier ED. Reperfusion injury during cardiopulmonary bypass. In: Matheis G, Moritz, Scholz M, editors. *Leukocyte depletion in cardiac surgery and cardiology.* Switzerland: Karger AG Basel; 2002, p. 54-77.
- 138.** - Verma S, Badiwala MV, Weisel RD, Li SH, Wang CH, Fedak PW, et al. C-reactive protein activates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathway in saphenous vein endothelial cells: implications for atherosclerosis and restenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Dec;126(6):1886-91.
- 139.** - Opal SM. The host response to endotoxin, antilipopolysaccharide strategies, and the management of severe sepsis. *Int J Med Microbiol.* 2007 Sep;297(5):365-77.Epub 2007 Apr 23.

- 140.** - Aydin NB, Gercekoglu H, Aksu B, Ozkul V, Sener T, Kiygil I, et al. Endotoxemia in coronary artery bypass surgery: A comparison of the off-pump technique and conventional. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Apr;125(4):843-8.
- 141.** - Nicolini F, Agostinelli A, Vezzani A, Manca T, Benassi F, Molardi A, et al. The evolution of cardiovascular surgery in elderly patient: a review of current options and outcomes. *Biomed Res Int.* 2014;2014:736298. doi:10.1155/2014/736298. Epub 2014 Apr 10.
- 142.** - Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1996 Jul;62(1):184-90.
- 143.** - Marty JC, Bendhadra S, Amoureux S, Guiland JC, Vergely C, Rochette L, et al. Oxidative stress is exacerbated in diabetic patients during cardiopulmonary bypass. *Ann Cardiol Angiol (Paris).* 2008 Jun; 57(3):155-60. doi:10.1016/j.ancard.2008.02.017. Epub 2008 Jun 4.
- 144.** - Reich DL, Bodian CA, Krol M, Kuroda M, Osinski T, Thys DM. Intraoperative hemodynamic predictors of mortality, stroke, and myocardial infarction after coronary artery bypass surgery. *Anesth Analg.* 1999 Oct;89(4):814-22.
- 145.** - Rady MY, Ryan T, Starr NJ. Perioperative determinants of morbidity and mortality in elderly patients undergoing cardiac surgery. *Crit Care Med.* 1998 Feb;26(2):225-35.
- 146.** - Nugent WC. Innovative uses of a cardiothoracic database. *Ann Thorac Surg.* 1999 Aug;68(2):359-61; discussion 374-6.
- 147.** - Turnage RH, Wright JK, Iglesias J, LaNoue JL, Nguyen H, Kim L, et al. Intestinal reperfusion-induced pulmonary edema is related to increased pulmonary inducible nitric oxide synthase activity. *Surgery.* 1998 Aug;124(2):457-62; discussion 462-3.
- 148.** - Gutierrez G, Palizas F, Doglio G, Wainsztein N, Gallesio A, Pacin J, et al. Gastric intramucosal pH as a therapeutic index of tissue oxygenation in critically ill patients. *Lancet.* 1992 Jan 25;339(8787):195-9.



- 149.** - Palizas F1, Dubin A, Regueira T, Bruhn A, Knobel E, Lazzeri S, et al. Gastric tonometry versus cardiac index as resuscitation goals in septic shock: a multicenter, randomized, controlled trial. *Crit Care*. 2009; 13(2):R44. doi:10.1186/cc7767.Epub 2009 Mar 31.
- 150.** - Uusaro A, Ruokonen E, Takala J. Splanchnic oxygen transport after cardiac surgery: Evidence for inadequate tissue perfusion after stabilization of hemodynamics. *Intensive Care Med*. 1996 Jan;22(1):26-33.
- 151.** - Bennett-Guerrero E, Panah MH, Bodian CA, Methikalam BJ, Alfarone JR, DePerio M, et al. Automated detection of gastric luminal partial pressure of carbon dioxide during cardiovascular surgery using the Tonocap. *Anesthesiology*. 2000 Jan;92(1):38-45.
- 152.** - Svircevic V, Passier MM, Nierich AP, van Dijk D, Kalkman CJ, van der Heijden GJ. Epidural analgesia for cardiac surgery. [Cochrane Database Syst Rev]. Netherlands: Cochrane AnaesthesiaGroup; 2013Jun6. Available from: [Http://www.thecochranelibrary.com](http://www.thecochranelibrary.com). Issue 6:CD006715.doi:10.1002/14651858.CD006715.pub2.
- 153.** - Palomero RMA, Suarez GL, Villar F, Varela CC, Moreno GLI, Criado JA. Thoracic epidural anesthesia decreases C-reactive protein levels in patients undergoing elective coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Minerva Anesthesiol*. 2008 Nov; 74(11):619-26.
- 154.** - Muller H, Hugel W, Reifschneider HJ, Horpacsy G, Hannekum A, Dalichau H. Lysosomal enzyme activity influenced by various types of respiration during extracorporeal circulation. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1989 Apr;37(2):65-71.
- 155.** - Oczenski W, Schwarz S, Fitzgerald RD. Vital capacity manoeuvre in general anaesthesia: useful or useless? *Eur J Anaesthesiol*. 2004 Apr; 21(4):253-9.
- 156.** - Gilliland HE, Armstrong MA, Carabine U, McMurray TJ. The choice of anesthetic maintenance technique influences the antiinflammatory cytokine response to abdominal surgery. *Anesth Analg*. 1997 Dec;85(6):1394-8.

- 157.** - Galley HF, Dubbels AM, Webster NR. The effect of midazolam and propofol on interleukin-8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg.* 1998 Jun;86(6):1289-93.
- 158.** - Ke JJ, Zhan J, Feng XB, Wu Y, Rao Y, Wang YL. A comparison of the effect of total intravenous anaesthesia with propofol and remifentanyl and inhalational anaesthesia with isoflurane on the release of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing open cholecystectomy. *Anaesth Intensive Care.* 2008 Jan;36(1):74-8.
- 159.** - Frohlich D, Rothe G, Schwall B, Schmitz G, Hobbhahn J, Taeger K. Thiopentone and propofol, but not methohexitone nor midazolam, inhibit neutrophil oxidative responses to the bacterial peptide FMLP. *Eur J Anaesthesiol.* 1996 Nov;13(6):582-8.
- 160.** - Skoutelis A, Lianou P, Papageorgiou E, Kokkinis K, Alexopoulos K, Bassaris H. Effects of propofol and thiopentone on polymorphonuclear leukocyte functions in vitro. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1994 Nov;38(8):858-62.
- 161.** - Zilberstein G, Levy R, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, et al. Ketamine attenuates neutrophil activation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 2002 Sep;95(3):531-6.
- 162.** - Roytblat L, Talmor D, Rachinsky M, Greemberg L, Pekar A, Appelbaum A, et al. Ketamine attenuates the interleukin-6 response after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 1998 Aug;87(2):266-71.
- 163.** - Makman MH, Bilfinger TV, Stefano GB. Human granulocytes contain an opiate alkaloid-selective receptor mediating inhibition of cytokine-induced activation and chemotaxis. *J Immunol.* 1995 Feb 1;154(3):1323-30.
- 164.** - Marcoli M, Ricevuti G, Mazzone A, Bekkering M, Lecchini S, Frigo GM. Opioid-induced modification of granulocyte function. *Int J Immunopharmacol.* 1988;10(4):425-33.
- 165.** - Murphy GS, Szokol JW, Marymont JH, Avram MJ, Vender JS. The effects of morphine and fentanyl on the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in patients undergoing elective coronary artery bypass graft surgery. *Anesth Analg.* 2007 Jun; 104(6):1334-1342. doi:10.1213/01.ane.0000264108.47280.f5.

- 166.** - Welters ID, Menzebach A, Goumon Y, Langefeld TW, Teschemacher H, Hempelmann G, et al. Morphine suppresses complement receptor expression, phagocytosis, and respiratory burst in neutrophils by a nitric oxide and mu (3) opiate receptor-dependent mechanism. *J Neuroimmunol.* 2000 Nov;111(1-2):139-45.
- 167.** - McBride WT, Armstrong MA, McMurray TJ. An investigation of the effects of heparin, low molecular weight heparin, protamine, and fentanyl on the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in in-vitro monocyte cultures. *Anaesthesia.* 1996 Jul;51(7):634-40.
- 168.** - Raja SG, Berg GA. Impact of off-pump coronary artery bypass surgery on systemic inflammation: current best available evidence. *J Card Surg.* 2007 Sep-Oct; 22(5):445-55.
- 169.** - Ng CS, Wan S. Limiting inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pharmaceutical strategies. *Curr Opin Pharmacol.* 2012 Apr; 12 (2): 155-9. doi: 10.1016/j.coph.2012.01.007. Epub 2012 02 de febrero.
- 170.** - Wan S, LeClerc JL, Huynh CH, Schmartz D, DeSmet JM, Yim AP, et al. Does steroid pretreatment increase endotoxin release during clinical cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999 May;117(5):1004-8.
- 171.** - Dernek S, Tunerir B, Sevin B, Aslan R, Uyguc O, Kural T. The effects of methylprednisolone on complement, immunoglobulins and pulmonary neutrophil sequestration during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Surg.* 1999 Jun;7(4):414-8.
- 172.** - Kawamura T, Inada K, Nara N, Wakusawa R, Endo S. Influence of methylprednisolone on cytokine balance during cardiac surgery. *Crit Care Med.* 1999 Mar;27(3):545-8.
- 173.** - Morris SM Jr. Arginine metabolism in vascular biology and disease. *Vasc Med.* 2005 Jul;10 Suppl 1:S83-7.
- 174.** - Hill GE, Alonso A, Spurzem JR, Stammers AH, Robbins RA. Aprotinin and methylprednisolone equally blunt cardiopulmonary bypass induced inflammation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995 Dec;110(6):1658-62.

- 175.** -Tassani P, Richter JA, Barankay A, Braun SL, Haehnel C, Spaeth P, et al. Does high-dose methylprednisolone in aprotinin-treated patients attenuate the systemic inflammatory response during coronary artery bypass grafting procedures? *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1999 Apr;13(2):165-72.
- 176.** - Yilmaz M, Ener S, Akalin H, Sagdic K, Serdar OA, Cengiz M. Effect of low-dose methyl prednisolone on serum cytokine levels following extracorporeal circulation. *Perfusion.* 1999 May;14(3):201-6.
- 177.** - Halonen J, Hartikainen J, Hakala T. Use of corticosteroids to prevent atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA.* 2007 Jul 3;298(3):283-284. doi:10.1001/jama.298.3.283-c.
- 178.** - Morariu AM, Loef BG, Aarts LP, Rietman GW, Rakhorst G, van Oeveren W, et al. Dexamethasone: benefit and prejudice for patients undergoing on-pump coronary artery bypass grafting: A study on myocardial, pulmonary, renal, intestinal and hepatic injury. *Chest.* 2005 Oct;128(4):2677-87.
- 179.** - Peter JV, John P, Graham PL, Moran JL, George IA, Bersten A. Corticosteroids in the prevention and treatment of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in adults: meta-analysis. *BMJ.* 2008 May 3; 336(7651):1006-1009. Published online 2008 Apr 23. doi: 10.1136/bmj.39537.939039.BE.
- 180.** - Moran JL, Graham PL, Rockliff S, Bersten AD. Updating the evidence for the role of corticosteroids in severe sepsis and septic shock: a Bayesian meta-analytic perspective. *Crit Care.* 2010;14(4):R134. doi:10.1186/cc9182. Epub 2010 Jul 13.
- 181.** - Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Confalonieri M, De Gaudio R, et al. Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA.* 2009 Jun 10; 301(22):2362-75. doi:10.1001/jama.2009.815.
- 182.** - Minneci PC, Deans KJ, Eichacker PQ, Natanson C. The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2009 Apr; 15 (4):308-18. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02752.x.
- 183.** - Chaney MA. Corticosteroids and cardiopulmonary bypass: a review of clinical investigations. *Chest.* 2002Mar;121(3):921-31.

## BIBLIOGRAFÍA

- 184.** - Sprung CL, Caralais PV, Marcial EH, Pierce M, Gelbard MA, Long WM, et al. The effects of high dose corticosteroids in patients with septic shock. A prospective, controlled study. *N Engl J Med.* 1984 Nov 1;311(18):1137-43.
- 185.** - Robertson-Malt S, Afrane B, El Barbary M. Prophylactic steroids for pediatric open heart surgery. [Cochrane Database Syst Rev.]. Riyadh, Saudi Arabia: Cochrane Heart Group; 2007 Oct 17. Available from: <http://www.thecochranelibrary.com> Issue 4: CD005550. DOI: 10.1002/14651858.CD005550.pub2.
- 186.** - Augoustides JG. The Inflammatory Response to Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass: Should Steroid Prophylaxis Be Routine? *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2012 Oct;26(5):952-8. doi:10.1053/j.jvca.2012.05.001. Epub 2012 Jul 4.
- 187.** - Martinez-Comendador JM, Alvarez JR, Mosquera I, Sierra J, Adrio B, Carro JG, et al. Preoperative statin treatment reduces systemic inflammatory response and myocardial damage in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009 Dec;36(6):998-1005. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.05.022. Epub 2009 Jul 5.
- 188.** - Zhou Q, Wang G, Gao C, Chen T. Effect of ulinastatin on perioperative inflammatory response to coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2010 Feb;35(2):107-10. doi:10.3969/j.issn.1672-7347.2010.02.003.
- 189.** - Dereli Y, Ege E, Kurban S, Narin C, Sarigul A, Yeniterzi M. Preoperative atorvastatin therapy to decrease the systemic inflammatory response after coronary artery bypass grafting. *J Int Med Res.* 2008 Nov-Dec;36(6):1248-54.
- 190.** - Adhiyaman V, Asghar M, Oke A, White AD, Shah IU. Nephrotoxicity in the elderly due to co-prescription of enzyme angiotensin converting inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J R Soc Med.* 2001;94(10):512-514.
- 191.** - Alamanni F, Parolari A, Zanobini M, Porqueddu M, Dainese L, Bertera A, et al. Centrifugal pump and reduction of neurological risk in adult cardiac surgery. *J Extra Corpor Technol.* 2001 Feb;33(1):4-9.

- 192.** - Shann KG, Likosky DS, Murkin JM, Baker RA, Baribeau YR, DeFoe GR, et al. An evidence-based review of the practice of cardiopulmonary bypass in adults: A focus on neurologic injury, glycemic control, hemodilution, and the inflammatory response. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006 Aug;132(2):283-90.
- 193.** - Moen O, Hogasen K, Fosse E, Dregelid E, Brockmeier V, Venge P, et al. Attenuation of changes in leukocyte surface markers and complement activation with heparin-coated cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1997 Jan;63(1):105-11.
- 194.** - Mongero LB, Beck JR, Manspeizer HE, Heyer EJ, Lee K, Spanier TA, et al. Cardiac surgical patients exposed to heparin-bonded circuits develop less postoperative cerebral dysfunction than patients exposed to non-heparin-bonded circuits. *Perfusion.* 2001 Mar;16(2):107-11.
- 195.** - Sohn N, Marcoux J, Mycyk T, Krahn J, Meng Q. The impact of different biocompatible coated cardiopulmonary bypass circuits on inflammatory response and oxidative stress. *Perfusion.* 2009 Jul;24(4):231-7. doi:10.1177/0267659109351218. Epub 2009 Oct 26.
- 196.** - Bayram H, Erer D, Iriz E, Zor MH, Gulbahar O, Ozdogan ME. Comparison of the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass, non-pulsatile cardiopulmonary bypass and off-pump coronary artery bypass grafting on the inflammatory response and S-100 betaprotein. *Perfusion.* 2012 Jan;27(1):56-64. doi:10.1177/0267659111424639. Epub 2011 Oct 14.
- 197.** - Raja SG, Berg GA. Impact of off-pump coronary artery bypass surgery on systemic inflammation: Current best available evidence. *J Card Surg.* 2007 Sep-Oct;22(5):445-55.
- 198.** - Apostolakis EE, Koletsis EN, Baikoussis NG, Siminelakis SN, Papadopoulos G. Strategies to prevent intraoperative lung injury during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Surg.* 2010 Jan 11;5:1. doi: 10.1186/1749-8090-5-1.
- 199.** - Ugaki S, Honjo O, Kotani Y, Nakakura M, Douguchi T, Oshima Y, et al. Ultrafiltration of priming blood before cardiopulmonary bypass attenuates inflammatory response and maintains cardiopulmonary function in neonatal piglets. *ASAIO J.* 2009 May-Jun;55(3):291-5. doi: 10.1097/MAT.0b013e31819b00c2.

- 200.** - Engoren MC, Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg.* 2002 Oct;74(4):1180-6.
- 201.** - Silliman CC, Boshkov LK, Mehdizadehkashi Z, Elzi DJ, Dickey WO, Podlosky L, et al. Transfusion-related acute lung injury: Epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors. *Blood.* 2003 Jan 15;101(2):454-462. Doi: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2002-03-0958>.
- 202.** - Ferraris VA, Ferraris SP, Saha SP, Hessel EA 2nd, Haan CK, Royston BD, et al. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: The Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline. *Ann Thorac Surg.* 2007 May;83(5 Suppl):S27-86.
- 203.** - Karkouti K, Beattie WS, Wijeyesundera DN, Rao V, Chan C, Dattilo KM, et al. Hemodilution during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for acute renal failure in adult cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005 Feb; 129(2):391-400.
- 204.** - Mathew JP, Mackensen GB, Phillips-Bute B, Stafford-Smith M, Podgoreanu MV, Grocott HP, et al. Effects of extreme hemodilution during cardiac surgery on cognitive function in the elderly. *Anesthesiology.* 2007 Oct;107(4):577-84.
- 205.** - Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ, Shah A, et al. Adverse effects of low hematocrit during cardiopulmonary bypass in the adult: Should current practice be changed? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Jun;125(6):1438-50.
- 206.** - Kiziltepe U1, Uysalel A, Corapcioglu T, Dalva K, Akan H, Akalin H. Effects of combined conventional and modified ultrafiltration in adult patients. *Ann Thorac Surg.* 2001 Feb;71(2):684-93.
- 207.** - Boga M, Islamoglu, Badak I, Cikirikçioğlu M, Bakalim T, Yağdı T, et al. The effects of modified hemofiltration on inflammatory mediators and cardiac performance in coronary artery bypass grafting. *Perfusión.* 2000 Mar;15(2):143-50.
- 208.** - Aggarwal NK, Das SN, Sharma G, Kiran U. Efficacy of combined modified and conventional ultrafiltration during cardiac surgery in children. *Ann Card Anaesth.* 2007 Jan;10(1):27-33.

