

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Efecto del acondicionamiento isquémico remoto sobre la lesión miocárdica perioperatoria en cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Mónica García Bouza

DIRECTORES

Teresa Tejerina Sánchez
María Victoria Acedo Díaz-Pache
Manuel Carnero Alcázar

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias
Médico-Quirúrgicas

Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

**EFFECTO DEL PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO SOBRE LA
LESIÓN MIOCÁRDICA PERIOPERATORIA EN CIRUGÍA DE
REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA SIN CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA**

AUTOR:

Mónica García Bouza

DIRECTORES:

Teresa Tejerina Sánchez

María Victoria Acedo Díaz-Pache

Manuel Carnero Alcázar

Madrid, 2020

Dña. **María Teresa Tejerina Sánchez**, Catedrática de Farmacología del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA QUE:

El trabajo de investigación titulado: **“Efecto del preconditionamiento isquémico remoto sobre la lesión miocárdica perioperatoria en cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea”**, del que es autor **Mónica García Bouza**, ha sido, en parte, realizado en el departamento de Farmacología bajo mi dirección y supervisión, reuniendo, en mi opinión, todos los requisitos para ser presentado y defendido para la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía por esta Universidad. Para que conste a los efectos oportunos, queda firmado por María Teresa Tejerina Sánchez.



En Madrid, a 10 de julio de 2020

La virtud es una disposición voluntaria adquirida, que consiste en un término medio entre dos extremos malos, el uno por exceso y el otro por defecto.

Aristóteles (384 AC-322 AC)

AGRADECIMIENTOS

En ocasiones, cuesta creer que uno pueda alcanzar los objetivos que se propone cuándo está al principio del camino y no ve llegar el final. Este trabajo no hubiera salido a la luz sin el impulso, la motivación, el esfuerzo y el apoyo de las diferentes personas que se cruzaron en mi camino en todos y cada uno de los momentos que le dediqué.

El impulso se lo debo, indiscutiblemente, a mis directores de tesis y a mi tutor. Doctora María Teresa Tejerina, gracias por toda la disponibilidad ofrecida y la experiencia compartida que ha formado parte de un pilar fundamental para la realización de este trabajo. Doctora María Victoria Acedo Díaz-Pache, gracias por ser la promotora del estudio que ha dado la base a este trabajo y por ende a mi tesis doctoral. Recuerdo aún, el día en el quirófano 73, cuando surgió el tema que le da el título a la tesis, será un día inolvidable. Doctor Manuel Carnero Alcázar, gracias por tu capacidad envidiable y tu trabajo incesante, han sido un constante estímulo para intentar mejorar intelectualmente. Doctor Fernando Reguillo Lacruz, gracias por tantas tutorías, por compartir conmigo, no solo la teoría, si no también lecciones de realidad. Sin ellos, este proyecto, no se hubiera forjado y todo el aprendizaje que ha habido detrás, no se hubiera labrado.

La motivación se la debo a una persona que ha hecho de mi alguien que quiere superarse día tras día y ser mejor como médico, cirujana, científica y persona. A pesar de no llevar la batuta en este trabajo, sin su aprobación no se hubiera podido realizar. Gracias al jefe del servicio de Cirugía Cardíaca del

Hospital Clínico San Carlos, el doctor Luis Carlos Maroto Castellanos, por ser un ejemplo a seguir.

El esfuerzo se lo debo a todo el equipo que hizo posible que se llevara a cabo el estudio que sustenta esta tesis y que ha conseguido, de una manera u otra, que se haya llegado a plasmar sobre el papel. Gracias por ese esfuerzo a todo el servicio de cirugía cardíaca del Hospital Clínico San Carlos, a los adjuntos, enfermeros, celadores, auxiliares y residentes, tanto de la planta como de quirófano, de la UVI, anestesia y de Cardiología, a los compañeros de laboratorio que, sin su inestimable ayuda, el resultado de este trabajo no hubiera sido posible. Quiero mencionar particularmente a Úrsula Medina, Fernando Ortego y María Eugenia G. Barderas, por su tiempo y contribución ya que, sin sus aportaciones y paciencia en enseñarme técnicas de laboratorio completamente desconocidas para mí, el remate especial de este trabajo no se hubiera confeccionado. También me gustaría hacer especial mención a mis compañeros más cercanos, los residentes con los que compartí tantos años. Ellos hacían que todo el trabajo y sacrificio fuera mucho más ameno y llevadero y, sin su colaboración, este momento no habría llegado. Gracias a Lorena Montes, Zaady Garcés, Ali Ayaón, Bunty Ramchandani, Daniel Pérez, Lourdes Montero y Blanca Torres. En este trabajo hay una parte de cada uno de ustedes y en mí, también.