- 209.** - Sever K, Tansel T, Basaran M, Kafali E, Ugurlucan M, Ali Sayin O, Alpagut U, Dayioglu E, Onursal E. The benefits of continuous ultrafiltration in pediatric cardiac surgery. *Scand Cardiovasc J.* 2004 Oct; 38(5):307-11.
- 210.** - Kuntz RA, Holt DW, Turner S, Stichka L, Thacker B. Effects of conventional ultrafiltration on renal performance during adult cardiopulmonary bypass procedures. *J Extra Corpor Technol.* 2006 Jun;38(2):144-53.
- 211.** - Luciani GB, Menon T, Vecchi B, Auriemma S, Mazzucco A. Modified ultrafiltration reduces morbidity after adult cardiac operations: A prospective, randomized clinical trial. *Circulation.* 2001 Sep 18;104(12 Suppl 1):I253-9.
- 212.** - Onoe M, Magara T, Yamamoto Y, Nojima T. Modified ultrafiltration removes serum interleukin-8 in adult cardiac surgery. *Perfusion.* 2001 Jan;16(1):37-42.
- 213.** - Boodhwani M, Williams K, Babaev A, Gill G, Saleem N, Rubens. Ultrafiltration reduces blood transfusions following cardiac surgery: A meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006 Dec;30(6):892-7. Epub 2006 Oct 13.
- 214.** - Williams GD, Ramamoorthy C, L Chu, Hammer GB, Kamra K, Boltz MG, et al. Modified and conventional ultrafiltration during pediatric cardiac surgery: Clinical outcomes compared. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006 Dec;132(6):1291-8.
- 215.** Chew MS. Does modified ultrafiltration reduce the systemic inflammatory response to cardiac surgery with cardiopulmonary bypass? *Perfusion.* 2004;19Suppl1:S57-60.
- 216.** - Maluf MA. Modified ultrafiltration in surgical correction of congenital heart disease with cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2003 Mar;18Suppl1:61-8.
- 217.** - Gaynor JW. The effect of modified ultrafiltration on the postoperative course in patients with congenital heart disease. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2003; 6:128-139.
- 218.** - Markewitz A, Faist E, Lang S, Hültner L, Weinhold C, Reichart B. An imbalance in T-helper cell subsets alters immune response after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1996;10(1):61-7.



- 219.** - Brody JI, Pickering NJ, Fink GB, Behr ED. (1987). Altered lymphocyte subsets during cardiopulmonary bypass. *Am J Clin Pathol.* 1987 May;87(5):626-8.
- 220.** - De Angeli S, Paccagnella A, Mordacchini M, Frugoni C, Zanardo G, Turolla L, et al. The effects of prolonged cardiopulmonary bypass on cell-mediated immunity. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1994 Feb; 42(1):14-20.
- 221.** - Hisatomi K, Isomura T, Kawara T, Yamashita M, Hirano A, Yoshida H, et al. Changes in lymphocyte subsets, mitogen responsiveness, and interleukin-2 production after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989 Oct; 98(4):580-91.
- 222.** - Markewitz A, Faist E, Lang S, Endres S, Fuchs D, Reichart B. Successful restoration of cell-mediated immune response after cardiopulmonary by-pass by immunomodulation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Jan;105(1):15-24.
- 223.** - Nguyen DM, Mulder DS, Shennib H. Effect of cardiopulmonary bypass on circulating lymphocyte function. *Ann Thorac Surg.* 1992 Apr;53(4):611-6.
- 224.** - Boeken U, Feindt P, Zimmermann N, Kalweit G, Petzold T, Gams E. Increased preoperative C-reactive protein (CRP)-values without signs of an infection and complicated course after cardiopulmonary bypass (CPB)-operations. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1998 May;13(5):541-5.
- 225.** - Nathoe HM, van Dijk D, Jansen EW, Suyker WJ, Diephuis JC, van Boven WJ, et al. A comparison of on-pump and off-pump coronary bypass surgery in low-risk patients. *N Engl J Med.* 2003 Jan 30;348(5):394-402.
- 226.** - Straka Z, Widimsky P, Jirasek K, Stros P, Votava J, Vanek T, et al. Off-pump versus on-pump coronary surgery: Final results from a prospective randomized study PRAGUE-4. *Ann Thorac Surg.* 2004 Mar;77(3):789-93.
- 227.** - Cheng DC, Bainbridge D, Martin JE, Novick RJ; Does off-pump coronary artery bypass reduce mortality, morbidity, and resource utilization when compared with conventional coronary artery by-pass? A meta-analysis of randomized trials. *Anesthesiology.* 2005 Jan;102(1):188-203.

- 228.** - Lee JD, Lee SJ, Tsushima WT, Yamauchi H, Lau WT, Popper J, et al. Benefits of off-pump bypass on neurologic and clinical morbidity: A prospective randomized trial. *Ann Thorac Surg.* 2003 Jul;76(1):18-25.
- 229.** - Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg.* 2005;3(2):129-40. Epub 2005 Aug 1.
- 230.** - Matata BM, Sosnowski AW, Galinanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg.* 2000 Mar;69(3):785-91.
- 231.** - Diegeler A, Doll N, Rauch T, Haberer D, Walther T, Falk V, Gummert J, et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: A comparison of limited approach, "Off-Pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 2000 Nov 7;102(19 Suppl 3):III95-100.
- 232.** - Wan IY, Arifi AA, Wan S, Yip JH, Sihoe AD, Thung KH, et al. Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: Evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Jun;127(6):1624-31.
- 233.** - Wehlin L, Vedin J, Vaage J, Lundahl J. Activation of complement and leukocyte receptors during on- and off-pump coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004 Jan;25(1):35-42.
- 234.** - Al-Ruzzeh S, Hoare G, Marczin N, Asimakopoulos G, George S, Taylor K, et al. Off-pump coronary artery bypass surgery is associated with reduced neutrophil activation as measured by the expression of CD11b: A prospective randomized study. *Heart Surg Forum.* 2003;6(2):89-93.
- 235.** - Dorman BH, Kratz JM, Multani MM, Baron R, Farrar E, Walton S, et al. A prospective, randomized study of endothelin and postoperative recovery in off-pump versus conventional coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2004 Feb;18(1):25-9.

- 236.** - Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pitsis AA, Angelini GD. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2000 Apr;69(4):1198-204.
- 237.** - Cox CM, Ascione R, Cohen AM, Davies IM, Ryder IG, AngeliniGD. Effect of cardiopulmonary bypass on pulmonary gas exchange: A prospective randomized study. *Ann Thorac Surg.* 2000 Jan;69(1):140-5.
- 238.** - Moller CH, Penninga L, Wetterslev J, Steinbrüchel DA, Glud C. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting for ischaemic heart disease. [Cochrane Database Syst Rev.]. Copenhagen:Cochrane Heart Group. 2012 Mar 14. Available from: [http://www thecochranelibrary.com](http://www.thecochranelibrary.com) Issue3: CD007224. doi: 10.1002/14651858.CD007224.pub2.
- 239** - Kuss O, von Salviati B, Börgermann J. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: a systematic review and meta-analysis of propensity score analyses. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010 Oct;140(4):829-35,835.e1-13. doi: 10.1016/j.jtcvs.2009.12.022.Epub 2010 Feb 18.
- 240.** -Taggart D. Off-pump coronary artery by pass grafting (OPCABG): the beginning of the end. *GlobCardiol Sci Pract.* 2013 Nov 1; 2013(3):203-6. doi: 10.5339/gcsp.2013.27.
- 241.** - Duhaylongsod FG. Minimally invasive cardiac surgery defined. *A Arch Surg.* 2000 Mar;135(3):296-301.
- 242.** -Richter JA, Meisner H, Tassani P, Barankay A, Dietrich W, Braun SL. Drew-Anderson technique attenuates systemic inflammatory response syndrome and improves respiratory function after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2000 Jan;69(1):77-83.
- 243.** - Jansen PG, Baufreton C, Le Besnerais P, Loisançe DY, Wildevuur CR. Heparin-coated circuits and aprotinin prime for coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1996 May;61(5):1363-6.
- 244.** - Ranucci M, Mazzucco A, Pessotto R, Grillone G, Casati V, Porreca L, et al. Heparin-coated circuits for high-risk patients: A multicenter, prospective, randomized trial. *Ann Thorac Surg.* 1999 Apr;67(4):994-1000.

- 245.** -Te Velthuis H, Baufreton C, Jansen PG, Thijs CM, Hack CE, Sturk A, et al. Heparin coating of extracorporeal circuits inhibits contact activation during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997 Jul;114(1):117-22.
- 246.** - Baufreton C, Moczar M, Intrator L, Jansen PG, te Velthuis H, Le Besnerais P, et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using two different types of heparin-coated extracorporeal circuits. *Perfusión.* 1998 Nov;13(6):419-27.
- 247.** - Lundblad R, Moen O, Fosse E. Endothelin-1 and neutrophil activation during heparin-coated cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1997 May;63(5):1361-7.
- 248.** - Belboul A, Lofgren C, Storm C, Jungbeck M. Heparin-coated circuits reduce occult myocardial damage during CPB. A randomized, single blind clinical trial. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000 May;17(5):580-6.
- 249.** - Fosse E, Thelin S, Svennevig JL, Jansen P, Mollnes TE, Hack E, et al. Duraflo II coating of cardiopulmonary bypass circuits reduces complement activation, but does not affect the release of granulocyte enzymes: A European multicentre study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997 Feb;11(2):320-7.
- 250.** - Mahmood S, Bilal H, Zaman M, Tang A. Is a fully heparin-bonded cardiopulmonary bypass circuit superior to a standard cardiopulmonary bypass circuit? *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2012 Apr;14(4):406-14. Doi:10.1093/icvts/ivr124.Epub 2012 Jan 6.
- 251.** - Wan S, LeClerc JL, Antoine M, DeSmet JM, Yim AP, Vincent JL. Heparin-coated circuits reduce myocardial injury in heart or heart-lung transplantation: A prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg.* 1999 Oct;68(4):1230-5.
- 252.** - De Somer F, Francois K, van Oeveren W, Poelaert J, De Wolf D, Ebels T, et al. Phosphorylcholine coating of extracorporeal circuits provides natural protection against blood activation by the material surface. *Eur J Surg Cardiothorac* 2000 Nov; 18 (5):602-6.
- 253.** - Watanabe H, Hayashi J, Ohzeki H, Moro H, Sugawara M, Eguchi S. Biocompatibility of a silicone-coated polypropylene hollow fiber oxygenator in an *in vitro* model. *Ann Thorac Surg.* 1999 May;67(5):1315-9.

- 254.** - Wimmer-Greinecker G, Matheis G, Martens S, Oremek G, Abdel -Rahman U, Moritz A. Synthetic protein treated versus heparin coated cardiopulmonary bypass surfaces: Similar clinical results and minor biochemical differences. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999 Aug;16(2):211-7.
- 255.** - Baksaas ST, Videm V, Pedersen T, Karlsen H, Mollnes TE, Brosstad F, et al. Comparison of three oxygenator-coated and one total-circuit-coated extracorporeal devices. *Perfusion.* 1999 Mar;14(2):119-27.
- 256.** - Rubens FD, Ruel M, Lavallee G, Watson M, Robblee J, Wozny D, et al. Circuits with surface modifying additive alter the haemodynamic response to cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999 Mar;15(3):353-8.
- 257.** - Gu YJ, Boonstra PW, Rijnsburger AA, Haan J, van Oeveren W. Cardiopulmonary bypass circuit treated with surface-modifying additives: A clinical evaluation of blood compatibility. *Ann Thorac Surg.* 1998 May;65(5):1342-7.
- 258.** - De Vroege R, Rutten PM, Kalkman C, Out TA, Jansen PG, Eijnsman L, et al. Biocompatibility of three different membrane oxygenators: Effect on complement, neutrophil and monocyte activation. *Perfusión.* 1997 Nov;12(6):369-75.
- 259.** -Nathens AB, Marshall JC. Selective decontamination of the digestive tract in surgical patients: A systematic review of the evidence. *Arch Surg.* 1999 Feb;134(2):170-6.
- 260.** - Engelman DT, Adams DH, Byrne JG, Aranki SF, Collins JJ, Couper GS, et al. Impact of body mass index and albumin on morbidity and mortality after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999 Nov;118(5):866-73.
- 261.** - Radman M, Mack R, Barnoya J, Castañeda A, Rosales M, Azakie A, et al. The effect of preoperative nutritional status on postoperative outcomes in children undergoing surgery for congenital heart defects in San Francisco (UCSF) and Guatemala City (UNICAR). *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014 Jan;147(1):442-50.doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.03.023.Epub2013Apr 9.
- 262.** - El-Sayed HL, Nassar MF, Habib NM, Elmasry OA, Gomaa SM. Structural and functional affection of the heart in protein energy malnutrition patients on admission and after nutritional recovery. *Eur J Clin Nutr.* 2006 Apr;60(4):502-10.

- 263.** - Wittnich C, Chiu RC, Mc Ardle AH. Protection of ischemic myocardium: The roles of nutrition and myocardial glycogen. Protection of ischemic myocardium: The roles of nutrition and myocardial glycogen. Can J Surg. 1982 Sep;25(5):534-7.
- 264.** - Galbán C, Montejo JC, Mesejo A, Marco P, Celaya S, Sánchez-Segura JM, et al. An immune-enhancing enteral diet reduces mortality rate and episodes of bacteremia in septic intensive care unit patients. Crit Care Med. 2000 Mar;28(3):643-8.
- 265.** - Griffiths RD. Outcome of critically ill patients after supplementation with glutamine. Nutrition. 1997 Jul-Aug;13(7-8):752-4.
- 266.** - Wernerman J. Clinical use of glutamine supplementation. J Nutr. 2008 Oct;138(10):2040S-2044S.
- 267.** - Karpel E, Czechowski M, Seifert B, Jałowicki. Clinical usefulness of gastric tonometry in anesthesiology and intensive care medicine. Wiad Lek.2005;58(11-12):652-9.
- 268.** - Takeuchi K, del Nido PJ, Ibrahim AE, Cao-Danh H, Friehs I, Glynn P, et al. Vesnarinone and amrinone reduce the systemic inflammatory response syndrome. J Thorac Cardiovasc Surg. 1999 Feb;117(2):375-82.<sup>248</sup>
- 269.** - Mollhoff T, Loick HM, Van Aken H, Schmidt C, Rolf N, Tjan TD, et al. Milrinone modulates endotoxemia, systemic inflammation, and subsequent acute phase response after cardiopulmonary bypass (CPB). Anesthesiology.1999 Jan;90(1):72-80.
- 270.** - Yamaura K, Okamoto H, Akiyoshi K, Irita K, Taniyama T, Takahashi S. Effect of low- dose milrinone on gastric intramucosal pH and systemic inflammation after hypothermic cardiopulmonary bypass. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2001Apr;15(2):197-203.
- 271.** - Christenson JT, Simonet F, Badel P, Schmuziger M. Optimal timing of preoperative intraaortic balloon pump support in high-risk coronary patients. Ann Thorac Surg. 1999 Sep;68(3):934-9.
- 272.** - Gutfinger DE, Ott RA, Eugene J, Gazzaniga AB. Concepts in the application of pneumatic ventricular assist devices for ischemic myocardial injury. ASAIO J. 1995 Apr-Jun;41(2):162-8.

- 273.** - Dyub AM, Whitlock RP, Abouzahr LL, Cinà CS. Preoperative intra-aortic balloon pump in patients undergoing coronary bypass surgery: a systematic review and meta-analysis. *J Card Surg.* 2008 Jan-Feb;23(1):79-86. doi:10.1111/j.1540-8191.2007.00499.x.
- 274.** - Dietl CA, Berkheimer MD, Woods EL, Gilbert CL, Pharr WF, Benoit CH. Efficacy and cost-effectiveness of preoperative IABP in patients with ejection fraction of 0.25 or less *Ann Thorac Surg.* 1996 Aug;62(2):401-9.
- 275.** - De Amorim CG, Malbouisson LM, Da Silva Jr FC, Fiorelli AI, Murakami CK, Carmona MJ. Leukocyte depletion during CPB: effects on inflammation and lung function. *Inflammation.* 2014 Feb;37(1):196-204. doi:10.1007/s10753-013-9730-z.
- 276.** - Alexiou C, Tang AA, Sheppard SV, Smith DC, Gibbs R, Livesey S, et al. The effect of leucodepletion on leucocyte activation, pulmonary inflammation and respiratory index in surgery for coronary revascularisation: A prospective randomised study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004 Aug;26(2):294-300.
- 277.** - Salamonsen RF, Anderson J, Anderson M, Bailey M, Magrin G, Rosenfeldt F. Total leukocyte control for elective coronary bypass surgery does not improve short-term outcome. *Ann Thorac Surg.* 2005 Jun;79(6):2032-8.
- 278.** - Spencer S, Tang A, Khoshbin E. Leukodepletion for patients undergoing heart valve surgery. [Cochrane Database Syst Rev.] Lancaster: Cochrane Heart Group. 2013 Jul 31; Available from: <http://www.thecochranelibrary.com/Issue7:CD009507>. doi: 10.1002/14651858.CD009507.pub2.
- 279.** - Tang AT, Alexiou C, Hsu J, Sheppard SV, Haw MP, Ohri SK. Leukodepletion reduces renal injury in coronary revascularization: A prospective randomized study. *Ann Thorac Surg.* 2002 Aug;74(2):372-7.
- 280.** - Matheis G, Scholz M, Gerber J, Abdel-Rahman U, Wimmer-Greinecker G. Leukocyte filtration in the early reperfusion phase on cardiopulmonary bypass reduces myocardial injury. *Perfusion.* 2001 Jan;16(1):43-9.
- 281.** - Warren O, Alexiou C, Massey R, Leff D, Purkayastha S, Kinross JO, et al. The effects of various leukocyte filtration strategies in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007 Apr;31(4):665-76. Epub 2007 Jan 19.

- 282.** - Loberg AG, Stallard J, Dunning J, Dark J. Can leucocyte depletion reduce reperfusion injury following cardiopulmonary bypass? *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2011 Feb; 12(2):2 er cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2001 Feb; 71(2):745-5432-7. doi:10.1510/icvts.2010.257568. Epub 2010 Nov 30.
- 283.** Roth M, Kraus B, Scheffold T, Reuthebuch O, Klovekorn WP, Bauer EP. The effect of leukocyte-depleted blood cardioplegia in patients with severe left ventricular dysfunction: A randomized, double-blind study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000 octubre; 120 (4): 642-50.
- 284.** - Warren OJ, Tunnicliffe CR, Massey RM, Wallace S, Smith AJ, Alcock EM. Systemic leukofiltration does not attenuate pulmonary injury after cardiopulmonary bypass. *ASAIO J.* 2008 Jan-Feb;54(1):78-88. doi:10.1097/MAT.0b013e3181618e9b.
- 285.** - Rubino AS<sup>1</sup>, Serraino GF, Marsico R, Ventura V, Foti D, Gulletta E, et al. Leukocyte filtration improves pulmonary function and reduces the need for postoperative non-invasive ventilation. *Int J Artif Organs.* 2012 Sep;35(9):679-88. doi:10.5301/ijao.5000104.
- 286.** - Rubino AS, Serraino G.F, Mariscalco G, Marsico R, Sala A, and Renzulli A. Leukocyte depletion during extracorporeal circulation allows better organ protection but does not change hospital outcomes. *Ann Thorac Surg.* 2011 Feb;91(2):534-40. doi: 10.1016/j.athoracsur.2010.09.077.
- 287.** - Lim HK, Anderson J, Leong JY, Pepe S, Salamonsen RF, Rosenfeldt FL. What is the role of leukocyte depletion in cardiac surgery? *Heart Lung Circ.* 2007 Aug;16(4):243-53. Epub 2007 Mar 13.
- 288.** - Gunaydin S, Modine T, Sari T, Zorlutuna Y, Gourlay T. Clinical efficacy of two-phase leukocyte filtration in high-risk patients undergoing coronary revascularization with cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol.* 2009 Sep;41(3):149-56.
- 289.** - Bilgin YM, van de Watering LM, Brand A. Clinical effects of leucoreduction of blood transfusions. *Neth J Med.* 2011 Oct; 69(10):441-50.