El apoyo se lo debo a todas las personas que han confiado en mí y que no dejaron que me rindiera. A mi familia, por darme la oportunidad de llegar a ser lo que soy y de haber elaborado, con gran orgullo, este trabajo. Doy realmente gracias a que puedan llegar a ver el resultado de tantos años de

esfuerzo y ausencia. A mis amigos, por impulsarme cuándo más lo necesitaba. A Tango, por acompañarme día tras día.

Piensa, Sueña, Cree y Atrévete

(Walt Disney 1901-1966)

LISTADO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ACTP	Angioplastia transluminal percutánea.
ACV	Accidente cerebrovascular.
CABG	Coronary artery bypass grafting.
CCS	Canadian Cardiovascular Society.
CEC	Circulación extracorpórea.
CICr	Aclaramiento de creatinina.
CMN	Células mononucleares.
CPK	Creatina-fosfocinasa.
DM	Diabetes mellitus.
EAC	Enfermedad de las arterias coronarias.
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético (agente quelante).
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).
ERICCA	Effect of Remote Ischaemic Preconditioning on Clinical Outcomes in Patients undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery.
FA	Fibrilación auricular.
FEVI	Fracción de eyección ventrículo izquierdo.
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular.
HCSC	Hospital Clínico San Carlos

HIF	Factor inducible de hipoxia.
HTA	Hipertensión arterial.
IAM	Infarto de miocardio.
IR	Insuficiencia renal.
NYHA	New York Heart Association.
OP-CABG	Off pump- coronary artery bypass grafting.
PI	Precondicionamiento isquémico.
PIR	Precondicionamiento isquémico remoto.
PKC	Proteína quinasa C.
RIP	Remote Ischaemic Preconditioning for Heart Surgery.
STS	Society of thoracic surgeons.
TnI	Troponina I.
VI	Ventrículo izquierdo.