- 290.** - Bilgin YM, van de Watering LM, Eijnsman L, Versteegh MI, Brand R, van Oers MH, et al. Double-blind, randomized controlled trial on the effect of leukocyte-depleted erythrocyte transfusions in cardiac valve surgery. *Circulation*. 2004 Jun 8;109(22):2755-60. Epub 2004 May 17.
- 291.** - Tang J, Tao K, Zhou J, Zhang C, Gong L, Luo N, et al. Long-term leukocyte filtration should be avoided during extracorporeal circulation. *Mediators Inflamm*. [Journal on line]. 2013 [Cited 2013 Dec 19]; 2013 (612848):7 pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/612848>.
- 292.** - Zhou J, Wu XD, Lin K, Lui RC, An Q, Tao KY, et al. Blood hibernation: A novel strategy to inhibit systemic inflammation and coagulation induced by cardiopulmonary bypass. *Barbilla Med J (Engl)*. 2010 Jul; 123 (13): 1741-7.
- 293.** - Levi M, Cromheecke ME, de Jonge E, Prins MH, de Mol BJ, Briet E, et al. Pharmacological strategies to decrease excessive blood loss in cardiac surgery: a meta-analysis of clinically relevant endpoints. *Lancet*. 1999 Dec 4;354(9194):1940-7.
- 294.** - Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg*. 2005;3(2):129-40. Epub 2005 Aug 1.
- 295.** - Mojcić CF, Levy JH. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2001 Feb; 71(2):745-54.
- 296.** - Wachtfogel YT, Kucich U, Hack CE, Gluszko P, Niewiarowski S, Colman RW, et al. Aprotinin inhibits the contact, neutrophil, and platelet activation systems during simulated extracorporeal perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Jul;106(1):1-9.
- 297.** - Harig F, Feyrer R, Mahmoud FO, Blum U, von der Emde J. Reducing the post pump syndrome by using heparin-coated circuits, steroids, or aprotinin. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1999 Apr;47(2):111-8.
- 298.** - Hill GE, Robbins RA. Aprotinin but not tranexamic acid inhibits cytokine-induced inducible nitric oxide synthase expression. *Anesth Analg*. 1997 Jun;84(6):1198-202.
- 299.** - Soeparwata R, Hartman AR, Frerichmann U, Stefano GB, Scheld HH, Bilfinger TV. Aprotinin diminishes inflammatory processes. *Int J Cardiol*. 1996 Apr 26;53 Suppl:S55-63.

- 300.** - Alonso A, Whitten CW, Hill GE. Pump prime only aprotinin inhibits cardiopulmonary bypass-induced neutrophil CD11b up-regulation. *Ann Thorac Surg.* 1999 Feb;67(2):392-5.
- 301.** - D.T. Mangano, R.D. Rieves, K.D. Weiss. Judging the safety of aprotinin. *N Engl J Med.* 2006 Nov 23;355(21):2261-2.
- 302.** - Fergusson DA, Hébert PC, Mazer CD, Fremes S, MacAdams C, Murkin JM, et al. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk ardiac surgery. *N Engl J Med.* 2008 May 29;358(22):2319-31. doi: 10.1056/NEJMoa0802395. Epub 2008 May 14.
- 303.** - Badger AM, Olivera DL, Esser KM. Beneficial effects of the phosphodiesterase inhibitors BRL 61063, pentoxifylline, and rolipram in a murine model of endotoxin shock. *Circ Shock.* 1994 Dec;44(4):188-95.
- 304.** - Sullivan GW, Carper HT, Novick WJJ, Mandell GL. Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumour necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect Immun.* 1988 Jul;56 (7):1722-9.
- 305.** - Tsang GM, Allen S, Pagano D, Wong C, Graham TR, Bonser RS. Pentoxifylline preloading reduces endothelial injury and permeability in cardiopulmonary bypass. *ASAIO J.* 1996 Sep-Oct;42(5):M429-34.
- 306.** - Ege T, Arar C, Canbaz S, Cikirikcioglu M, Sunar H, Yuksel V, et al. The importance of aprotinin and pentoxifylline in preventing leukocyte sequestration and lung injury caused by protamine at the end of cardiopulmonary bypass surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Feb; 52 (1):10-5.
- 307.** - Turkoz R, Yorukoglu K, Akcay A, Yilik L, Baltalarli A, Karahan N, et al. The effect of pentoxifylline on the lung during cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1996;10(5):339-46.
- 308.** - Heinze H, Rosemann C, Weber C, Heinrichs G, Bahlmann L, Misfeld M, et al. A single prophylactic dose of pentoxifylline reduces high dependency unit time in cardiac surgery - a prospective randomized and controlled study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007 Jul; 32(1):83-9. Epub 2007 May 17.

- 309.** - Barkhordari K, Karimi A, Shafiee A, Soltaninia H, Khatami MR, Abbasi K, et al. Effect of pentoxifylline on preventing acute kidney injury after cardiac surgery by measuring urinary neutrophil gelatinase - associated lipocalin. *J Cardiothorac Surg.* 2011 Jan 19;6:8. doi: 10.1186/1749-8090-6-8.
- 310.** - Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2001 Jun;94(6):1133-8.
- 311.** - Cavarocchi NC, England MD, O'Brien JF, Solis E, Russo P, Schaff HV, et al. Superoxide generation during cardiopulmonary bypass: Is there a role for vitamin E? *J Surg Res.* 1986 Jun;40(6):519-27.
- 312.** - Verrier ED, Shernan SK, Taylor KM, Van de Werf F, Newman MF, Chen JC, et al. Terminal complement blockade with pexelizumab during coronary artery bypass graft surgery requiring cardiopulmonary bypass: A randomized trial. *JAMA.* 2006 Jan 11;295(2):164.
- 313.** - Sellke FW, Shafique T, Ely DL, Weintraub RM. Coronary endothelial injury after cardiopulmonary bypass and ischemic cardioplegia is mediated by oxygen-derived free radicals. *Circulation.* 1993 Nov;88(5 Pt 2):II395-400.
- 314.** - Abdel-Rahman U, Aybek T, Moritz A, Kleine P, Matheis G. Graded reoxygenation limits lipid peroxidation during surgical reperfusion. *Med Sci Monit.* 2003 Sep;9(9):CR389-91.
- 315.** - Dingchao H, Zhiduan Q, Liye H, Xiaodong F. The protective effects of high-dose ascorbic acid on myocardium against reperfusion injury during and after cardiopulmonary bypass. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1994 Oct;42(5):276-8.
- 316.** - England MD, Cavarocchi NC, O'Brien JF, Solis E, Pluth JR, Orszulak TA, et al. Influence of antioxidants (mannitol and allopurinol) on oxygen free radical generation during and after cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1986 Nov;74(5 Pt 2):III134-7.
- 317.** - Winklhofer-Roob BM, Rock E, Ribalta J, Shmerling DH, Roob JM. Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies. *Mol Aspects Med.* 2003 Dec; 24(6):391-402.305317.

- 318.** - Andersen LW, Thiis J, Kharazmi A, Rygg I. The role of N-acetylcystein administration on the oxidative response of neutrophils during cardiopulmonary bypass. *Perfusion*. 1995;10(1):21-6.
- 319.** - De Backer WA, Amsel B, Jorens PG, Bossaert L, Hiemstra PS, van Noort P, et al. N-acetylcysteine pretreatment of cardiac surgery patients influences plasma neutrophil elastase and neutrophil influx in bronchoalveolar lavage fluid. *Intensive Care Med*. 1996 Sep;22(9):900-8.
- 320.** - Prabhu A, Sujatha DI, Kanagarajan N, Vijayalakshmi MA, Ninan B. Effect of N-acetylcysteine in attenuating ischemic reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Ann Vasc Surg*. 2009 Sep-Oct; 23(5):645-51. doi: 10.1016/j.avsg.2008.12.005. Epub 2009 May 21.
- 321.** - Suter PM, Domenighetti G, Schaller MD, Laverriere MC, Ritz R, Perret C. N-acetylcysteine enhances recovery from acute lung injury in man: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Chest*. 1994 Jan;105(1):190-4.
- 322.** - Szakmany T, Hauser B, Radermacher P. N-acetylcysteine for sepsis and systemic inflammatory response in adults. [Cochrane Database Syst Rev.]. Wales: Cochrane Anaesthesia Group. 2012 Sep 12; Available from: <http://www.thecochranelibrary.com> Issue 9: CD009507. doi: 10.1002/14651858.CD009507.pub2.
- 323.** - Pintar T, Collard CD. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiol Clin North America*. 2003 Sep;21(3):453-64.
- 324.** - Wechter J, Phillips LJ, Toledo AH, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Allopurinol protection in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Invest Surg*. 2010 Oct; 23 (5):285-93. doi: 10.3109/08941939.2010.513758.
- 325.** - McCord JM. Superoxide Dismutase, lipid peroxidation, and Bell-Shaped Dose Response Curves. *Dose Response*. 2008;6(3):223-238. doi:10.2203/dose-response.08-012.McCord.
- 326.** - Prasad K, Chan WP, Bharadwaj B. Superoxide dismutase and catalase in protection of cardiopulmonary bypass-induced cardiac dysfunction and cellular injury. *Can J Cardiol*. 1996 Oct;12(10):1083-91.

- 327.** - Shafique T, Johnson RG, Dai HB, Weintraub RM, Sellke FW. Altered pulmonary microvascular reactivity after total cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106(3):479-86.
- 328.** - Möbert J, Becker BF. Cyclooxygenase inhibition aggravates ischemia-reperfusion injury in the perfused guinea pig heart: Involvement of isoprostanes. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Jun;31(7):1687-94.
- 329.** - Metais C, Li J, Simons M, Sellke FW. Serotonin-induced coronary contraction increases after blood cardioplegia-reperfusion: Role of COX-2 expression. *Circulation*. 1999 Nov 9;100(19 Suppl):II328-34.
- 330.** - Hindman BJ, Moore SA, Cutkomp J, Smith T, Ross-Barta SE, Dexter F, et al. Brain expression of inducible cyclooxygenase 2 messenger RNA in rats undergoing cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2001 Dec;95(6):1380-8.
- 331.** - Erez E, Erman A, Snir E, Raanani E, Abramov D, Sulkes J, et al. Thromboxane production in human lung during cardiopulmonary bypass: Beneficial effect of aspirin? *Ann Thorac Surg*. 1998 Jan;65(1):101-6.
- 332.** - Sato K, Li J, Metais C, Bianchi C, Sellke F. Increased pulmonary vascular contraction to serotonin after cardiopulmonary bypass: Role of cyclooxygenase. *J Surg Res*. 2000 May 15;90(2):138-43.
- 333.** - Yang X, Ma N, Szabolcs MJ, Zhong J, Athan E, Sciacca RR, et al. Upregulation of COX-2 during cardiac allograft rejection. *Circulation* 2000;101:430-8. doi: 10.1161/01.CIR.101.4.430.
- 334.** - Bouchard JF, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by cyclooxygenase inhibitors to endothelial function against ischemic injury in rat isolated hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999 Nov;34(5):755-63.
- 335.** - Saito T, Rodger IW, Hu F, Shennib H, Giaid A. Inhibition of cyclooxygenase-2 improves cardiac function in myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Jul 5;273(2):772-5.

- 336.** - Grandel U, Fink L, Blum A, Heep M, Buerke M, Kraemer HJ, et al. Endotoxin-induced myocardial tumor necrosis factor- $\alpha$  synthesis depresses contractility of isolated rat hearts: Evidence for a role of sphingosine and cyclooxygenase-2-derived thromboxane production. *Circulation*. 2000 Nov 28;102(22):2758-64.
- 337.** - Fleisig AJ, Verrier ED. Pexelizumab a C5 complement inhibitor for use in both acute myocardial infarction and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Expert Opin Biol Ther*. 2005 Jun;5(6):833-9.
- 338.** - Patel JA, Ghatak SB. Pexelizumab and its role in the treatment of myocardial infarction and in coronary artery bypass graft surgery: a review. *RecentPat CardiovasCDrug Discov*.2008 Jun; 3(2):145-52.
- 339.** - Shernan SK, Fitch JC, Nussmeier NA, Chen JC, Rollins SA, Mojcik CF, et al. Impact of pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, on total mortality and adverse cardiovascular outcomes in cardiac surgical patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2004 Mar;77(3):942-9; discussion 949-50.
- 340.** - Smith PK, Carrier M, Chen JC, Haverich A, Levy JH, Menasché P, et al. Effect of pexelizumab in coronary artery bypass graft surgery with extended aortic cross-clamp time. *Ann Thorac Surg*. 2006 Sep;82(3):781-8; discussion788-9.
- 341.** - Carrier M, Ménasché P, Levy JH, Newman MF, Taylor KM, Haverich A, et al. Inhibition of complement activation by pexelizumab reduces death in patients undergoing combined aortic valve replacement and coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Feb;131(2):352-6.
- 342.** - Rubin B, Alibaud L, Huchenq-Champagne A, Arnaud J, Toribio ML, Constans J. Some hints concerning the shape of T-cell receptor structures. *Scand J Immunol*. 2002 Feb;55(2):111-8.
- 343.** - Pan Q, Gollapudi AS, Dave VP. Biochemical evidence for the presence of a single CD3 $\delta$  and CD3 $\gamma$  chain in the surface T cell receptor/CD3 complex. *J Biol Chem*. 2004 Dec 3;279(49):51068-74. Epub 2004 Sep 30.
- 344.** - Call ME, Pyrdol J, Wucherpfennig KW. Stoichiometry of the T-cell receptor-CD3 complex and key intermediates assembled in the endoplasmic reticulum. *The EMBO Journal* 2004 Jun 16; 23(12):2325-2358. Doi 10.1038/sj.emboj.7600245.

- 345.** - Clevers H, Dunlap S, Terhorst C. The transmembrane orientation of the epsilon chain of the TcR/CD3 complex. *Eur J Immunol.* 1988;18(5):705-710. doi:10.1002/eji.1830180508.
- 346.** - Clayton LK, D'Adamio L, Howard FD, Sieh M, Hussey RE, Koyasu S, et al. CD3 eta and CD3 zeta are alternatively spliced products of a common genetic locus and are transcriptionally and/or post-transcriptionally regulated during T-cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Jun 15; 88(12):5202-5206. doi:10.1073/pnas.88.12.5202.
- 347.** - Sharma S, Lensink MF, Juffer AH. The structure of the CD3 $\zeta\zeta$  transmembrane dimer in lipid bilayers. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Mar;1838(3):739-46. doi:10.1016/j.bbamem.2013.12.001. Epub 2013 Dec 9.
- 348.** - Call ME, Schnell JR, Xu C, Lutz RA, Chou JJ, Wucherpfennig KW. The structure of the zeta zeta transmembrane dimer reveals features essential for its assembly with the T cell receptor. *Cell.* 2006 Oct 20;127(2):355-68.
- 349.** - Minguet S, Swamy M, Schamel WA. The short length of the extracellular domain of zeta is crucial for T cell antigen receptor function. *Immunol Lett.* 2008 Mar 15;116(2):195-202. doi: 10.1016/j.imlet.2007.11.020. Epub 2007 Dec 26.
- 350.** - Pérez-Flores V, Guardo A.C, Rossi NC, Recio MJ, Reino J, Regueiro JR. TCR/CD3 complex: Specificity with flexibility. *Inmunol.* 2006 Jan- Mar;25(1):50-56.
- 351.** - Latour S, Veillette A. Proximal protein tyrosine kinases in immunoreceptor signaling. *Curr Opin Immunol.* 2001 Jun;13(3):299-306.
- 352.** - Bronstein-Sitton N, Cohen-Daniel L, Vaknin I, Ezernitchi AV, Leshem B, Halabi A, et al. Sustained exposure to bacterial antigen induces interferon-gamma-dependent T cell receptor zeta down-regulation and impaired T cell function. *Nat Immunol.* 2003 Oct;4(10):957-64. Epub 2003 Sep 21.
- 353.** - García NR. Papel inmunosupresor y citotóxico de la ARG I y la disponibilidad de L - Arg en el sistema inmune y cáncer [Tesis doctoral]. Salamanca: Universidad de Salamanca, Facultad de Medicina; 2014.
- 354.** - Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L - Arginine metabolism. *Nat Rev Immunol.* 2005 Aug;5(8):641-54.

- 355.** - Rodríguez PC, Zea AH, Culotta KS, Zabaleta J, Ochoa JB, Ochoa AC. Regulation of T cell receptor CD3zeta chain expression by L - Arginine. *J Biol Chem* 2002 Jun 14; 277 (24): 21123-9. Epub 2002 11 de abril.
- 356.** - Cohen J, Chin w DN. Nutrition and sepsis. *World Rev Nutr Diet.* 2013;105:116-25. doi: 10.1159/000341280. Epub 2012 Oct 12.
- 357.** - Rodriguez PC, Quiceno DG, Ochoa AC. L - Arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression. *Blood.* 2007 Feb 15;109(4):1568-73. Epub 2006 Oct 5.
- 358.** - Baniyash M. TCR zeta-chain downregulation: curtailing an excessive inflammatory immune response. *Nat Rev Immunol.* 2004 Sep;4(9):675-87.
- 359.** - Isaza CJM, Vasco GCM, Velásquez LMM. Arginine and cancer: Implications in the regulation of antitumoral response. *Iatreia.* [serial on internet]. 2014 Jan-Mar; [Citado 2015 Apr 11];27(1):63-72. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&conpid=S0121-07932014000100007&conlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&conpid=S0121-07932014000100007&conlng=en).
- 360.** - Dave VP. Hierarchical role of CD3 chains in thymocyte development. *Immunol Rev.* 2009 Nov; 232(1):22-33. doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00835.x.
- 361.** - Call ME, Wucherpfennig KW. The T cell receptor: critical role of the membrane environment in receptor assembly and function. *Annu Rev Immunol*, 2005; 23:101-25.
- 362.** - Érsek B, Molnár V, Balogh A, Matkó J, Cope AP, Buzás EI, et al. CD3 $\zeta$ -Chain Expression of Human T Lymphocytes Is Regulated by TNF via Src-like Adaptor Protein-Dependent Proteasomal Degradation. *J Immunol.* 2012 Aug 15;189(4):1602-10. doi: 10.4049/jimmunol.1102365. Epub 2012 Jul 13.
- 363.** - Tahery F, Ochoa JB, Faghiri Z, Cullota K, Park HJ, Lan MS, et al. L - Arginine regulates the expression of the T-cell receptor  $\zeta$  chain (CD3 $\zeta$ ) in Jurkat cells. *Clin.CancerRes.* 2001Mar;7suppl.:958s-965s.