ÍNDICE

RESUMEN	15
----------------	-----------

SUMMARY	17
----------------	-----------

I. INTRODUCCIÓN	19
------------------------	-----------

1.1 CARDIOPATÍA ISQUÉMICA	20
----------------------------------	-----------

1.1.1 CONCEPTO	20
----------------	----

1.1.2 ATEROESCLEROSIS	20
-----------------------	----

1.1.3 EPIDEMIOLOGIA	24
---------------------	----

1.2 REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA	25
---	-----------

1.2.1 CONCEPTO	25
----------------	----

1.2.2 INDICACIONES Y RECOMENDACIONES	27
--------------------------------------	----

1.2.3 TÉCNICA QUIRÚRGICA	29
--------------------------	----

1.3 PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO	30
--	-----------

1.3.1 CONCEPTO	30
----------------	----

1.3.2 ASPECTOS MOLECULARES	36
----------------------------	----

1.3.3 IMPLICACIONES CLÍNICAS	43
------------------------------	----

II. JUSTIFICACIÓN	45
--------------------------	-----------

III. HIPÓTESIS	48
-----------------------	-----------

IV. OBJETIVOS	50
----------------------	-----------

4.1 GENERAL	51
--------------------	-----------

4.2 ESPECÍFICOS	51
------------------------	-----------

4.2.1	PRIMARIO	51
4.2.2	SECUNDARIOS	51
V.	<u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	53
5.1	CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	54
5.2	POBLACIÓN DEL ESTUDIO	54
5.2.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	55
5.2.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	55
5.3	PRECONDICIONAMIENTO	56
5.4	TÉCNICA QUIRÚRGICA	57
5.5	ANÁLISIS DE LABORATORIO	59
5.5.1	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	59
5.5.2	CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE LOS NIVELES DE TNI	62
5.5.3	CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LAS CMN: TÉCNICA DE WESTERN BLOT	63
5.5.4	DETERMINACIÓN DE CITOQUINAS (IL-6 Y TNF α): ELISA	66
5.6	VARIABLES ANALIZADAS	67
5.6.1	PREOPERATORIAS	67
5.6.2	QUIRÚRGICAS	69
5.6.3	POSTOPERATORIAS	69
5.6.4	SEGUIMIENTO	70
5.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	71
5.8	ASPECTOS ÉTICOS	71

VI.	RESULTADOS	73
	6.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	74
	6.2 RESULTADOS CLÍNICOS	77
	6.2.1 PERIODO POSTOPERATORIO	77
	6.2.2 SEGUIMIENTO	78
	6.3 RESULTADOS DE LABORATORIO	78
	6.3.1 DETERMINACIÓN DEL ACLARAMIENTO DE CREATININA	78
	6.3.2 DETERMINACIÓN DE MARCADORES DE DAÑO MIOCÁRDICO: TNI	79
	6.3.3 CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LAS CMN: STAT 3	81
	6.3.4 DETERMINACIÓN DE CITOQUINAS: IL-6 Y TNF α	85
VII.	DISCUSIÓN	88
VIII.	CONCLUSIONES	100
IX.	ANEXOS	101
	9.1 ESCALA DE RIESGO STS	102
	9.2 ESCALA DE RIESGO EUROSCORE	105
	9.3 PUNTUACIÓN DE SYNTAX	107
	9.4 CONSENTIMIENTO INFORMADO	110
	9.5 INFORME DICTAMEN PROTOCOLO FAVORABLE DEL COMITÉ DE ÉTICA DEL HCSC	123
	9.6 CERTIFICADO COMUNICACIÓN CONGRESO EUROPEO	124
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125

RESUMEN

Introducción: El preconditionamiento isquémico remoto (PIR) consiste en la protección de un órgano o tejido frente a una isquemia mantenida mediante la realización de episodios isquémicos subletales en otros órganos o tejidos diferentes.

Hipótesis: En la cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea el PIR se reflejará en una reducción de los marcadores de daño miocárdico.

Objetivos: Evaluación del daño miocárdico después de una cirugía de revascularización miocárdica quirúrgica sin circulación extracorpórea en pacientes con y sin preconditionamiento isquémico remoto comparando en el postoperatorio los niveles de Troponina I (TnI) así como las proteínas y citoquinas implicadas en los mecanismos cardioprotectores.

Material y Métodos: Se desarrolló un ensayo clínico prospectivo en pacientes intervenidos de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea de forma electiva. El PIR se indujo mediante isquemia controlada en las extremidades con dos manguitos de presión arterial estándar colocados en un brazo y un muslo del paciente simultáneamente que se inflaban de forma intermitente hasta conseguir un total de 20 minutos de isquemia. La determinación de marcadores de daño miocárdico se efectuó mediante la cuantificación de la concentración plasmática de los niveles de troponinas de sangre venosa periférica y la evaluación de los mecanismos humorales

implicados se realizó mediante la determinación de la proteína STAT3 con la técnica de Western Blot y la determinación de las citoquinas IL-6 y TNF α en el plasma con la técnica ELISA.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 106 pacientes intervenidos de manera programada de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea. El resultado de la aleatorización fue equitativo con 53 pacientes (50%) en el grupo control y 53 pacientes (50%) en el grupo PIR. Tras la cirugía, los niveles de Tnl se encontraron elevados en ambos grupos, con un pico mayor a las 12 y a las 24 horas. A pesar de que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, la media de los niveles Tnl a las 12 horas (Control 3,95 DE 15,1 ng/dl vs PIR 1,8 DE 1,16 ng/dl, p: 0,156) y a las 24 horas (Control 2,74 DE 8,3 ng/dl vs PIR 2,1 DE 3,59 ng/dl, p: 0,296) fueron menores en el grupo PIR. En las muestras de las 6 horas, se objetivó un aumento en la expresión de la isoforma α de STAT 3 fosforilada (p=0,029) en los pacientes controles, así como un aumento niveles séricos medios de la IL 6 en los pacientes PIR (Control 18,6 vs PIR 32,8).

Conclusiones: El PIR no reduce la elevación de las enzimas miocárdicas en el postoperatorio, aunque tiene un efecto sobre la lesión miocárdica perioperatoria expresada en eventos subclínicos al alterar la expresión y activación de proteínas implicadas en los mecanismos moleculares de la cardioprotección.

SUMMARY

Introduction: Remote ischemic preconditioning (RIP) consists in the protection of an organ or tissue against an ischemia sustained by performing sublethal ischemic episodes in other organs or different tissues.

Hypothesis: In off-pump coronary artery bypass grafting, the RIP will be reflected in a reduction of myocardial damage markers.

Objectives: Evaluation of myocardial damage after surgical myocardial revascularization surgery without extracorporeal circulation in patients with and without remote ischemic preconditioning comparing levels of Troponin I (TnI) in the postoperative as well as proteins and cytokines involved in cardioprotective mechanisms.

Material and methods: A prospective clinical trial was developed in patients undergoing elective off-pump coronary artery bypass grafting. RIP was induced by controlled ischemia on the extremities with two standard blood pressure cuffs placed on one arm and one thigh simultaneously that were intermittently inflated to achieve a total of 20 minutes of ischemia. The determination of myocardial damage markers was performed by quantifying the plasma concentration of troponin levels of peripheral venous blood and the evaluation of the involved humeral mechanisms was performed by determining the STAT3 protein with the Western Blot technique and the determination of cytokines IL-6 and TNF α in plasma with the ELISA technique.

Results: A total of 106 patients undergoing an elective myocardial revascularization without extracorporeal circulation were included in the study. The randomization result was equitable with 53 patients (50%) in the control group and 53 patients (50%) in the PIR group. After surgery, TnI levels were high in both groups, with a peak greater at 12 and 24 hours. Although no statistically significant differences were observed between both groups, the average TnI levels at 12 hours (Control 3.95 DE 15.1 ng / dl vs PIR 1.8 DE 1.16 ng / dl, p : 0.156) and at 24 hours (Control 2.74 DE 8.3 ng / dl vs PIR 2.1 DE 3.59 ng / dl, p: 0.296) were lower in the PIR group. In the 6-hour samples, an increase in the expression of the phosphorylated STAT 3 α isoform (p = 0.029) was observed in the control patients, as well as an increase in serum levels of the IL 6 in the PIR patients (Control 18.6 vs PIR 32.8).

Conclusions: RIP does not reduce the elevation of myocardial enzymes in the postoperative period, although it has an effect on perioperative myocardial injury expressed in subclinical events by altering the expression and activation of proteins involved in the molecular mechanisms of cardioprotection.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Cardiopatía isquémica

1.1.1 Concepto

La enfermedad de las arterias coronarias o cardiopatía isquémica tiene como causa subyacente dominante la aterosclerosis¹.

La aterosclerosis coronaria o arteriosclerosis es un proceso que se desarrolla como una respuesta inflamatoria de la pared vascular a una lesión crónica y multifactorial conduciendo a la formación de placas ateroscleróticas (placas fibrosas o ateromas)².

Con menos frecuencia, existen otras causas de enfermedad coronaria isquémica no aterosclerótica como las debidas a anomalías congénitas, embolismos, disecciones, vasculitis o vasoespasmo^{3,4,5}.

Las manifestaciones clínicas de la cardiopatía isquémica son diversas, con un espectro que abarca diversas formas de angina de pecho, el infarto de miocardio (IM), arritmias, la muerte súbita y la enfermedad coronaria crónica. Estos síndromes son el resultado de interacciones complejas entre la circulación coronaria y el miocardio, generalmente con aterosclerosis coronaria como el principal sustrato anatómico para la enfermedad⁶.