- 364.** - Otsuji M, Kimura Y, Aoe T, Okamoto Y, and Saito T. Oxidative stress by tumor-derived macrophages suppresses the expression of CD3  $\zeta$  chain of T-cell receptor complex and antigen specific T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Nov 12; 93(23): 13119-13124.
- 365.** - Ammirati E, Vermi AC, Cianflone D, Banfi M, Foglieni C, Godino C, et al. Expansion of T-cell receptor  $\zeta$  dim effector T cells in acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Dec 1; 28(12):2305-11. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.174144.
- 366.** - Zea AH, Rodriguez PC, Culotta KS, Hernandez CP, DeSalvo J, Ochoa JB, et al. L - Arginine modulates CD3 $\zeta$  expression and T cell function in activated human T lymphocytes. *Cellular Immunology*. 2004 Nov-Dec; 232(1-2):21-31. Epub 2005 Feb 23.
- 367.** - Ni Y, Schwaneberg U, Sun Z-H. Arginine deiminase, a potential anti-tumor drug. *Cancer Lett*. 2008 Mar 8; 261(1):1-11. doi: 10.1016/j.canlet.2007.11.038. Epub 2008 Jan 7.
- 368.** - Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y, Gastman BR, Bell MC, Whiteside TL. Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand-expressing ovarian carcinoma cells. Implications for altered expression of T cell receptor in tumor- associated lymphocytes. *J Clin Invest*. 1998 Jun 1; 101(11):2579-88.
- 369.** - Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, Clark PE, Lathcart MK, Bloom T et al. Renal cell carcinoma-derived gangliosides suppress nuclear factor  $\kappa$ B activation in T cells. *J Clin Invest*. 1999 Sep 15; 104(6):769-776. doi: 10.1172/JCI6775.
- 370.** - Maccalli C, Pisarra P, Vegetti C, Sensi M, Parmiani G, Anichini A. Differential loss of T cell signaling molecules in metastatic melanoma patients T lymphocyte subsets expressing distinct TCR variable regions. *J. Immunol*. 1999; 163:6912-6923.
- 371.** - Rodriguez PC, Zea AH, DeSalvo J, Culotta KS, Zabaleta J, Quiceno DG, Ochoa JB, Ochoa AC. L - Arginine consumption by macrophages modulates the expression of CD3zeta chain in T lymphocytes. *J Immunol*. 2003; 171:1232-1239. Available from <http://www.jimmunol.org/content/163/12/6912>.

- 372.** - Bansal V, Rodriguez P, Wu G, Eichler DC, Zabaleta J, Taheri F, et al. Citrulline can preserve proliferation and prevent the loss of CD3 zeta chain under conditions of low arginine. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004 Nov-Dec;28(6):423-30.
- 373.** - Ichijara F, Kono k, Sekikawa T, Matsumoto Y. Surgical stress induces decreased expression of signal-transducing zeta molecules in T cells. *Eur Surg Res.* 1999;31(2):138-146.
- 374.** - Morris SM. Arginine: beyond protein. *Am J Clin Nutr.* 2006 Feb;83(2):508S-512S.
- 375.** - Peranzoni E, Marigo I, Dolcetti L, Ugel S, Sonda N, Taschin E, et al. Role of arginine metabolism in immunity and immunopathology. *Immunobiology.* 2007;212(9-10):795-812. Epub 2007 Nov 14.
- 376.** - Barbul A, Wasserkrug HL, Seifter E, Rettura G, Levenson SM, Efron G. Immunostimulatory effects of arginine in normal and injured rats. *J Surg Res.* 1980 Sep; 29(3):228-35.
- 377.** - Neilly PJ, Kirk SJ, Gardiner KR, Rowlands BJ. The Larginine / nitric oxide pathway--biological properties and therapeutic applications. *Ulster Med J.* 1994 Oct; 63(2):193-200.
- 378.** - Morris SM. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. *J Nutr.* 2007;137(6 Suppl 2):1602S-1609S.
- 379.** - Wu G, Meininger CJ, Knabe DA, Bazer FW, Rhoads JM. Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000 Jan; 3(1):59-66.
- 380.** - Satriano J. Agmatine: at the crossroads of the arginine pathways. *Ann N Y Acad Sci.* 2003 Dec;1009:34-43.
- 381.** - Yang Y, Bedford MT. Protein arginine methyltransferases and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2013 Jan;13(1):37-50. doi:10.1038/nrc3409.
- 382.** - Kone BC, Kuncewicz T, Zhang W, Yu ZY. Protein interactions with nitric oxide synthases: controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003 Aug;285(2):F178-90.

- 383.** - Palomero-Rodríguez MA, García-Navas R, Laporta-Báez Y, Al Kassam-Martínez D, de Vicente-Sánchez J, Cacharro-Moras, et al. Relationship between arginase activity and the storage time of packed red blood cells. *Rev Esp Anestesiología y Reanimación*. 2012 Jun-Jul;59(6):315-20. doi: 10.1016/j.redar.2012.04.021. Epub 2012 Jun 15.
- 384.** - Shantz LM, Levin VA. Regulation of ornithine decarboxylase during oncogenic transformation: mechanisms and therapeutic potential. *Amino Acids*. 2007;33(2):213-223. doi:10.1007/s00726-007-0531-2.
- 385.** - Serafini P, Mgebroff S, Noonan K, Borrello I. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells. *Cancer Res*. 2008 Jul 1;68(13):5439-49.
- 386.** - Kung JT, Brooks SB, Jakway JP, Leonard LL, Talmage DW. Suppression of in vitro cytotoxic response by macrophages due to induced arginase. *J Exp Med*. 1977 Sep 1;146(3):665-72.
- 387.** - Regunathan S, Reis DJ. Characterization of arginine decarboxylase in rat brain and liver: distinction from ornithine decarboxylase. *J Neurochem*. 2000 May;74(5):2201-2208.
- 388.** - Cama E, Emig FA, Ash DE, Christianson DW. Structural and functional importance of first-shell metal ligands in the binuclear manganese cluster of arginase I. *Biochemistry*. 2003 Jul 1;42(25):7748-58.
- 389.** - Miki K, Kumar A, Yang R, Killeen ME, Delude RL. Extracellular activation of arginase-1 decreases enterocyte inducible nitric oxide synthase activity during systemic inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Hepatol Physiol* 2009 octubre; 297 (4): G840-8. doi: 10.1152 / ajpgi.90716.2008. Epub 2009 27 de agosto.
- 390.** - Ochoa JB, Bernard AC, O'Brien WE, Griffen MM, Maley ME, Rockich AK, et al. Arginase I Expression and Activity in Human Mononuclear Cells After Injury. *Ann Surg*. 2001 Mar;233(3):393-9.
- 391.** - Ash DE. Structure and function of arginases. *J Nutr*. 2004 Oct;134(10 Suppl):2760S-2764S; discussion 2765S-2767S.

- 392.** - Morris SM Jr. Regulation of Enzymes of the Urea Cycle and Arginine Metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:87-105. Epub 2002 Jan 4.
- 393.** - Sahin E, Haubenwallner S, Kuttke M, Kollmann I, Halfmann A, Dohnal AB, et al. Macrophage PTEN Regulates Expression and Secretion of Arginase I Modulating Innate and Adaptive Immune Responses. *The Journal of Immunology* 2014 Jul 11.[Epub ahead of print]. Available from: doi: 10.4049/jimmunol.1302167193(4):1717-1727.
- 394.** - Zimmermann N, King NE, Laporte J, Yang M, Mishra A, Pope SM, et al. Dissection of experimental asthma with DNA microarray analysis identifies arginase in asthma pathogenesis. *J Clin Invest.* 2003 Jun;111(12):1863-74.
- 395.** - Bruch-Gerharz D, Schnorr O, Suschek C, Beck KF, Pfeilschifter J, Ruzicka T, et al. Arginase 1 overexpression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation. *Am J Pathol* 2003 Jan;162(1): 203-11.
- 396.** - Munder M, Mollinedo F, Calafat J, Canchado J, Gil-Lamaignere C, Fuentes JM, et al.. Arginase I is constitutively expressed in human granulocytes and participates in fungicidal activity. *Blood.*2005 Mar 15;105(6):2549-56. Epub 2004 Nov 16.
- 397.** - Luckner-Minden C, Fischer I, Langhans CD, Schiller M, P Kropf, Müller I, et al. Human eosinophil granulocytes do not express the enzyme arginase. *J Leukoc Biol* 2010 Jun; 87(6):1125-1132. doi: 10.1189 / jlb.1109741.Epub 2010 03 de marzo.
- 398.** - Rutschman R, R Lang, Hesse M, Ihle JN, Wynn TA, Murray PJ. Cutting edge: Stat 6- dependent substrate depletion rgulates nitric oxide production. *J Immunol.* 2001 Feb 15;166(4):2173-7.
- 399.** - Zhang P, McGrath BC, Reinert J, Olsen DAS, Lei L, Gill S, et al. The GCN2 eIF2 $\alpha$  kinase is required for adaptation to amino acid deprivation in mice. *Mol Cell Biol.* 2002 Oct; 22(19):6681–6688. doi: 10.1128/MCB.22.19.6681-6688.2002.
- 400.** - Barksdale AR, Bernard AC, Maley ME, Gellin GL, Kearney PA, Boulanger BR, et al. Regulation of arginase expression by T-helper II cytokines and isoproterenol. *Surgery.* 2004 May;135(5):527-35.

- 401.**- Mohanan S, Cherrington BD, Horibata S, McElwee JL, Thompson PR, Coonrod SA. Potential role of peptidylarginine deiminase enzymes and protein citrullination in cancer pathogenesis. *Biochem Res Int.* [Cited 2012 Aug]; 2012:11pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/895343>.
- 402.** - Pesce JT, Ramalingam TR, Mentink-Kane MM, Wilson MS, El Kasmi KC, Smith AM, et al. Arginase-1-expressing macrophages suppress Th2 cytokine-driven inflammation and fibrosis. *PLoS Pathog.* 2009 Apr;5(4):e1000371. doi: 10.1371/journal.ppat.1000371. Epub 2009 Apr 10.
- 403.** - Raber P, Ochoa AC, Rodríguez PC. Metabolism of L - Arginine by Myeloid-Derived Suppressor Cells in Cancer: Mechanisms of T cell suppression and Therapeutic Perspectives. *Immunol Invest.* 2012;41(6-7):614-34. doi: 10.3109/08820139.2012.680634.
- 404.** - Morris SM Jr. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases. *Br J Pharmacol.*2009 Jul;157(6):922-30. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00278.x. Epub 2009 Jun 5.
- 405.** - Chicoine LG, Paffett ML, Young TL, Nelin LD. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004 Jul;287(1):L60-8. Epub 2004 Feb 20.
- 406.** - Ochoa JB, Bernard AC, Mistry SK, Morris SM Jr, Figert PL, Maley ME, et al. Trauma increases extrahepatic arginase activity. *Surgery.* 2000 Apr;127(4):419-26.
- 407.** - Zhang C, Hein TW, Wang W, Miller MW, Fossum TW, McDonald MM, et al. Upregulation of vascular arginase in hypertension decreases nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles. *Hypertension.*2004 Dec;44(6):935-43. Epub 2004 Oct 18.
- 408.** - Santhanam L, Lim HK, Lim HK, Miriel V, Brown T, Patel M, et al. Inducible NO synthase dependent S-nitrosylation and activation of arginase1 contribute to age-related endothelial dysfunction. *Circ Res.* 2007 Sep 28;101(7):692-702. Epub 2007 Aug 17.

- 409.** - Deignan JL, Livesay JC, Yoo PK, Goodman SI, O'Brien WE, Iyer RK, et al. Ornithine deficiency in the arginase double knockout mouse. *Mol Genet Metab.* 2006 Sep-Oct;89(1-2):87-96. Epub 2006 Jun 5.
- 410.** - Vanhoutte PM. Arginine and Arginase Endothelial NO Synthase Double Crossed? *Circ Res.* 2008 Apr 25;102(8):866-8. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175570.
- 411.** - Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH, Zweier JL. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Jun 25;93(13):6770-4.
- 412.** - Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 28<sup>th</sup> edition; New York:McGraw Hill 2009.
- 413.** - Jung C, Gonon AT, Sjoquist PO, Lundberg JO, Pernow J. Arginase inhibition mediates cardioprotection during ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res.* 2010 Jan 1;85(1):147-54. doi: 10.1093/cvr/cvp303.
- 414.** - Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, et al. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res.* 2008 Jan 4;102(1):95-102. Epub 2007 Oct 25.
- 415.** - Morris SM. Arginases and Arginine Deficiency Syndromes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012 Jan;15(1):64-70. doi: 10.1097/MCO.0b013e32834d1a08.
- 416.** - Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, Wang X, Blackwelder WC, Sachdev V, et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA* 2005;294 (1):81-90. doi: 10.1001 / jama.294.1.81.
- 417.** - Morris CR, Morris SM, Jr, Hagar W, Van Warmerdam J, Claster S, Kepka-Lenhart D, et al. Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Jul 1;168(1):63-9. Epub 2003 Mar 5.

- 418.** - Meurs H, Maarsingh H, Zaagsma J. Arginase and asthma: novel insights into nitric oxide homeostasis and airway hyperresponsiveness. *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Sep;24(9):450-5.
- 419.** - Aslan M, Ryan TM, Adler B, Townes TM, Parks DA, Thompson JA, et al. Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Dec 18;98(26):15215-20.
- 420.** - Morris CR, Kuypers FA, Larkin S, Vichinsky EP, Styles LA. Patterns of arginine and nitric oxide in patients with sickle cell disease with vaso-occlusive crisis and acute chest syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2000 Nov-Dec;22(6):515-20.
- 421.** - Grasemann H, Al-Saleh S, Scott JA, Shehnaz D, Mehl A, Amin R, et al. Asymmetric Dimethylarginine Contributes to Airway Nitric Oxide Deficiency in Patients with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* May 15, 2011 May 15.183(10):1363-1368. doi: 10.1164/rccm.201012-1995OC.
- 422.** - Grasemann H, Schwiertz R, Matthiesen S, Racke K, Ratjen F. Increased arginase activity in cystic fibrosis airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Dec 15;172(12):1523-8. Epub 2005 Sep 15.
- 423.** - Lewandowicz AM, Pawliczak R. Arginine metabolism in bronchial asthma. *Postepy Hig Med Dosw.[journal Online].*2007 [ Cited 2007 Mar 28];6:156-66. Available from: [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_61/10281.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10281.pdf).
- 424.** - Morris CR, Poljakovic M, Lavrisha L, Machado L, Kuypers FA, Morris SM Jr. Decreased arginine bioavailability and increased serum arginase activity in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 Jul 15;170(2):148-53. Epub 2004 Apr 7.
- 425.** - Ogino K, Obase Y, Takahashi N, Shimizu H, Takigawa T, Wang DH, et al. High serum arginase I levels in asthma: its correlation with high-sensitivity C-reactive protein. *J Asthma.* 2011 Feb;48(1):1-7. doi: 10.3109/02770903.2010.528496. Epub 2010 Nov 1.
- 426.** - Christianson DW. Arginase: structure, mechanism, and physiological role in male and female sexual arousal. *Acc Chem Res.* 2005 Mar;38(3):191-201.

- 427.** - Bivalacqua TJ, Hellstrom WJG, Kadowitz PJ, Champion HC. Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum in diabetic associated erectile dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 May 18; 283(4):923-927.
- 428.** - Bruch-Gerharz D, Schnorr O, Suschek C, Beck KF, Pfeilschifter J, Ruzicka T, et al. Arginase 1 overexpression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation. *Am J Pathol.* 2003 Jan;162(1):203-11.
- 429.** - Dimitriades V, Rodríguez PC, Zabaleta J, Ochoa AC. Arginase I levels are decreased in the plasma of pediatric patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014 Sep;113(3):271-5. doi: 10.1016 / j.anai.2014.06.010. Epub July 11, 2014.
- 430.** - Corraliza I, Moncada S. Increased expression of arginase II in patients with different forms of arthritis. Implications of the regulation of nitric oxide. *J Rheumatol.* 2002 Nov;29(11):2261-5.
- 431.** - Reid KM, Tsung A, Kaizu T, Jeyabalan G, Ikeda A, Shao L, et al. Liver I/R injury is improved by the arginase inhibitor, N (omega)-hydroxy-nor-L - Arginine (nor-NOHA). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007 Feb;292(2):G512-7. Epub 2006 Oct 5.
- 432.** - Längle F, Steininger R, Waldmann E, Grünberger T, Benditte H, Mittlböck M, et al. Improvement of cardiac output and liver blood flow and reduction of pulmonary vascular resistance by intravenous infusion of L - Arginine during the early reperfusion period in pig liver transplantation. *Transplantation.* 1997 May 15;63(9):1225-33.
- 433.** - Efron D, Barbul A. Role of arginine in immunonutrition. *J Gastroenterol.* 2000;35 Suppl 12:20-3.
- 434.** - Drover JW, Dhaliwal R, Weitzel L, Wischmeyer PE, Ochoa JB, Heyland DK. Perioperative use of Arginine-supplemented Diets: A Systematic Review of the Evidence. *J Am Coll Surg.* 2011 Mar;212(3):385-99, 399.e1. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.10.016. Epub 2011 Jan 17.



- 435.** - Feldmeyer N, Wabnitz G, Leicht S, Luckner-Minden C, Schiller M, Franz T, et al. Arginine deficiency leads to impaired cofilin dephosphorylation in activated human T lymphocytes. *Int Immunol.* 2012 May;24(5):303-13. doi: 10.1093/intimm/dxs004. Epub 2012 Feb 16.
- 436.** - Bansal V, Ochoa JB. Arginine availability, arginase, and the immune response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003 Mar;6(2):223-8.
- 437.** - Okamoto Y, Okano K, Izuishi K, Usuki H, Wakabayashi H, Suzuki Y. Attenuation of the systemic inflammatory response and infectious complications after gastrectomy with preoperative oral arginine and omega-3 fatty acids supplemented immunonutrition. *World J Surg.* 2009 Sep;33(9):1815-21. doi: 10.1007/s00268-009-0140-1.
- 438.** - Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids.* 2009 May;37(1):1-17. doi: 10.1007/s00726-009-0269-0. Epub 2009 Mar 20.
- 439.** - Efron DT, Barbul A. Arginine and immunonutrition: a reevaluation. *Nutrition.* 2000 Jan;16(1):73-74. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007\(99\)00222-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007(99)00222-1).
- 440.** - Stechmiller JK, Childress B, Porter T. Arginine immunonutrition in critically ill patients: a clinical dilemma. *Am J Crit Care.* 2004 Jan;13(1):17-23.
- 441.** - Heyland DK, Novak F, Drover JW, Jain M, Su X, Suchner U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of the evidence. *JAMA.* 2001 Aug 22-29;286(8):944-53.
- 442.** - Brenner T, Fleming TH, Rosenhagen C, Krauser U, Mieth M, Bruckner T, et al. L - Arginine and asymmetric dimethylarginine are early predictors for survival in septic patients with acute liver failure. *Mediators Inflamm.* [Journal online]. 2012;[Cited 2012 May 6]; 2012:210454 11pages. Available from: doi: 10.1155/2012 /210454.
- 443.** - Ochoa JB, Strange J, Kearney P, Gellin G, Endean E, Fitzpatrick E. Effects of L - Arginine on the proliferation of T lymphocyte subpopulations. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2001 Jan-Feb;25(1):23-9.
- 444.** - Waddington SN. Arginase in glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2002 Mar;61(3):876-81. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00236.x.