1.1.2 Ateroescclerosis

La fisiopatología de la aterosclerosis interrelaciona procesos moleculares y celulares complejos que se han tratado de explicar en varias teorías. En la actualidad son reconocidas diferentes hipótesis. Entre las de

mayor aceptación se encuentran: la hipótesis de la modificación oxidativa de las LDL (*Steinberg, 1989*)⁷, la hipótesis de la respuesta a la retención de las LDL (*Anichkov, 1913*)⁸, la hipótesis de la respuesta al daño (*Ross, 1999*)² y la hipótesis autoinmune (*Wick, 2001*)⁹.

Aunque todas ellas centran su atención en aspectos diferentes, los procesos descritos en cada una condicionan el origen de una respuesta sistémica que los interrelaciona. Así, a partir de los trabajos de Ross², se aceptó que la aterosclerosis es secundaria a un proceso inflamatorio de baja intensidad y de evolución crónica, asociado a altos niveles de lípidos y de marcadores de inflamación inespecíficos circulantes. Sin embargo el mecanismo desencadenante del proceso inflamatorio es algo controvertido y causa de intensa investigación^{10,11,12}.

Los agentes que potencialmente parecen estar relacionados causalmente con este daño, se denominan “factores de riesgo cardiovascular” (FRCV). En 1948, el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos inició el estudio de Framingham¹³, con la finalidad de estudiar la epidemiología y los factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular. Los primeros resultados de este estudio pusieron de manifiesto que gran parte de la mortalidad prematura debida a la enfermedad cardiovascular y a la enfermedad cerebrovascular se producía en individuos con una propensión general a la aterosclerosis, y en el contexto de unos factores de riesgo identificados que aparecían mucho antes que los síntomas clínicos¹⁴. Este estudio fue el pionero de otros muchos^{15,16,17,18} que ayudaron a determinar los factores de riesgo cardiovasculares, que, desde el punto de vista clásico, se pueden dividir en:

1. FRCV no modificables: edad, sexo y factores genéticos.
2. FRCV modificables mediante medidas higiénico-sanitarias o farmacológicas: hipercolesterolemia, diabetes mellitus, resistencia a la insulina, tabaquismo, alcoholismo, hipertensión arterial, sedentarismo, obesidad, ansiedad y estrés.

La formación de placas ateroscleróticas marca el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Estas consisten en lesiones focales de la íntima arterial, en las cuales se produce acumulación intracelular y extracelular de colesterol, fibrosis e inflamación¹⁹. En el humano, la aterosclerosis evoluciona en varias etapas. Desde los procesos subclínicos más tempranos, como la disfunción endotelial y la formación de estrías grasas que consisten en la acumulación subendotelial de macrófagos, transformados en células espumosas y linfocitos T, hasta estadios más avanzados en los que se produce el engrosamiento de la íntima, fibrosis y remodelación del tejido así como acumulación de restos necróticos de células T, macrófagos y lipoproteínas aterogénicas oxidadas que pueden dar lugar a la calcificación de la placa aterosclerótica, constituida por una cubierta de tejido fibromuscular y un núcleo de material necrótico, dando lugar finalmente a la ruptura de esta^{10,20, 21} (**Figuras 1 y 2**).

En definitiva, la composición de la placa aterosclerótica es variable y compleja, y es resultado de la interacción entre varios tipos celulares dentro de la placa, lo que caracteriza la progresión, complicaciones y evolución clínica de la enfermedad cardiovascular^{22,23}.

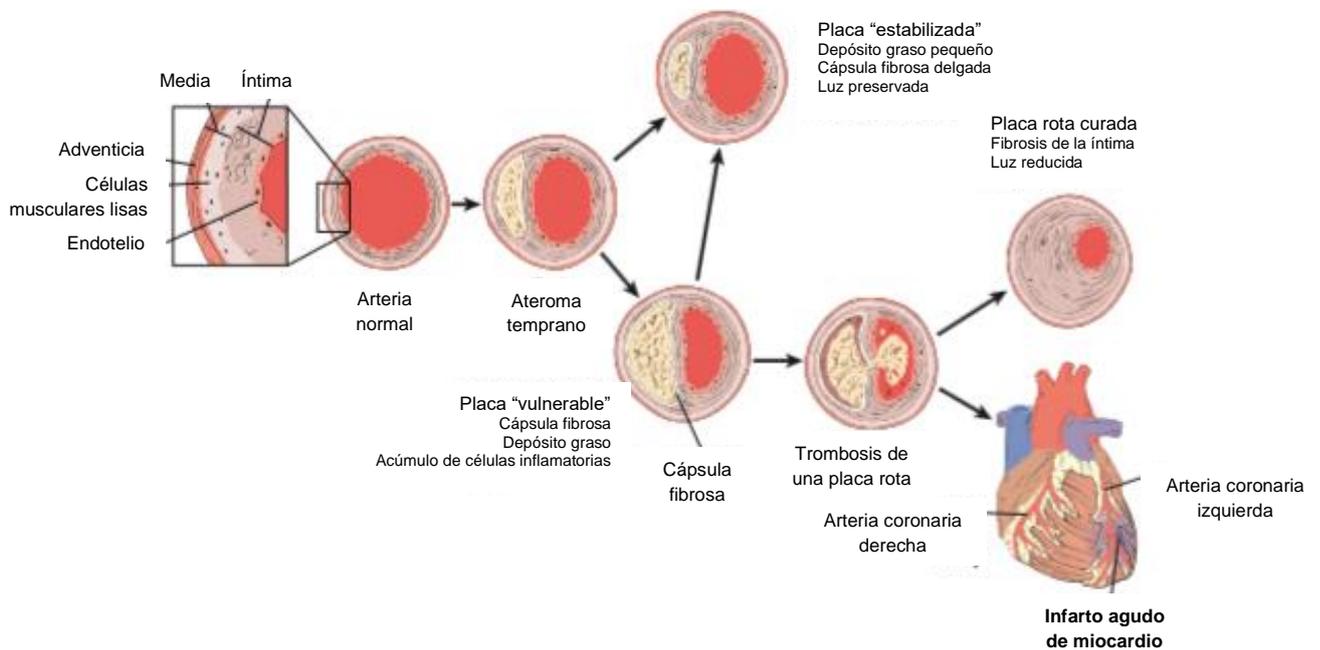


Figura 1. Evolución de la placa aterosclerótica humana. Modificado de Atherosclerosis, Christopher D. Owens. Rutherford's Vascular Surgery and Endovascular Therapy. 8th Edition. Chapter 5, 66-77.4.

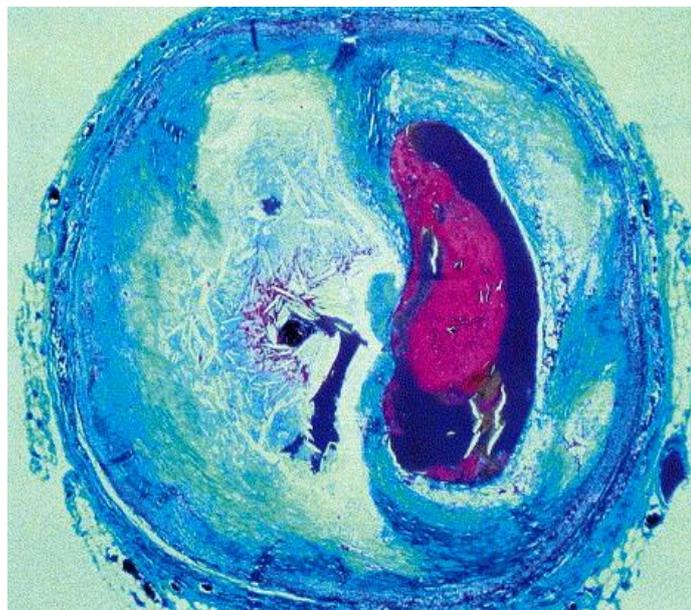


Figura 2. Corte transversal de una arteria coronaria. Placa ateromatosa (mitad izquierda) y trombo no oclusivo rico en plaquetas (en rojo mitad derecha) que se adosa a la capa fibrosa. Tinción de tricrómico de Mason. Falk E, Fuster V. Atherogenesis and its determinants. Hurst's the Heart. 11th edition. 2004, 1123-39.