- 445.** - Gobert AP, Cheng Y, Wang JY, Boucher JL, Iyer RK, Cederbaum SD, et al. *Helicobacter pylori* induces macrophage apoptosis by activation of arginase II. *J Immunol.* 2002 May 1;168(9):4692-700.
- 446.** - Makarenkova VP, Bansal V, Matta BM, Perez LA, Ochoa JB. CD11b+/Gr-1+ myeloid suppressor cells cause T cell dysfunction after traumatic stress. *J Immunol.* 2006 Feb 15;176(4):2085-94.
- 447.** - Chang CI, Liao JC, Kuo L. Macrophage arginase promotes tumor cell growth and suppresses nitric oxide-mediated tumor cytotoxicity. *Cancer Res.* 2001 Feb 1;61(3):1100-6.
- 448.** - Bronte V, Serafini P, Mazzone A, Segal DM, Zanovello P. L - Arginine metabolism in myeloid cells controls T-lymphocyte functions. *Trends in immunology.* June 2003;24(6):301-305.
- 449.** - Rodríguez PC, Quiceno DG, Zabaleta J, Ortiz B, Zea AH, Piazuelo MB, et al. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses. *Cancer Res.* 2004 Aug 15;64(16):5839-49.
- 450.** - Wanasen N, Soong L - Arginine and its impact on host L - Arginine metabolism immunity against *Leishmania* infection. *Immunol Res.* 2008;41(1):15-25. doi:10.1007/s12026-007-8012-y.
- 451.** - Jacobsen LC, Theilgaard-Mönch K, Christensen EI, Borregaard N. Arginase 1 is expressed in myelocytes/metamyelocytes and localized in gelatinase granules of human neutrophils. *Blood.* 2007 Apr 1;109(7):3084-7.
- 452.** - Lee A-H, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol Cell Biol.* 2003 Nov;23(21):7448-59.
- 453.** - El-Gayar S, Thüning-Nahler H, Pfeilschifter J, Rölinghoff M, Bogdan C. Translational control of inducible nitric oxide synthase by IL-13 and arginine availability in inflammatory macrophages. *J Immunol.* [Journal online]2003; [Cited 2015 Apr 12]; 171(9):4561-4568. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/171/9/4561>.

- 454.** - Rodríguez PC, Ochoa AC. Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives. *Immunol Rev.* 2008 Apr;222:180-91. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00608.x.
- 455.** - Kakuda DK, Sweet MJ, MacLeod CL, Hume DA, Markovich D. CAT2-mediated L - Arginine transport and nitric oxide production in activated macrophages. *Biochem J.* 1999 Jun 1;340(Pt 2):549-53.
- 456.** - Yeramian A, Martin L, Serrat N, Arpa L, Soler C, Bertran J, et al. Arginine transport via cationic amino acid transporter 2 plays a critical regulatory role in classical or alternative activation of macrophages. *J Immunol.* 2006 May 15;176(10):5918-24.
- 457.** - Chioda MC, Marigo I, Mandruzzato S, Mocellin S, Bronte V. Arginase, Nitric Oxide Synthase and Novel inhibitors of L - Arginine Metabolism in immune Modulation. In: Prendergast GC, Jaffee EM, editors. *Cancer Immunotherapy: Immune Suppression and Tumor Growth.* San Diego, USA:Elsevier; 2013. p. 597-634.
- 458.** - Ochoa BJ, Bernard AC, Mistry SK, Morris SM, Figert PL, Maley ME, et al. Trauma increases extrahepatic arginase activity. *Surgery* 2000;127(4):419-426.
- 459.** - Kepka-Lenhart D, Mistry SK, Wu G, Morris SM Jr. Arginase I: a limiting factor for nitric oxide and polyamine synthesis by activated macrophages? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000 Dec;279(6):R2237-42.
- 460.** - Rodriguez PC, Hernandez CP, Morrow K, Sierra R, Zabaleta J, Wyczechowska DD, et al. L - Arginine deprivation regulates cyclin D3 mRNA stability in human T cells by controlling HuR expression. *J Immunol.* 2010 Nov 1;185(9):5198-204. doi: 10.4049/jimmunol.1001224. Epub 2010 Oct 1.
- 461.** - Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature.* 2002 Dec 19-26;420(6917):846-52. doi: 10.1038 /nature01320.
- 462.** -Marik PE, Flemmer M. The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 Oct;73(4):801-8. doi: 10.1097/TA.0b013e318265cf87.

- 463.** - Palomero-Rodríguez MA, Sánchez-Conde MP, Laporta-Báez Y, García-Navas R, Mollinedo F, De Vicente Sánchez J. Arginase activity and CD3-zeta chain expression after major surgery: a role for postoperative immunosuppression. *Eur J Anaesthesiol.* 2014 Jun;31:203-204.
- 464.** - Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev.* 2004 Aug 15;18(16):1926-45. doi:10.1101/gad.1212704.
- 465.** - MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol.*1997;15:323-50.
- 466.** - Baydoun AR, Bogle RG, Pearson JD, Mann GE. Discrimination between citrulline and arginine transport in activated murine macrophages: inefficient synthesis of NO from recycling of citrulline to arginine. *Br J Pharmacol.*1994 Jun;112(2):487-92.
- 467.** - Johann AM, Barra V, Kuhn AM, Weigert A, von Knethen A, Brune B. Apoptotic cells induce arginase II in macrophages, thereby attenuating NO production. *FASEB J.* 2007 Sep;21(11):2704-12. Epub 2007 Apr 24.
- 468.** - Schlaak JF, Buslau M, Jockum U, Hermann E, Girudt M, Gallati H, et al. T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 1994;102:145-149.
- 469.** - Waddington SN, Tam FWK. Arginase activity is modulated by IL-4 and HOArg in nephritic glomeruli and mesangial cells. *Am J Physiol* 1998; 274: F473–F480.
- 470.** - Zea AH, Culotta KS, Ali J, Mason C, Park HJ, Zabaleta J, et al. Decreased expression of CD3zeta and nuclear transcription factor kappa B in patients with pulmonary tuberculosis: potential mechanisms and reversibility with treatment. *J Infect Dis.* 2006 Nov 15;194(10):1385-93. doi:10.1086/508200. Epub 2006 Oct 4.
- 471.** - Kropf P, Baud D, Marshall SE, Munder M, Mosley A, Fuentes JM, et al. Arginase activity mediates reversible T cell hyporesponsiveness in human pregnancy. *Eur J Immunol.*2007 Apr;37(4):935-945.
- 472.** - Kim PS, Iyer RK, Lu KV, Yu H, Karimi A, Kern RM, et al. Expression of the liver form of arginase in erythrocytes. *Mol Genet Metab.* 2002 Jun;76(2):100-10.

## BIBLIOGRAFÍA

- 473.** - Bernard A, Kasten M, Meier C, Manning E, Freeman S, Adams W, et al. Red blood cell arginase suppresses Jurkat (T cell) proliferation by depleting arginine. *Surgery*. 2008 Feb;143(2):286-91. doi: 10.1016/j.surg.2007.07.037. Epub 2007 Dec 21.
- 474.** - Atzil S, Arad M, Glasner A, Abiri N, Avraham R, Greenfeld K, et al. Blood transfusion promotes cancer progression: a critical role for aged erythrocytes. *Anesthesiology*. 2008 Dec;109(6):989-97. doi: 10.1097/ALN.0b013e31818ddb72.
- 475.** - Mollinedo F, Palomero-Rodríguez MA, Sánchez-Conde P, García-Navas R, Laporta-Báez Y, de Vicente-Sánchez J, et al. Arginase as a new concern in blood transfusion. *Blood Transfus*. 2014 Jan;12 Suppl 1:s165-6. doi: 10.2450/2013.0237-12. Epub 2013 May 29.
- 476.** - Saager L, Turan A, Dalton JE, Figueroa PI, Sessler DI, Kurz A. Erythrocyte storage duration is not associated with increased mortality in noncardiac surgical patients: a retrospective analysis of 6,994 patients. *Anesthesiology*. 2013 Jan;118(1):51-8. doi: 10.1097/ALN.0b013e3182746ba4.
- 477.** - Bernard A, Kasten M, Meier C, Manning E, Freeman S, Adams W, et al. Red blood cell arginase suppresses Jurkat (T cell) proliferation by depleting arginine. *Surgery*. 2008 Feb; 143(2):286-291. doi: 10.1016/j.surg.2007.07.037. Epub 2007 Dec 21.
- 478.** - Prins HA, Houdijk AP, Nijveldt RJ, Teerlink T, Huygens P, Thijs LG, et al. Arginase release from red blood cells: possible link in transfusion induced immune suppression? *Shock*. 2001 Aug;16(2):113-5.
- 479.** - Bernard A, Meier C, López N, May J, P Chang, Boulanger B, et al. Packed red blood cell-associated arginine depletion is mediated by arginase. *J Trauma*. 2007 Nov;63(5):1108-12; discussion 1112.
- 480.** - Berkowitz DE, White R, Li D, Minhas KM, Cernetich A, Kim S et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation*. 2003 Oct 21; 108(16): 2000-6. Epub 2003 Sep 29.

- 481.** - Eckmann L, Laurent F, Langford TD, Hetsko ML, Smith JR, Kagnoff MF, et al. Nitric oxide production by human intestinal epithelial cells and competition for arginine as potential determinants of host defense against the lumen-dwelling pathogen *Giardia Lamblia*. *J Immunol*. 2000 Feb 1;164(3):1478-87.
- 482.** - Tsuei BJ, Bernard AC, Shane MD, Shirley LA, Maley ME, Boulanger BR, et al. Surgery Induces Human Mononuclear Cell Arginase I Expression. *J Trauma*. 2001 Sep;51(3):497-502.
- 483.** - Marik PE, Flemmer MJ. The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012 Oct;73(4):801-8. doi: 10.1097/TA.0b013e318265cf87.
- 484.** - Zhu X, Herrera G, Ochoa JB. Immunosuppression and infection after major surgery: a nutritional deficiency. *Crit Care Clin*. 2010 Jul;26(3):491-500,ix. doi: 10.1016/j.ccc.2010.04.004.
- 485.** - Loehe F, Bruns CJ, Nitsch SM, Angele MK. The role of L - Arginine following trauma and blood loss. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007 Jan;10(1):80-7.
- 486.** - Iwasaka H, Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Nihon Rinsho*. 2004 Dec;62(12):2237-43.
- 487.** - Bryk JA, Popovic PJ, Zenati MS, Munera V, Pribis JP, Ochoa JB. et al. Nature of myeloid cells expressing arginase1 in peripheral blood after trauma. *J Trauma*. 2010 Apr;68(4):843-52. doi: 10.1097/TA.0b013e3181b026e4.
- 488.** - Zabaleta J, Mc Gee DJ, Zea AH, Hernández CP, Rodríguez PC, Sierra RA, et al. *Helicobacter Pylori* arginase inhibits T cell proliferation and reduces the expression of the TCR $\zeta$  chain (CD3 $\zeta$ ). *J Immunol*. 2004 Jul 1;173(1):586-93.
- 489.** - Gabrilovich D, Ishida T, Oyama T, Ran S, Kravtsov V, Nadaf S, et al. Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo. *Blood*. 1998 Dec 1;92(11):4150-66.

- 490.** - Bekpinar S, Gurdol F, Unlucerci Y, Develi S, Yilmaz A. Serum levels of arginase I are associated with left ventricular function after myocardial infarction. *Clin Biochem.* 2011 Sep;44(13):1090-3. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.06.003. Epub 2011 Jun 17.
- 491.** - Böger RH. Association of asymmetric dimethylarginine and endothelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med.* 2003 Nov;41(11):1467-72.
- 492.** - Böger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atheroscler Suppl.* 2003 Dec;4(4):23-8.
- 493.** - Ryoo S, Berkowitz DE, Kyo H. Endothelial arginase II and atherosclerosis. *Korean J Anesthesiol.* [Journal online]2011; [Cited 2011 Jul 17];61(1):3-11. Available from: doi: 10.4097 / kjae.2011.61.1.
- 494.** - Chang CI, Liao JC, Kuo L. Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages. *Am J Physiol.* 1998 Jan;274(1 Pt 2):H342-8.
- 495.** - Zhang C, Hein TW, Wang W, Chang CI, Kuo L. Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function. *FASEB J.* 2001 May;15(7):1264-6.
- 496.** - Lim HK, Lim HK, Ryoo S, Benjo A, Shuleri K, Miriel V, et al. Mitochondrial arginase II constrains endothelial NOS-3 activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007 Dec;293(6):H3317-24. Epub 2007 Sep 7.
- 497.** - Li H, Meininger CJ, Hawker JR Jr, Haynes TE, Kepka-Lenhart D, Mistry SK et al. Regulatory role of arginase I and II in syntheses of nitric oxide, polyamines and proline in endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001 Jan; 280 (1):E75-82.
- 498.** - Li H, Meininger CJ, Hawker JR Jr, Kelly KA, Morris SM Jr, Wu G. Activities of arginase I and II are limiting for endothelial cell proliferation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002 Jan;282(1):R64-9.
- 499.** - Johnson FK, Johnson RA, Peyton KJ, Durante W. Arginase inhibition restores arteriolar endothelial function in Dahl rats with salt-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005 Apr;288(4):R1057-62. Epub 2004 Dec 9.

- 500.** - Vasdev S, Gill V. The antihypertensive effect of arginine. *Int J Angiol.* 2008 Apr;17(1): 7-22.
- 501.** - Hein TW, Zhang C, Wang W, Chang CI, Thengchaisri N, Kuo L. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *FASEB J.* 2003 Dec;17(15):2328-30. Epub 2003 Oct 16.
- 502.** - Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M et al. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res.* 2008 Jan 4;102(1):95-102. Epub 2007 Oct 25.
- 503.** - Johnson FK, Peyton KJ, Liu XM, Azam MA, Shebib AR, Johnson RA, et al. Arginase promotes endothelial dysfunction and hypertension in obese rats. *Obesity (Silver Spring).* 2015 Feb;23(2):383-90. doi: 10.1002/oby.20969. Epub 2014 Dec 31.
- 504.** - Vaisman VL, Andrews KL, Khong SML, Wood KC, Moore XL, YiFu, et al. Selective Endothelial Overexpression of Arginase II Induces Endothelial Dysfunction and Hypertension and Enhances Atherosclerosis in Mice. *Plos ONE.* [Journal online]. 2012; [ Cited 2012 Jul 19];7(7):e 39487. Available from: doi: 10.1371 / journal.pone.0039487.
- 505.** - Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, Versari D, Salvetti A. Mechanisms of endothelial dysfunction: Clinical significance and preventive non-pharmacological therapeutic strategies. *Curr Pharm Des.* 2003;9(29):2385-402.
- 506.** - Loyaga-Rendon RY, Sakamoto S, Beppu M, Aso T, Ishizaka M, Takahashi R, et al. Accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, attenuated dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries. *Atherosclerosis.* 2005 Feb;178(2):231-9.
- 507.** - Gao X, Xu X, Belmadani S, Park Y, Tang Z, Feldman AM et al. TNF-alpha contributes to endothelial dysfunction by upregulating arginase in ischemia/reperfusion injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Jun;27(6):1269-75. Epub 2007 Apr 5.
- 508.** - Bachetti T, Comini L, Francolini G, Bastianon D, Valetti B, Cadei M, et al. Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions. *J Mol Cell Cardiol.* 2004 Aug;37(2):515-23.



- 509.** - Nelin LD, Chicoine LG, Reber KM, English BK, Young TL, Liu Y. Cytokine-induced endothelial arginase expression is dependent on epidermal growth factor receptor. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005 Oct;33(4):394-401. Epub 2005 Jun 30.
- 510.** - Lewis C, Zhu W, Pavkov ML, Kinney CM, Dicorleto PE, Kashyap VS. Arginase blockade lessens endothelial dysfunction after thrombosis. *J Vasc Surg.* 2008 Aug;48(2):441-6. doi: 10.1016/j.jvs.2008.02.030. Epub 2008 May 16.
- 511.** - Grönros J, Jung C, Lundberg JO, Cerrato R, Ostenson CG, Pernow J. Arginase inhibition restores in vivo coronary microvascular function in type 2 diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011 Apr;300(4):H1174-81. doi: 10.1152/ajpheart.00560.2010. Epub 2011 Feb 4.
- 512.** - Ryoo S, Lemmon CA, Soucy KG, Gupta G, White AR, Nyhan D et al. Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling. *Circ Res.* 2006 Oct 27;99(9):951-60. Epub 2006 Sep 28.
- 513.** - Thengchaisri N, Hein TW, Wang W, Xu X, Li Z, Fossum TW, et al. Upregulation of Arginase by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Impairs Endothelium-Dependent Nitric Oxide-Mediated Dilation of Coronary Arterioles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Sep;26(9):2035-42. Epub 2006 Jun 22.
- 514.** - Schnorr O, Brossette T, Momma TY, Kleinbongard P, Keen CL, Schroeter H, et al. Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo. *Arch Biochem Biophys.* 2008 Aug 15;476(2):211-5. doi: 10.1016/j.abb.2008.02.040. Epub 2008 Mar 6.
- 515.** - Bagnost T, Berthelot A, Bouhaddi M, Laurant P, André C, Guillaume Y, et al. Treatment with the arginase inhibitor N(omega)-hydroxy-nor-L - Arginine improves vascular function and lowers blood pressure in adult spontaneously hypertensive rat. *JHypertens.* 2008 Jun; 26(6):1110-8. doi:10.1097/HJH.0b013e3282fcc357.
- 516.** - Xu W, Kaneko FT, Zheng S, Comhair SA, Janocha AJ, Goggans T, et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary artery hypertension. *FASEB J.* 2004 Nov; 18(14):1746-8. Epub 2004 Sep 13.

- 517.** - Santhanam L, Christianson DW, Nyhan D, Berkowitz DE. Arginase and vascular aging. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Nov;105(5):1632-42. doi: 10.1152/jappphysiol.90627.2008. Epub 2008 Aug 21.
- 518.** - Pernow J, Jung C. Arginase as a potencial target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal. *Cardiovasc Res*. 2013 Jun 1;98(3):334-43. doi: 10.1093/cvr/cvt036. Epub 2013 Feb 14.
- 519.** - Kampfer H, Pfeilschifter J, Frank S. Expression and activity of arginase isozymes during normal and diabetic-impaired skin repair. *J Invest Dermatol* 2003 Dec;121(6):1544-1551.
- 520.** - Boger RH, Bode-Boger SM. Asymmetric dimethylarginine, derangements of the endothelial nitric oxide synthase pathway, and cardiovascular disease. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(5):539-45.
- 521.** - Berka V, Wu G, Yeh HC, Palmer G, Tsai AL. Three different oxygen-induced radical species in endothelial nitric oxide synthase oxygenase domain under regulation by L - Arginine and tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem*. 2004 Jul 30;279(31):32243-51. Epub 2004 May 27.
- 522.** - Nelin L, Nash H, Chicoine L. Cytokine treatment increases arginine metabolism and uptake in bovine pulmonary artery arterial endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Nov;281(5):L1232-9.
- 523.** - Durante W. Regulation of L - Arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. *Cell Biochem Biophys*. 2001;35(1):19-34.
- 524.** - Jung AS, Kubo H, Wilson RM, Houser SR, Margulies KB. Modulation of contractility by myocyte-derived arginase in normal and hypertrophied feline myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 May;290(5):H1756-62. doi: 10.1152/ajpheart.01104. Epub 2005 Dec 3.
- 525.** - Zea AH, Rodriguez PC, Culotta KS, Hernandez CP, DeSalvo J, Ochoa JB, et al. L - Arginine modulates CD3zeta expression and T cell function in activated human T lymphocytes. *Cell Immunol*. 2004 Nov-Dec;232(1-2):21-31. Epub 2005 Feb 23.