1.1.3 Epidemiología

Las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la primera causa de muerte en los países desarrollados a pesar de que las tasas de mortalidad hayan descendido en las últimas 4 décadas^{24,25}. En Europa provocan el 45% de mortalidad global y entre ellas destaca la cardiopatía isquémica, responsable del 19% de muertes en mujeres y del 20% en hombres²⁶.

Sin embargo, no solo la elevada mortalidad que produce la cardiopatía isquémica es responsable del alto impacto social y sanitario que representa esta enfermedad. Además, esta patología se asocia a una pérdida importante de la calidad de vida dado a las comorbilidades cardiovasculares y a un elevado coste económico con un gasto de más de 100 millones de euros al año en la Unión Europea²⁷.

Las proyecciones futuras prevén que la cardiopatía isquémica no solo no desaparecerá, sino que seguirá siendo la primera en la lista de enfermedades mortales en el mundo hasta, al menos, el año 2030²⁸.

La reducción en la incidencia de las enfermedades cardiovasculares no solo depende de la modificación en las conductas de riesgo (tabaco, dieta, sedentarismo)²⁹, sino también de los avances en los tratamientos, tanto a lo que se refiere al tratamiento agudo como a la prevención secundaria. Con ello, se observa una desigualdad entre los diferentes países europeos en cuanto a las tasas de mortalidad, acorde con unas medidas preventivas y un manejo terapéutico diferentes²⁶.

En el último informe del Instituto Nacional de Estadística el grupo de enfermedades del sistema circulatorio se mantuvo como la primera causa de

muerte en 2017 en España con un 28,8 % de defunciones y un aumento del 2,2% respecto de 2016. Dentro de las enfermedades circulatorias, la cardiopatía isquémica volvió a ocupar el primer lugar en número de defunciones con un incremento del 0,8% respecto al año anterior y fue la primera causa de muerte en los hombres, causando un 0,3% más de muertes que en 2016³⁰. Tendremos que esperar a futuros informes para valorar si se trata de un incremento puntual o de una tendencia.

En definitiva, nos encontramos ante una enfermedad de gran prevalencia e incidencia, con una alta morbimortalidad entre los pacientes que la sufren y un enorme impacto social y económico.

1.2 Revascularización miocárdica

1.2.1 Concepto

La revascularización miocárdica consiste en reperfundir el miocardio con el objetivo de mejorar las consecuencias fisiológicas de la cardiopatía isquémica (ej., angina, insuficiencia cardíaca) y prevenir los eventos catastróficos que pueden derivarse de la evolución de la enfermedad (ej. infarto de miocardio, muerte súbita). Existen dos estrategias de revascularización: quirúrgica y percutánea.

La revascularización miocárdica quirúrgica utiliza injertos de vasos a modo de “puentes” o derivaciones, que proporcionan fuentes adicionales de flujo sanguíneo al miocardio más allá de la lesión culpable, y ofrecen protección frente a la enfermedad obstructiva proximal. La revascularización percutánea o angioplastia transluminal percutánea (ACTP) se lleva a cabo

mediante la inserción de un catéter en la arteria coronaria e inflado de un balón, asociada o no, a la implantación de stents coronarios, cuyo objetivo es restaurar el flujo sanguíneo normal de la circulación coronaria nativa mediante el tratamiento local de las lesiones obstructivas, sin ofrecer protección contra la nueva enfermedad proximal³¹.

La primera cirugía de revascularización miocárdica se llevó a cabo en 1964³². Más de una década después se realizó la primera intervención coronaria percutánea³³. Desde entonces, los avances en ambas técnicas, y el desarrollo de múltiples estudios y ensayos clínicos (**Figura 3**) han determinado las recomendaciones actuales en el tratamiento de la cardiopatía isquémica en las últimas guías europeas de revascularización miocárdica publicadas en el 2018³⁴.