- 526.** - Viola A, Bronte V. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Semin Cancer Biol.* 2007 Aug;17(4):309-16. Epub 2007 Jun 23.
- 527.** - Raber P, Ochoa AC, Rodríguez PC. Metabolism of L - Arginine by myeloid-derived suppressor cells in cancer: mechanisms of T cell suppression and therapeutic perspectives. *Immunol Invest.* 2012;41(6-7):614-34. doi: 10.3109/08820139.2012.680634.
- 528.** - Munder M, Eichmann K, Morán JM, Centeno F, Soler G, Modolell M. Th1/Th2-regulated expression of arginase isoforms in murine macrophages and dendritic cells. *J Immunol.* 1999 Oct 1;163(7):3771-7.
- 529.** - Singh R, Pervin S, Karimi A, Cederbaum S, Chaudhuri G. Arginase activity in human breast cancer cell lines: N(omega)-hydroxy-L - Arginine selectively inhibits cell proliferation and induces apoptosis in MDA-MB-468 cells. *Cancer Res.* 2000 Jun 15;60(12):3305-12.
- 530.** - Schmielau J, Finn OJ. Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of T-cell function in advanced cancer patients. *Cancer Res.* 2001 Jun 15;61(12):4756-60.
- 531.** - Whiteside TL. Down-regulation of zeta-chain expression in T cells: a biomarker of prognosis in cancer?. *Cancer Immunol Immunother.* 2004 Oct; 53(10):865-78. Epub 2004 Apr 29.
- 532.** - Tate DJ, Patterson JR, Velasco-Gonzalez C, Carroll EN, Trinh J, Edwards D, et al. Interferon-gamma-induced nitric oxide inhibits the proliferation of murine renal cell carcinoma cells. *Int J Biol Sci.* 2012 Jan; 8(8):1109-20. Epub 2012 Sep 6.
- 533.** - Serafini P, Borrello I, Bronte V. Myeloid suppressor cells in cancer: recruitment, phenotype, properties, and mechanisms of immune suppression. *Semin Cancer Biol.* 2006 Feb; 16(1):53-65. Epub 2005 Sep 15.
- 534.** - Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immuno suppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol.* 2007;25:267-96.

- 535.** - Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med.* 1999 Dec;5(12):1365-9.
- 536.** - Kryczek I, Wei S, Zou L, Zhu G, Mottram P, Xu H, et al. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J Immunol.* 2006 Jul 1;177(1):40-4.
- 537.** - McHugh RS, Shevach EM. Cutting edge: depletion of CD4+CD25+ regulatory T cells is necessary, but not sufficient, for induction of organ-specific autoimmune disease. *J Immunol.* 2002 Jun 15;168(12):5979-83.
- 538.** - McHugh RS, Shevach EM, Margulies DH, Natarajan K. AT cell receptor transgenic model of severe, spontaneous organ-specific autoimmunity. *Eur J Immunol.* 2001 Jul;31(7):2094-103.
- 539.** - Morris SM. Enzymes of arginine metabolism. *J Nutr.* 2004 Oct; 134(10 Suppl): 2743S-2747S; discussion 2765S- 2767S.
- 540.** - Zea AH, Rodriguez PC, Atkins MB, Hernández, Signoretti S, Zabaleta J, et al. Arginase-producing myeloid suppressor cells in renal cell carcinoma patients: a mechanism of tumor evasion. *Cancer Res.* 2005 Apr 15;65(8):3044-8.
- 541.** - Capuano G, Rigamonti N, Gironi M, Freschi M, Bellone M. Modulators of arginine metabolism support cancer immunosurveillance. *BMC Immunol.* 2009 Jan 9;10:1. doi: 10.1186/1471-2172-10-1.
- 542.** - Schneider E, Dy M. The role of arginase in the immune response. *Immunol Today.* 1985;6(4):136-140. doi: 10.1016 / 0.167-5699 (85) 90081-7559.
- 543.** - Greten TF, Manns MP, Korangy F. Myeloid derived suppressor cells in human diseases. *Int Immunopharmacol.* 2011 Jul;11(7):802-7. doi: 10.1016/j.intimp.2011.01.003. Epub 2011 Jan 13.
- 544.** - Huang B, Pan PY, Li Q, Sato AI, Levy DE, et al. Gr-1+CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. *Cancer Res.* 2006 Jan 15;66(2):1123-31. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-1299.

- 545.** - Raychaudhuri B, Rayman P, Ireland J, Ko J, Rini B, Borden EC, et al. Myeloid-derived suppressor cell accumulation and function in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2011 Jun;13(6):591-9. doi: 10.1093/neuonc/nor042.
- 546.** - Srivastava MK, Zhu L, Harris-White M, Kar UK, Huang M, Johnson MF, et al. Myeloid suppressor cell depletion augments antitumor activity in lung cancer. *PLoS ONE.* [Journal online].2012; [Cited 2012 July 16]; 7(7):e40677. Available from: doi:10.1371/journal.pone.0040677. Epub 2012 Jul 16.
- 547.** - Dolcetti L, Peranzoni E, Ugel S, Marigo I, Fernandez GA, Mesa C, et al. Hierarchy of immunosuppressive strength among myeloid-derived suppressor cell subsets is determined by GM-CSF. *Eur J Immunol.* 2010 Jan;40(1):22-35. doi: 10.1002/eji.200939903.
- 548.** - Solito S, Falisi E, Diaz-Montero CM, Doni A, Pinton L, Rosato A, et al. A human promyelocytic-like population is responsible for the immune suppression mediated by myeloid-derived suppressor cells. *Blood.* 2011 Aug 25;118(8):2254-65. doi: 10.1182/blood-2010-12-325753. Epub 2011 Jul 6.
- 549.** - Youn JI, Collazo M, Shalova IN, Biswas SK, Gabrilovich DI. Characterization of the nature of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *J Leukoc Biol.* 2012 Jan;91(1):167-81. doi: 10.1189/jlb.0311177. Epub 2011 Sep 27.
- 550.** - Umansky V, Sevko A. Tumor microenvironment and myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Microenviron.*2013Aug;6(2):169-77. doi: 10.1007/s12307-012-0126-7. Epub 2012 Dec 16.
- 551.** - Fridlender ZG, Albelda SM. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis.*2012;33(5):949-955. doi:10.1093/carcin/bgs123.
- 552.** - Scott L, Lamb J, Smith S, Wheatley DN. Single amino acid (arginine) deprivation: rapid and selective death of cultured transformed and malignant cells.*Br J Cancer.* 2000; 83(6):800-810. doi:10.1054/bjoc.2000.1353.
- 553.** -Wheatley DN, Campbell E, Lai PBS, Cheng PNM. A rational approach to the systemic treatment of cancer involving medium-term depletion of arginine. *Gene Ther Mol Biol.* 2005; 9:33-40.

- 554.** - Shen LJ, Beloussow K, Shen WC. Modulation of arginine metabolic pathways as the potential anti-tumor mechanism of recombinant arginine deiminase. *Cancer Letters*. 2006 8 Jan; 231(1):30-35.
- 555.** -Ott PA, Carvajal RD, Pandit-Taskar N, Jungbluth AA, Hoffman EW, Wu BW, et al. Phase I/II study of pegylated arginine deiminase (ADI-PEG 20) in patients with advanced melanoma. *Invest New Drugs*. 2013; 31(2):425-434.doi:10.1007/s10637-012-9862-2. Epub 2012 Aug 5.
- 556.** - Delman KA, Brown TD, Thomas M, Ensor CM, Holtsberg FW, Bomalaski JS, et al. Phase I/II trial of pegylated arginine deiminase (ADI-PEG20) in unresectable hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*.2005 June;23(16 suppl 4139).
- 557.** - Cheng PN, Lam TL, Lam WM, Tsui SM, Cheng AW, Lo WH, et al. Pegylated recombinant human arginase (rhArg-peg5,000mw) inhibits the in vitro and in vivo proliferation of human hepatocellular carcinoma through arginine depletion. *Cancer Res*. 2007 Jan1; 67(1):309-17.
- 558.** - Lam TL, Wong GK, Chong HC, Cheng PN, Choi SC, Chow TL, et al. Recombinant human arginase inhibits proliferation of human hepatocellular carcinoma by inducing cell cycle arrest. *Cancer Lett*. 2009 May 8; 277(1):91-100. doi: 10.1016/j.canlet.2008.11.031. Epub 2009 Jan 12.
- 559.** - Bronte V, Kasic T, Gri G, Gallana K, Borsellino G, Marigo I, et al. Boosting antitumor responses of T lymphocytes infiltrating human prostate cancers. *J Exp Med*. 2005 Apr 18; 201(8):1257-68. Epub 2005 Apr 11.
- 560.** - Mumenthaler SM, Yu H, Tze S, Cederbaum SD, Pegg AE, Seligson DB, et al. Expression of arginase II in prostate cancer. *Int J Oncol*. 2008 Feb;32(2):357-65.
- 561.** - Bowles TL, Kim R, Galante J, Parsons CM, Virudachalam S, Kung HJ, et al. Pancreatic cancer cell lines deficient in argininosuccinate synthetase are sensitive to arginine deprivation by arginine deiminase. *Int J Cancer*. 2008 Oct 15; 123(8):1950-5. doi: 10.1002/ijc.23723.
- 562.** - Rodríguez PC, Hernandez CP, Quiceno D, Dubinett SM, Zabaleta J, Ochoa JB, et al. Arginase I in myeloid suppressor cells is induced by COX-2 in lung carcinoma. *J Exp Med*. 2005 Oct 3;202(7):931-9. Epub 2005 Sep 26.

## BIBLIOGRAFÍA

- 563.** - Rodriguez PC, Ernstoff MS, Hernandez C, Atkins M, Zabaleta J, Sierra R, et al. Arginase I-producing myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma are a subpopulation of activated granulocytes. *Cancer Res.* 2009 Feb 15;69(4):1553-60. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1921. Epub 2009 Feb 5.
- 564.** - Viola A, Bronte V. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Semin Cancer Biol.* 2007 Aug;17(4):309-16. Epub 2007 Jun 23.
- 565.** - Reisser D, Onier-cherix N, Jeannin JF. Arginase activity is inhibited by L-NAME, both in vitro and in vivo. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2002 Aug;17(4):267-70.
- 566.** - Durante W, Liao L, Reyna SV, Peyton KJ, Schafer AI. Transforming growth factor-beta (1) stimulates L - Arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells: role in polyamine and collagen synthesis. *Circulation.* 2001 Feb 27;103(8):1121-7.
- 567.** - Marinova GV, Loyaga-Rendon RY, Obayashi S, Ishibashi T, Kubota T, Imamura M, et al. Possible involvement of altered arginase activity, arginase type I and type II expressions, and nitric oxide production in occurrence of intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries. *J Pharmacol Sci.* 2008 Mar;106(3):385-93. Epub 2008 Mar 5.
- 568.** - Durante W, Liao L, Reyna SV, Peyton KJ, Schafer AI. Physiological cyclic stretch directs L - Arginine transport and metabolism to collagen synthesis in vascular smooth muscle. *FASEB J.* 2000 Sep;14(12):1775-83.
- 569.** - Gonon AT, Jung C, Katz A, Westerblad H, Shemyakin A, Sjöquist PO, et al. Local arginase inhibition during early reperfusion mediates cardioprotection via increased nitric oxide production. *PLoS One.* [Journal online] 2012;[Cited 2012 July 31]; 7(7):e42038. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0042038.
- 570.** - Makarenkova VP, Bansal V, Matta BM, Perez LA, Ochoa JB. CD11b+/Gr-1+ myeloid suppressor cells cause T cell dysfunction after traumatic stress. *J Immunol.* 2006 Feb 15;176(4):2085-94.
- 571.** - Efron DT, Barbul A. Modulation of inflammation and immunity by arginine supplements. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1998 Nov;1(6):531-8.

- 572.** - Choi BS, Martinez-Falero IC, Corset C, Munder M, Modolell M, Müller I, et al. Differential impact of L - Arginine deprivation on the activation and effector functions of T cells and macrophages. *J Leukoc Biol.* 2009 Feb;85(2):268-77. doi: 10.1189/jlb.0508310. Epub 2008 Nov 13.
- 573.** - Yoon JK, Frankel AE, Feun LG, Ekmekcioglu S, Kim KB. Arginine deprivation therapy for malignant melanoma. *Clin Pharmacol.* 2013;5:11-9. doi: 10.2147/CPAA.S37350. Epub 2012 Dec 27.
- 574.** - Kono K, Ichihara F, Iizuka H, Sekikawa T, Matsumoto Y. Expression of signal transducing T-cell receptor zeta molecules after adoptive immunotherapy in patients with gastric and colon cancer. *Int J Cancer.* 1998 Oct 29;78(3):301-5.
- 575.** - Perez-Roger I, Kim SH, Griffiths B, Sewing A, Land H. Cyclins D1 and D2 mediate myc-induced proliferation via sequestration of p27 (Kip1) and p21 (Cip1). *EMBO J.* 1999 Oct 1;18(19):5310-20.
- 576.** - Verrey F, Closs EI, Wagner CA, Palacin M, Endou H, Kanai Y. CATs and HATs: the SLC7 family of amino acid transporters. *Pflugers Arch.* 2004 Feb;447(5):532-42. Epub 2003 Jun 11.
- 577.** - Kaneko S, Ando A, Okuda-Ashitaka E, Maeda M, Furuta K, Suzuki M, et al. Ornithine transport via cationic amino acid transporter-1 is involved in ornithine cytotoxicity in retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Jan;48(1):464-71.
- 578.** - Mazzoni A, Bronte V, Visintin A, Spitzer JH, Apolloni E, Serafini P, et al. Myeloid suppressor lines inhibit T cell responses by an NO-dependent mechanism. *J Immunol.* [Journal online]. 2002; [Cited 2015 April 15]; 168:689-695. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/168/2/689>.
- 579.** - Ciszak L, Kosmaczewska A, Werynska B, Szteblich A, Jankowska R, Frydecka I. Impaired zeta chain expression and IFN-gamma production in peripheral blood T and NK cells of patients with advanced lung cancer. *Oncol Rep.* 2009 Jan;21(1):173-84.
- 580.** - Rotondo R, Barisione G, Mastracci L, Grossi F, Orengo AM, Costa R, et al. IL-8 induces exocytosis of arginase 1 by neutrophil polymorphonuclears in nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer.* 2009 Aug 15;125(4):887-93. doi: 10.1002/ijc.24448.



- 581.** - Gannon PO, Godin-Ethier J, Hassler M, Delvoye N, Aversa M, Poisson AO, et al. Androgen-regulated expression of arginase 1, arginase 2 and interleukin-8 in human prostate cancer. *PLoS One*. [Journal on line ]. 2010; [Cited 2010 Aug 11]; 5(8):e12107. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0012107.
- 582.** -Gianotti L, Braga M, Nespoli L, Radaelli G, Beneduce A, Di Carlo V.A randomized controlled trial of preoperative oral supplementation with a specialized diet in patients with gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*. 2002 Jun;122(7):1763-70.
- 583.** - Braga M, Gianotti L, Radaelli G, Vignali A, Mari G, Gentilini O, et al. Perioperative immunonutrition in patients undergoing cancer surgery: results of a randomized double-blind phase 3 trial. *Arch. Surg* 1999 apr;134(4):428-33.
- 584.** - Wilmore D. Enteral and parenteral arginine supplementation to improve medical outcomes in hospitalized patients. *J Nutr*. 2004 Oct;134(10 Suppl):2863S-2867S; discussion 2895S.
- 585.** - Heyland DK. Nutritional support in the critically ill patients. A critical review of the evidence. *Crit Care Clin*. 1998 Jul;14(3):423-40.
- 586.** - Kang K, Shu XL, Zhong JX, Yu TT. Effect of L - Arginine on immune function: a meta-analysis. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2014;23(3):351-9. doi: 10.6133/apjcn.2014.23.3.09.
- 587.** - Brenner T, Fleming TH, Rosenhagen C, Krauser U, Mieth M, Bruckner T, et al. L - Arginine and asymmetric dimethylarginine are early predictors for survival in septic patients with acute liver failure. *Mediators of Inflammation*. [Journal online].2012; [Cited 2012 Feb 13]; 2012(2012): Article ID210454. Pages 11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/210454>.
- 588.** - Lamas B, Vergnaud-Gauduchon J, Gonçalves Mendes-N, Perche O, Rossary A, Vasson MP, et al. Altered functions of natural killer cells in response to L - Arginine availability. *Cell Immunol*. 2012 Dec; 280(2):182-90. doi: 10.1016 / j.cellimm.2012.11.018. Epub 2012 Dec 19.
- 589.** - Nieves C, Langkamp-Henken B. Arginine and immunity: a unique perspective. *Biomed Pharmacother*. 2002 Dec;56(10):471-82.

- 590.** - Rochette L, Lorin J, Zeller M, Guillard JC, Lorgis L, Cottin Y, et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: possible therapeutic targets?. *Pharmacol Ther.* 2013 Dec; 140 (3): 239-57. doi: 10.1016 / j.pharmthera.2013.07.004. Epub 2013 Jul 13.
- 591.** - Ochoa JB, Udekwu AO, Billiar TR, Curran RD, Cerra FB, Simmons RL, et al. Nitrogen oxide levels in patients after trauma and during sepsis. *Ann Surg.* 1991 Nov;214(5):621-6.
- 592.** - Senju O, Takagi Y, Gomi K. The quantitative determination of CRP by latex agglutination photometric assay. *Jap J Clin Lab Automation.* 1983;8:161-165.
- 593.** - Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 2000;102:2165-2168. doi: 10.1161/01.CIR.102.18.2165.
- 594.** - Perry JE, Muehlschlegel JD, Liu KY, Fox AA, Collard CD, Body SC, et al. Preoperative C-reactive Protein predicts Long-term Mortality and Hospital Length of Stay after Primary, Nonemergent Coronary Artery Bypass Grafting for the CABG Genomics investigators. *Anesthesiology.* 2010 Mar;112(3):607-13. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181cea3b5.
- 595.** - Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation.* 2003; 107:363-369. doi: 10.1161/01.CIR.0000053730.47739.3C.
- 596.** - Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men. Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation.* 1999; 99: 237-242 doi: 10.1161/01.CIR.99.2.237.
- 597.** - Cappabianca G, Paparella D, Visicchio G, Capone G, Lionetti G, Numis F, et al. Preoperative C-reactive protein predicts mid-term outcome after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg.* 2006 Dec;82(6):2170-8.

- 598.** - Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation*. 1998 Aug 25;98(8):731-3.
599. -Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: A TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol*. 1998 Jun;31(7):1460-5.
- 600.** - Kangasniemi OP, Biancari F, Luukkonen J, Vuorisalo S, Satta J, Pokela R, et al. Preoperative C-reactive protein is predictive of long-term outcome after coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Jun;29(6):983-5. Epub 2006 May 8.
601. - Palmerini T, Marzocchi A, Marrozzini C, Reggiani LB, Savini C, Marinelli G, et al. Preoperative C-reactive protein levels predict 9-month mortality after coronary artery bypass grafting surgery for the treatment of left main coronary artery stenosis. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;31(4):685-690. doi:10.1016/j.ejcts.2006.12.029.
- 602.** - Milazo D, Biassuci LM, Luciani N, Martinelli L, Canosa C, Schiavello R, et al. Elevated Levels of Proteina C Reactiva Before Coronary Artery Bypass Grafting Predict Recurrence of Ischemic Events. *Am J Cardiol*. 1999 Aug 15;84:459-461.
- 603.** - Gaudino M, Nasso G, Andreotti F, Minniti G, Iacoviello L, Donati MB, et al. Preoperative C-reactive protein level and outcome following cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002;22(4):521-526. doi:10.1016/S1010-7940(02)00436-0.
- 604.** - Yamashita, H., Shimada, K., Seki, E., Mokuno, H., and Daida H. Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 2003 Jan 15;91(2):133-6.
- 605.** - Palomero-Rodríguez MA, Mollinedo F, Sánchez-Conde MP, García-Navas R, Laporta-Baez Y, Suarez- Gonzalo L. CD3 $\zeta$  expression and arginase activity after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *European Journal of Anaesthesiology* 2011 Jun; 28Suppl48:176.

- 606.** - Fransen EJ, Maessen JG, Elenbaas TW, van Aarnhem EE, van Dieijen-Visser MP. Increased preoperative C-reactive protein plasma levels as risk factor for post-operative infections. *Ann Thorac Surg.* 1999 Jan;67(1):134-8.
- 607.** - Biancari F, Lahtinen J, Lepojärvi S, Rainio P, Salmela E, Pokela R, et al. Preoperative C-reactive protein and outcome after coronary artery bypass. *Ann Surg Thorac.* 2003 Dec;76 (6):2007-12.
- 608.** - Meduri GU, Kanangat S, Stefan J, Tolley E, Schaberg D. Cytokines IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha enhance in vitro growth of bacteria. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Sep;160(3):961-7.
- 609.** - Meduri, G.U. Clinical review: a paradigm shift: the bidirectional effect of inflammation on bacterial growth (Clinical implications for patients with acute respiratory distress syndrome). *Crit Care.* 2002; 6(1):24-29.
- 610.** - Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, and Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: part I. *Circulation.* 2003;108:1917-1923. doi: 10.1161/01.CIR.0000089190.95415.9F.
- 611.** - Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2003 Jan 28;107(3):398-404.
- 612.** - Walter DH, Fichtlscherer S, Britten MB, Rosin P, Auch-Schwelk W, Schächinger V, et al. Statin therapy, inflammation and recurrent coronary events in patients following coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Dec;38(7):2006-12.
- 613.** - Clark LL, Ikonomidis JS, Crawford FA, Crumbley A, Kratz JM, Stroud MR, et al. Preoperative statin treatment is associated with reduced postoperative mortality and morbidity in patients undergoing cardiac surgery: an 8-year retrospective cohort study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006 Mar;131(3):679-85.
- 614.** - Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. N Engl J Med. 1994 Aug 18; 331(7):417-24. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med.* 1994 Aug 18;331(7):417-24.

## BIBLIOGRAFÍA

- 615.** - Pribis JP, Zhu X, Vodovotz Y, Ochoa JB. Systemic Arginine Depletion After a Murine Model of Surgery or Trauma. *J PEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012 Jan;36(1):53-9. doi: 10.1177/0148607111414579. Epub 2011 Dec 16.
- 616.** - Kilger E, Pichler B, Goetz AE, Rank N, Welte M, Mörstedt K, et al. Procalcitonin as a marker of systemic inflammation after conventional or minimally invasive coronary artery bypass grafting. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1998 Jun;46(3):130-3.
- 617.** - Wilcox ME, Charbonney E, d'Empaire PP, Duggal A, Pinto R, Javid A, et al. Oral neutrophils are an independent marker of the systemic inflammatory response after cardiac bypass. *J Inflamm (Lond).* 2014 Oct 18;11(1):32. doi: 10.1186/s12950-014-0032-5. eCollection 2014.



**ANEXOS**





**ANEXO 1. Documento de consulta preanestésica**

N.º Historia:

Edad:

Apellidos:

Nombre:

Servicio:

**SERVICIO DE ANESTESIOLOGÍA Y TERAPÉUTICA DEL DOLOR****DIAGNÓSTICO:****INTERVENCIÓN:****ANTECEDENTES:**

Hábitos:

Alergias:

**MEDICACIÓN ÚLTIMOS 6 MESES:****EXPLORACIÓN FÍSICA Y CONSTANTES:**

T. A.:

Peso:

Red venosa:

Intubación:

**ANALÍTICA Y PRUEBAS COMPLEMENTARIAS:**

Hto:

Gluc:

Cl:

TP:

pH:

CO<sub>2</sub>H:

Hb:

Urea:

Na:

TCK:

pO<sub>2</sub>:

BE:

Plq:

Creat:

K:

Fbr:

pCO<sub>2</sub>:SaO<sub>2</sub>:

Leu:

Prot:

Ca:

ECG:

Rx Tórax:

Otras:

**CONSIDERACIONES PREANESTÉSICAS:**

- Continuar con el tto. hasta la mañana de la I. Q. inclusive.
- Tranxilium 5 mg. v. o. la víspera de la I. Q. por la noche.

**A. S. A.:****DECISIÓN ANTE LA INTERVENCIÓN:**

Fecha:

**ANESTESIOLOGO**



ANEXOS

I.	R.	P.Y.T.A.	1ª h.	2ª h.	3ª h.	4ª h.	5ª h.
	45	180					
	41° C	40	150				
	40° C	35	140				
	39° C	30	120				
	38° C	25	100				
	37° C	20	80				
	36° C	15	60				
	35° C	10	40				
	5	20					



**ANEXO 4. Abreviaturas utilizadas en el texto**

<b>AARE</b>	Elementos de respuesta de aminoácidos.
<b>ACTH</b>	Hormona Adreno Corticotropa.
<b>ACV</b>	Accidente Cerebro Vascular.
<b>ADC</b>	Arginina Decarboxilasa.
<b>ADI</b>	Arginina Deiminasa.
<b>ADMA</b>	Dimetil Arginina Asimétrica.
<b>ADP</b>	Adenosin Difosfato.
<b>ADI-PEG</b>	Arginina Deiminasa Pegilado.
<b>ADS</b>	Síndrome de Deficiencia de L-Arg.
<b>AEEM</b>	Agencia Europea de Evaluación del Medicamento.
<b>AGAT</b>	L-Arginina Glicina Amidino Transferasa
<b>AINEs</b>	Antiinflamatorios No Esteroides.
<b>AIT</b>	Accidente isquémico transitorio.
<b>AIR</b>	Autofagia inducida por el receptor.
<b>ALI</b>	Lesión pulmonar aguda.
<b>AMC</b>	Autofagia mediada por chaperonas.
<b>AMPc</b>	Adenosín Monofosfato cíclico.
<b>AMPK</b>	Proteína Quinasa Activada por AMP.
<b>APCs</b>	Células Presentadoras de Antígenos.
<b>Ape1</b>	Aminopeptidasa 1.
<b>ARG</b>	Arginasa.
<b>ARN</b>	Acido Ribonucléico.
<b>ASL</b>	Argininosuccinato liasa
<b>ASS</b>	Arginosuccinato sintetasa
<b>ATF4</b>	Factor de transcripción activador 4.
<b>ATF-6</b>	Factor de transcripción activador 6.
<b>3-MA</b>	3-Metiladenina.
<b>Atg</b>	Autofagia.
<b>ATP</b>	Adenosin Trifosfato.
<b>BIS</b>	Índice Biespectral.
<b>BSA</b>	Albúmina estándar bovina.
<b>CABG</b>	Cirugía de revascularización coronaria con bomba de CEC.
<b>CARS</b>	Síndrome de respuesta antiinflamatoria compensada.
<b>CAT2B</b>	Proteína Transportadora de Aminoácidos Catiónicos 2B.
<b>CD</b>	Cluster de Diferenciación.
<b>CDNA</b>	DNA complementario.
<b>CD3ζ</b>	Cadena ζ del CD3.

<b>CDK</b>	Quinasa Dependiente de Ciclina.
<b>CDK4</b>	Quinasa Dependiente de Ciclina 4.
<b>CEC</b>	Circulación Extracorpórea
<b>CHOP</b>	Factor de transcripción.
<b>CMI</b>	Inmunidad mediada por células.
<b>CPB</b>	Bypass cardiopulmonar.
<b>CRM</b>	Revascularización coronaria convencional.
<b>COX-1</b>	Ciclooxigenasa Constitutiva-1.
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenasa Constitutiva-2.
<b>CPS-1</b>	Carbamil Fosfato Sintetasa – 1.
<b>CQ</b>	Cloroquina.
<b>DAG</b>	Diacilglicerol.
<b>DDAH</b>	Dimetil-L-arginina-dimetil-amino-hidrolasa.
<b>DDS</b>	Decontaminación digestiva selectiva.
<b>DFMO</b>	$\alpha$ - Difluor Metil Ornitina.
<b>Deptor</b>	DEP-domain containing mTOR-interacting protein.
<b>DMA</b>	Dimetil Arginina.
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido.
<b>DNA</b>	Acido Desoxirribonucleico.
<b>dNTP</b>	Deoxinucleótido Trifosfato.
<b>Dominio ITAM</b>	Inmunoreceptor tyrosine-based activation motif.
<b>ECG</b>	Electrocardiograma.
<b>eNOS</b>	Oxido Nítrico Sintetasa endotelial.
<b>eIF2<math>\alpha</math></b>	Subunidad 1 Factor 2 $\alpha$ de iniciación eucariótico.
<b>EPOC</b>	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
<b>EPT-N</b>	Extracto de proteínas totales de neutrófilos.
<b>ETCO<sub>2</sub></b>	Fracción espirada de CO <sub>2</sub> .
<b>FA</b>	Fibrilación auricular.
<b>FC</b>	Frecuencia cardíaca.
<b>FAD</b>	Dinucleótido Flavín Adenina..
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration.
<b>FeO<sub>2</sub></b>	Fracción espirada de O <sub>2</sub> .
<b>FEVI</b>	FE del VI.
<b>FiO<sub>2</sub></b>	Fracción inspirada de O <sub>2</sub> .
<b>FMN</b>	Mononucleótido de Flavina.
<b>FR</b>	Frecuencia respiratoria.
<b>FT</b>	Factor Tisular.
<b>FvW</b>	Factor Von Willebrand.
<b>GAP</b>	Proteína de activación de la GTP asa.

ANEXOS

<b>GC</b>	Gasto cardíaco.
<b>GCN2</b>	General control nonrepressed-2.
<b>GCN4</b>	General control nonrepressed-4.
<b>GDP</b>	Guanosina Difosfato.
<b>G-CSF</b>	Factor estimulante de colonias de granulocitos.
<b>GM-CSF</b>	Factor estimulante de colonias de granulocitos monocitos.
<b>GMPC</b>	Guanosil Monofosfato cíclico.
<b>Gr-1</b>	Célula Supresora Mieloide Inmadura.
<b>GST</b>	Glutation-S-Transferasa.
<b>Hct</b>	Hematocrito.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de Hidrógeno; agua oxigenada.
<b>HCC</b>	Círculo de Circulación extracorpórea recubierto de Heparina.
<b>CHC</b>	Cáncer Hepatocelular Humano.
<b>HIS</b>	Grupo de Alto Estado Inflamatorio
<b>HK</b>	Quininógeno de alto peso molecular.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de Hidrógeno. Agua oxigenada.
<b>HPA</b>	Sistema Hipotálamo Hipófisis Adrenal.
<b>HTA</b>	Hipertensión Arterial
<b>HUVEC</b>	Célula endotelial de vena umbilical humana
<b>HVI</b>	Hipertrofia del Ventrículo Izquierdo.
<b>IAM</b>	Infarto Agudo de Miocardio.
<b>IC</b>	Índice Cardíaco.
<b>ICAM 1</b>	Molécula de adhesión intracelular 1.
<b>ICAM 2</b>	Molécula de adhesión intracelular 2.
<b>IC50</b>	Concentración que inhibe el 50% de crecimiento.
<b>IC 80</b>	Concentración que inhibe el 80% de crecimiento.
<b>ICC</b>	Insuficiencia cardíaca congestiva.
<b>IDO</b>	Indolamina Dioxigenasa.
<b>I:E</b>	Relación I:E.
<b>IECA</b>	Inhibidor del Enzima Conversor de la Angiotensina.
<b>IFN-γ</b>	Interferon -γ.
<b>IGF-1</b>	Factor de Crecimiento Insulina like.
<b>Ig</b>	Inmunoglobulina.
<b>IL</b>	Interleuquina.
<b>IL-1ra</b>	Antagonista del receptor de IL-1.
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal.
<b>iMC</b>	Células mieloides inmaduras.
<b>IMD</b>	Dieta inmunomoduladora.
<b>iNOS</b>	Óxido Nítrico Sintetasa inducible.

<b>IMPasa</b>	Inositol monofosfatasa.
<b>IP</b>	Inmunoprecipitación.
<b>IPPasa</b>	Inositol polifosfato 1 fosfatasa.
<b>IP3R</b>	Inositol 1, 4, 5-trifosfato receptor.
<b>IRE1</b>	Inositol que requiere la proteína 1.
<b>IRA</b>	Insuficiencia Respiratoria Aguda.
<b>IR</b>	Insuficiencia Renal.
<b>I/R</b>	Isquemia-Reperfusión.
<b>ITAM</b>	Immunoreceptor tyrosine-based activation motif.
<b>ITL</b>	Linfocitos infiltrantes del tumor.
<b>kDa</b>	Kilodalton.
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de Baja Densidad.
<b>LAMP</b>	Proteína de Membrana Asociada al Lisosoma
<b>LLA</b>	Leucemia Linfática Aguda
<b>L-NAME</b>	L-N <sup>o</sup> Nitro-L-Arginina Metil-Ester.
<b>L-NIL</b>	Inhibidora de iNOS.
<b>L-Norvalina</b>	Inhibidor de ARG.
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido.
<b>LVmasa</b>	Masa del ventrículo izquierdo.
<b>MAC</b>	Complejo de ataque de membrana.
<b>MBL</b>	Activación del complemento por la vía de la Manosa unida a la Lectina.
<b>MCH</b>	Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
<b>MECC</b>	Minicirculación Extracorpórea.
<b>MDSCs</b>	Células Supresoras Mieloides Derivadas.
<b>MIDCAB</b>	Derivación mínimamente invasiva directa de arteria coronaria.
<b>MNC</b>	Células Mononucleares Periféricas.
<b>MODS</b>	Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple.
<b>MOFS</b>	Síndrome de Fallo Orgánico Múltiple.
<b>MSC</b>	Célula Supresora Mieloide.
<b>mTOR</b>	Objetivo de la Rapamicina en mamíferos.
<b>mTORC1</b>	Objetivo de la Rapamicina en mamíferos complejo 1.
<b>mTORC2</b>	Objetivo de la Rapamicina en mamíferos complejo 2.
<b>MUF</b>	Ultrafiltración Modificada.
<b>NADP</b>	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato.
<b>Ni NOHA</b>	NI-N-Hidroxi-L-Arginina.
<b>NK</b>	Célula Natural killer.
<b>nNOS</b>	Óxido Nítrico Sintetasa neural.
<b>NO</b>	Óxido Nítrico.
<b>NOHA</b>	N <sup>G</sup> -Hidroxi-L-Arginina.



ANEXOS

<b>Nor- NOHA</b>	N-hidroxi -nor-L- L- Arginina.
<b>NOS</b>	Óxido Nítrico Sintetasa.
<b>OAT</b>	Ornitina Aminotransferasa.
<b>ODC</b>	Ornitina Decarboxilasa.
<b>ONCABG</b>	Cirugía de revascularización coronaria con bomba de CEC.
<b>OPCABG</b>	Cirugía de revascularización coronaria sin bomba de CEC.
<b>OTC</b>	Ornitina TransCarbamilasa.
<b>OxLDL</b>	Lipoproteína de Baja Densidad Oxidada.
<b>PAI</b>	Presión de Aurícula Izquierda.
<b>PAI-1</b>	Inhibidor del Activador del Plasminógeno-1.
<b>PDF</b>	Productos de Degradación de la Fibrina.
<b>PEG-ADI</b>	Arginina Deiminasa Pegilado.
<b>Pb</b>	Pares de bases.
<b>PCR</b>	Proteína C Reactiva.
<b>PCT</b>	Procalcitonina.
<b>PKC</b>	Proteína Quinasa C.
<b>Pmes</b>	Presión meseta de vía aérea.
<b>PMNs</b>	Polimorfos nucleares neutrófilos.
<b>Ppk</b>	Presión pico de vía aérea.
<b>PRMT</b>	Proteína Arginina Metil Transferasa.
<b>PRMT 6</b>	Proteína Arginina Metil Transferasa 6.
<b>PTEN</b>	Supresor tumoral.
<b>PTX</b>	Pentoxifilina.
<b>PVC</b>	Presión Venosa Central.
<b>PI3K</b>	Fosfatidil Inositol 3 Kinasa.
<b>P59<sup>fyn</sup></b>	Proteína Tirosina Quinasa.
<b>P<sub>y</sub>56<sup>lck</sup></b>	Proteína Tirosina Quinasa.
<b>rh ARG</b>	Arginasa humana recombinante.
<b>rh ARG-PEG</b>	Arginasa humana recombinante Pegilado.
<b>rh ARG-PEG I</b>	Arginasa humana recombinante Pegilado I.
<b>RE</b>	Retículo Endoplásmico.
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico.
<b>ROS</b>	Especies Reactivas de Oxígeno.
<b>Rpm</b>	Revoluciones por minuto.
<b>RVS</b>	Resistencias Vasculares Sistémicas.
<b>RVP</b>	Resistencias Vasculares Pulmonares.
<b>SAS</b>	Sistema Simpático adrenal.
<b>SDRA</b>	Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo.
<b>SDMA</b>	Dimetil Arginina Simétrica.

<b>SFB</b>	Suero fetal bovino.
<b>SENPE</b>	Sociedad Europea de Nutrición Enteral y Parenteral.
<b>SIRS</b>	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.
<b>SLAP</b>	Src-like adaptor protein.
<b>STAT</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción.
<b>STAT 3</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción 3.
<b>SOD</b>	Enzima Superóxido Dismutasa.
<b>TAD</b>	Tensión arterial diastólica.
<b>TAI</b>	Tensión arterial invasiva.
<b>TAM</b>	Tensión arterial media.
<b>TAS</b>	Tensión arterial sistólica.
<b>TAN</b>	Neutrófilos asociados a tumores.
<b>TCR</b>	Receptor de célula T.
<b>TCR/CD3</b>	Complejo Receptor de célula T.
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Factor de Crecimiento Transformante - $\beta$ .
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$ .
<b>TCA</b>	Tiempo de Coagulación Activado.
<b>Th1</b>	Linfocitos T helper 1.
<b>Th2</b>	Linfocitos T helper 2.
<b>TIL</b>	Linfocitos Infiltrantes del Tumor específicos de antígeno.
<b>TM</b>	Domimio Transmembrana.
<b>t-PA</b>	Activador tisular del Plasminógeno.
<b>TRALI</b>	Lesión Pulmonar Aguda Relacionada con la transfusión.
<b>Treg</b>	Linfocitos T reguladores.
<b>UF</b>	Ultrafiltración Convencional.
<b>VEGF</b>	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular.
<b>Vt</b>	Volúmen tidal.
<b>ZAP70</b>	Cadena Zeta asociada a la proteína kinasa de 70 kDa.

**ANEXO 5. Leyenda de Tablas**

Tabla 1	Isoformas de las dos principales vías de metabolización de la ARG.	p. 108
Tabla 2	Ejemplos de alteraciones en el metabolismo de L-Arg asociadas a enfermedades tumorales.	p. 143
Tabla 3	Condición de la enfermedad y deficiencia de arginina.	p. 160
Tabla 4	Descriptivos de la edad del total y por sexo.	p. 188
Tabla 5	Descriptivos ARG.	p. 189
Tabla 6	Datos atípicos de la ARG.	p. 191
Tabla 7	Descriptivo del resto de variables.	p. 192
Tabla 8	Rangos medios de variables que aumentan sus niveles.	p. 196
Tabla 9	Prueba de Friedman para las variables que aumentan sus niveles.	p. 196
Tabla 10	Rangos medios de variables que disminuyen sus niveles.	p. 196
Tabla 11	Prueba de Friedman para las variables que disminuyen sus niveles.	p. 197
Tabla 12	Tabla de doble entrada para el NYHA y el ASA.	p. 198
Tabla 13	Descriptivos del EUROSCORE.	p. 198
Tabla 14	Valores atípicos del Euroscore.	p. 198
Tabla 15	Descriptivos del Euroscore según valores del ASA.	p. 199
Tabla 16	Rangos medios del Euroscores según los valores del ASA.	p. 200
Tabla 17	Descriptivos del Euroscore según valores del NYHA.	p. 201
Tabla 18	Rangos medios del Euroscores según los valores del NYHA.	p. 202
Tabla 19	Resumen del modelo.	p. 204
Tabla 20	Correlaciones de ARG a las 24 horas con todas las variables en el preoperatorio.	p. 206
Tabla 21	Modelos que relacionan ARG a las 24 horas con variables del preoperatorio.	p. 207
Tabla 22	Rangos medios del Euroscores según la variable “arginasa24alta”.	p. 209
Tabla 23	Descriptivos de tiempo de clampaje y de tiempo de circulación extracorpórea.	p. 210
Tabla 24	Descriptivos de tiempo de clampaje y tiempo de CEC según SIRS.	p. 213
Tabla 25	Rangos medios de la PCR en el preoperatorio según la variable “Hay complicaciones”.	p. 215
Tabla 26	Media, intervalos de confianza y medianas de la PCR 0 según nº de complicaciones.	p. 218
Tabla 27	Rangos medios de la PCR0 según la variable “Hay 2 o más complicaciones”.	p. 218
Tabla 28	Rangos medios de la PCR O según el SIRS.	p. 219

Tabla 29	Coeficientes del modelo.	p. 222
Tabla 30	Coeficientes del modelo.	p. 227
Tabla 31	Correlaciones de ARG y PCR en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 234
Tabla 32	Matriz de correlaciones.	p. 238
Tabla 33	Conglomerados.	p. 238
Tabla 34	Frecuencia de la variable inflamación.	p. 240
Tabla 35	Prueba de U de Mann-Whitney.	p. 241
Tabla 36	Prueba de Prueba de U de Mann-Whitney.	p. 242
Tabla 37	Rangos medios del CD3 $\zeta$ según ciudad.	p. 244
Tabla 38	Tabla de contingencia de SIRS variable “modelo de linfocitos”.	p. 247
Tabla 39	Rangos medios de ARG según la variable “Hay complicaciones”.	p. 249
Tabla 40	Prueba U de Mann-Whitney.	p. 249
Tabla 41	Descriptivo de las variables tiempo.	p. 250
Tabla 42	Frecuencia tiempo en UCI.	p. 250
Tabla 43	Rangos medios de ARG preoperatorio según tiempo en UCI.	p. 251
Tabla 44	Rangos medios de ARG24 según tiempo en UCI.	p. 251
Tabla 45	Rangos medios de ARG 48 según tiempo en UCI.	p. 252
Tabla 46	Rangos medios de ARG 72 según tiempo en UCI.	p. 252
Tabla 47	Frecuencia tiempo hospitalización.	p. 253
Tabla 48	Correlación lineal entre tiempo en UCI y tiempo de hospitalización.	p. 254
Tabla 49	Rangos medios de ARG 72 según variable “Más tiempo hospitalizados”.	p. 254

**ANEXO 6. Leyenda de figuras**


Figura 1	Secuencia de hechos por los que la CEC puede conducir a desarrollar el Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).	p. 24
Figura 2	Componentes de la respuesta inflamatoria a la CEC.	p. 27
Figura 3	Activación del sistema contacto por la circulación extracorpórea.	p. 28
Figura 4	Vías de activación del complemento.	p. 31
Figura 5	Activación del complemento en el CPB principalmente por la vía alterna	p. 32
Figura 6	La cascada de las citoquinas.	p. 34
Figura 7	Efectos beneficiosos y perjudiciales de la respuesta inflamatoria a la cirugía cardíaca.	p. 63
Figura 8	Modelo de activación de la inmunidad celular.	p. 69
Figura 9	Complejo TCR: TCR cadena $\alpha$ + TCR cadena $\beta$ + CD3 $\gamma$ + cadena $\zeta\zeta$ .	p. 92
Figura 10	Representación esquemática del complejo TCR/CD3 de la células T.	p. 93
Figura 11	Componentes del complejo TCR y CD3 y su relación con la membrana celular.	p. 94
Figura 12	Vías metabólicas de la L - Arg.	p. 101
Figura 13	Metabolismo de la L - Arg.	p.102
Figura 14	Respuesta Th1 y Th2. Metabolismo de la L-Arginina. (NOS, ARG, AGAT y ADC).	p. 104
Figura 15	Estructura de la ARG.	p. 105
Figura 16	El ciclo de la urea.	p. 106
Figura 17	Reacción de la ARG.	p. 108
Figura 18	Acción de los perfiles de citoquinas Th1 y Th2 sobre el tipo de metabolismo de L – Arg y su relación con la activación de los macrófagos.	p. 118
Figura 19	Efectos anti-aterogénicos del NO al inhibir la hiperpermeabilidad endotelial.	p. 139
Figura 20	Disfunción de las células T inducida por ARG1.	p. 151
Figura 21	Vías involucradas en la activación de las MDSC.	p. 160
Figura 22	La relación entre la actividad de la ARGINASA y NO Sintetasa.	p. 161
Figura 23	Efectos del NO y ROS en la inflamación.	p. 169
Figura 24	Diagrama de cajas de ARG en los 4 momentos temporales.	p. 190
Figura 25	Diagrama de cajas de leucocitos en los 4 momentos temporales.	p. 193
Figura 26	Diagrama de cajas de procalcitonina y al lado diagrama de cajas de la PCR en los 4 momentos temporales.	p. 193
Figura 27	Diagrama de cajas de la procalcitonina y al lado diagrama de cajas de la CD3 $\zeta$ en los 4 momentos temporales.	p. 194
Figura 28	Diagrama de cajas de los linfocitos, al lado diagrama de cajas de las plaquetas CD3 $\zeta$ y debajo el diagrama de cajas del lactato todos ellos en los 4 momentos temporales.	p. 195

Figura 29	Diagrama de cajas del Euroscore.	p. 199
Figura 30	Diagrama de cajas del Euroscore según los valores del ASA.	p. 200
Figura 31	Diagrama de cajas del Euroscore según los valores del NYHA.	p. 201
Figura 32	Diagrama de dispersión de Euroscores con ARG y modelos logarítmicos.	p. 203
Figura 33	Diagrama del cajas de los residuos del modelo logarítmico.	p. 204
Figura 34	Diagrama de dispersión de los residuos con valores ajustados de ARG.	p. 205
Figura 35	Diagramas de cajas del Euroscore según los valores de ASA y NYHA.	p. 205
Figura 36	Diagrama de dispersión de leucocitos preoperatorio y ARG a las 24 horas.	p. 208
Figura 37	Diagrama de dispersión de plaquetas preoperatorio y ARG a las 24 horas.	p. 208
Figura 38	Diagrama de cajas de ARG a las 24 horas según la variable “arginasa24alta”	p. 208
Figura 39	Diagrama de cajas de Euroscore a las 24 horas según la variable “arginasa24alta”.	p. 209
Figura 40	Diagrama de dispersión del tiempo de clampaje con tiempo de circulación extracorpórea.	p. 211
Figura 41	Diagrama de dispersión de tiempo de circulación extracorpórea con ARG a las 24 horas.	p. 212
Figura 42	Diagrama de cajas de los tiempos según SIRS.	p. 213
Figura 43	Histograma de la PCR en el preoperatorio.	p. 214
Figura 44	Diagrama de cajas de la PCR 0 según la variable “Hay complicaciones”.	p. 215
Figura 45	Diagrama de cajas de la PCR 0 según la variable “Hay complicaciones”, sin atípicos.	p. 216
Figura 46	Diagrama de líneas de las medianas del PCR 0 según la variable “Hay 2 o más complicaciones”.	p. 217
Figura 47	Diagrama de cajas de la PCR 0 según el SIRS.	p. 219
Figura 48	Gráfico de dispersión de L – Arg con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 220
Figura 49	Gráfico de dispersión de L – Arg con ARG a las 24 horas con modelo inverso en el segundo se prescinde del dato atípico.	p. 221
Figura 50	Gráfico de dispersión del CD3 $\zeta$ con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 223
Figura 51	Gráfico de dispersión del CD3 $\zeta$ con ARG a las 24 horas con dos modelos lineales que definen dos grupos.	p. 223
Figura 52	Diagrama de cajas de ARG según los grupos definidos por el CD3 $\zeta$ .	p. 225
Figura 53	Gráfico de dispersión de leucocitos con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 225
Figura 54	Gráfico de dispersión de leucocitos con ARG a las 24 horas con recta de regresión.	p. 226
Figura 55	Gráfico de dispersión de linfocitos con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 227
Figura 56	Gráfico de dispersión de linfocitos con ARG a las 24 horas con modelo inverso.	p. 228
Figura 57	Gráfico de dispersión de plaquetas con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 228

ANEXOS

Figura 58	Gráfico de dispersión de plaquetas con ARG a las 24 horas con modelo inverso y modelo lineal.	p. 229
Figura 59	Gráfico de dispersión del lactato con ARG a las 24 horas con dos modelos lineales que definen dos grupos.	p. 230
Figura 60	Diagrama de cajas de ARG según los grupos definidos por el lactato en los 4 momentos temporales.	p. 231
Figura 61	Gráfico de dispersión de la procalcitonina con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 232
Figura 62	Gráfico de dispersión de la procalcitonina con ARG a las 24 horas con modelo lineal.	p. 233
Figura 63	Gráfico de dispersión de la PCR con ARG en el preoperatorio y a las 24 horas.	p. 234
Figura 64	Gráfico de dispersión de la PCR con ARG a las 24 horas con modelo cúbico.	p. 235
Figura 65	Gráfico de dispersión, comparando evolución PCR – ARG preoperatorio con 24 horas.	p. 236
Figura 66	Diagrama de cajas de la ARG según la variable SIRS.	p. 237
Figura 67	Dendograma de agrupación.	p. 239
Figura 68	Diagrama de dispersión de leucocitos con PCR a las 24 horas de la intervención.	p. 240
Figura 69	Diagrama de cajas de la ARG según la variable “inflamación” en los 4 momentos temporales.	p. 242
Figura 70	Diagrama de cajas de la PCR según la variable “inflamación” en los 4 momentos temporales.	p. 243
Figura 71	Diagrama de dispersión de la L – Arg preoperatorio y la ARG 24.	p. 244
Figura 72	Gráfico de dispersión del CD3 $\zeta$ con linfocitos a las 24 horas con modelo lineal.	p. 245
Figura 73	Gráfico de dispersión de linfocitos en el preoperatorio y a las 24 horas con modelos lineales.	p. 246
Figura 74	Diagrama de cajas de ARG con variable “hay complicaciones”.	p. 248
Figura 75	Diagrama de barras de tiempo en UCI.	p. 250
Figura 76	Diagrama de barras en Tiempo hospitalización.	p. 253
Figura 77	Diagrama de barras en Tiempo hospitalización.	p. 253

**ANEXO 7. Consentimientos informados**

	Apellidos: _____
	Nombre: _____
	Nº Historia Clínica <input type="text"/>
	<b>AUTORIZACION DE ANESTESIA</b>

D./Dña.: \_\_\_\_\_

Con D.N.I. nº \_\_\_\_\_ en calidad de:  Paciente  
 Responsable legal

He sido informado por el Dr. D. \_\_\_\_\_ de la necesidad de administrarme anestesia apropiada a mi condición. Igualmente se me ha explicado la naturaleza del procedimiento, los metodos alternativos de tratamiento y los posibles riesgos o complicaciones relacionados con la técnica anestésica. He tenido ocasión de examinar la hoja de información acerca de la técnica .

Por lo tanto, informadamente consiento y expresamente **AUTORIZO** al Servicio de Anestesiología a aplicar la técnica anestésica que crean más adecuada a mi caso y consiento tambien a las medidas adicionales que puedan resultar necesarias durante el acto anestésico y reanimación postanestésica.

Salamanca a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Fdo.: El Paciente o Responsable legal                      Fdo.: Dr.: \_\_\_\_\_

(Firmar las dos copias)

Ejemplar para la Historia Clínica      Mod.: 53022830-11h.



COMPLEJO HOSPITALARIO DE SALAMANCA  
SERVICIO DE ANESTESIOLOGIA

# Información

## SOBRE LA ANESTESIA

El Servicio de Anestesiología, Reanimación y Tratamiento del Dolor, en virtud de la Ley General de Sanidad, solicitará su consentimiento para aplicarle anestesia general, local o sedación durante los procedimientos quirúrgicos, médicos o diagnósticos a los cuales va usted a ser sometido para recuperar su salud. Es nuestra obligación informarle de:

- Los fines de la anestesia son evitar el dolor y las reacciones del organismo como consecuencia de la intervención. Para ello un médico del Servicio de Anestesiología administrará la anestesia apropiada en su caso.

- Aparte de los riesgos inherentes a la intervención quirúrgica o procedimiento diagnóstico (dolor, infección, hemorragia, etc.) y de las posibles complicaciones derivadas de la operación, la Anestesia conlleva riesgos adicionales distintos a los de la intervención.

- Estos riesgos dependen principalmente de su estado de salud previo a la intervención y de las enfermedades asociadas que padezca como : Hipertensión arterial, enfermedades cardíacas, asma bronquial, diabetes \_\_\_\_\_.

- También pueden producirse otros riesgos adicionales, tales como lesiones de cuerdas vocales, problemas respiratorios, arritmias cardíacas, dolor, lesiones de arterias y/o venas y dolor de cabeza.

- Así mismo se le informa de la existencia de complicaciones que si bien existen en un número mínimo de casos, pueden poner en peligro la vida del paciente y que pueden presentarse independientemente del buen hacer profesional de los miembros del Servicio de Anestesiología como son:

\* Existencia de reacciones alérgicas a los medicamentos usados en el acto anestésico.

\* Existencia de enfermedades ocultas en las que el acto anestésico puede desarrollar complicaciones muy graves como son el caso de las porfirias, hipertermia maligna, cardiopatías, diabetes, hipertiroidismo..... o agravamiento de enfermedades anteriores: hipertensión arterial, infarto de miocardio, asma bronquial....

\* Posibilidad de aspiración del vómito en la intervención quirúrgica o en el postoperatorio inmediato. Por ello es necesario que guarde un ayuno absoluto al menos 6 horas antes de la intervención. (La medicación oral que pueda estar tomando el paciente, si es necesario no interrumpirla, se tomará con el mínimo de agua posible).

- Deberá, así mismo, advertir al Anestesiólogo de la existencia de prótesis dentales, dientes en mal estado (móviles...) ya que pueden producirse daños en la dentadura si es necesaria la intubación orotraqueal para la anestesia general.

En la mujer, si está embarazada, los anestésicos pueden causar alteraciones en el feto, por ello si está usted embarazada o existe alguna posibilidad de que lo esté, deberá comunicárselo a su cirujano o anestesiólogo.

Esta información será completada de forma verbal y personalizada al estado de salud general del paciente. Consulte todas sus dudas.

Fdo.: \_\_\_\_\_

Paseo de San Vicente, 58-182 37007 SALAMANCA Tel.: 291100 Fax: 291211



METODOLOGÍA A UTILIZAR (APORTAR CONFORMIDAD/INFORMES/PROTOCOLOS GARANTIZANDO BIOÉTICA/BIOSEGURIDAD SI EL TIPO DE EXPERIMENTACIÓN LO REQUIERE) (MÁXIMO 50 LÍNEAS):  
METHODOLOGY TO BE USED (PROVIDE CONSENT FORMS/REPORTS/PROTOCOLS GUARANTEEING BIOETHICS/BIOSECURITY IF REQUIERED BY THE TYPE OF EXPERIMENTATION) (50 LINE MAXIMUM):

A los pacientes se les informó del estudio y se les dio consentimiento informado aparte del de la propia cirugía.



**NIVELES DE ARGINASA Y CD3 ZETA EN ENFERMOS SOMETIDOS A CIRUGIA  
CARDIACA Y DIGESTIVA**

**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Servicio de Anestesiología y Reanimación

GRF 462/A/10

D./Dña \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad y con DNI nº \_\_\_\_\_  
manifiesta que ha sido informado/a sobre el proyecto de investigación titulado  
"NIVELES DE ARGINASA Y CD3 ZETA EN ENFERMOS SOMETIDOS A CIRUGIA  
CARDIACA Y DIGESTIVA" con el fin de mejorar el conocimiento del Síndrome de Respuesta  
Inflamatoria Sistémica secundario a este tipo de cirugía.

He leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer todas las preguntas  
que he considerado necesarias y he recibido suficiente información sobre el estudio.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un  
fichero que deberá estar sometido a y con las garantías de la ley 15/1999 de 13 de diciembre.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio sin que esto  
repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha:

Firma de participante

Firma del investigador