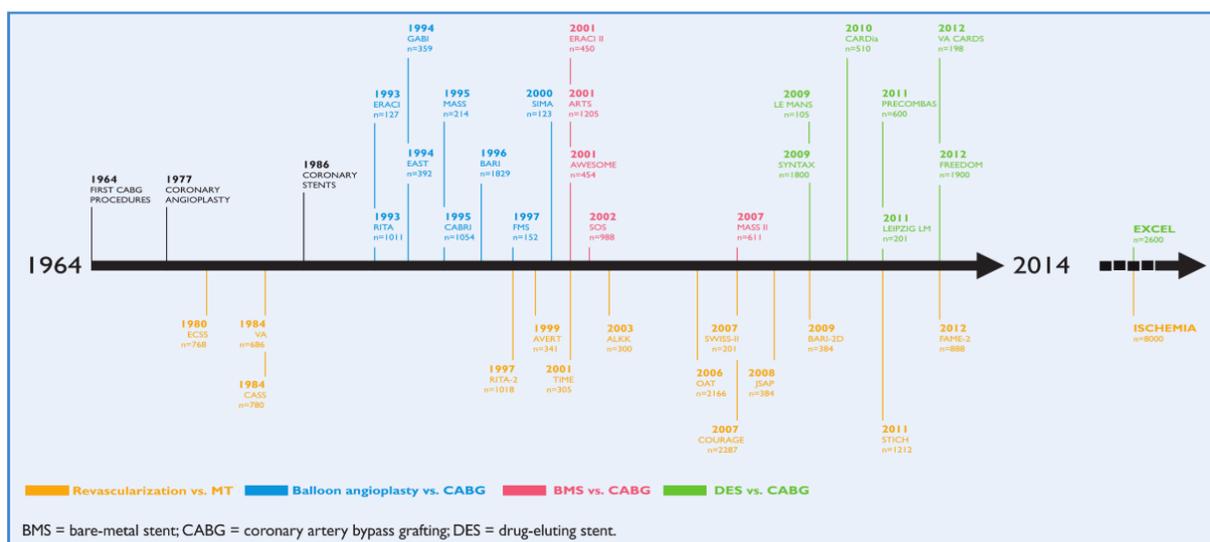


Figura 3. Estudios sobre la revascularización miocárdica en las últimas décadas. S. Windecker *et al.*, “2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI),” *Eur. Heart J* 2014; 35 (37) 2541–2619.

1.2.2 Indicaciones y recomendaciones

Al contrario que la revascularización percutánea, la revascularización quirúrgica ha demostrado claros beneficios en la reducción de la morbimortalidad frente al compararse con el tratamiento médico en la enfermedad coronaria estable ^{35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45}.

Las indicaciones de la revascularización miocárdica en pacientes con angina estable o isquemia silente son las siguientes siguiendo las guías europeas de revascularización miocárdica³⁴ recogidas en la **Tabla 1**:

Extensión de la enfermedad coronaria		Clase ^a	Nivel ^b
Para pronóstico	Enfermedad TCI > 50% ^c .	I	A
	Enfermedad proximal DA >50% ^c .	I	A
	Enfermedad coronaria de 2 o 3 vasos > 50% con disfunción ventricular (FEVI < 35%) ^c .	I	A
	Gran área de isquemia detectada mediante pruebas funcionales (> 10% del ventrículo izquierdo) o FFR invasiva anormal ^d .	I	B
	Enfermedad coronaria única > 50% ^c .	I	C
Para síntomas	Estenosis coronaria hemodinámicamente significativa ^c en presencia de angina limitante con respuesta insuficiente al tratamiento médico optimizado ^e .	I	A

Tabla 1. Indicaciones de la revascularización miocárdica en pacientes con angina estable o isquemia silente. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. ^aClase de recomendación. ^bNivel de evidencia. ^cIsquemia documentada o lesión hemodinámicamente relevante definida por un FFR $\leq 0,8$ o un iwFR $\leq 0,89$ o una estenosis > 90% en un vaso coronario mayor. ^dBasado en un FFR <0,75 indicando una lesión de importancia pronóstica. ^eConsiderando los deseos del paciente con relación a la intensidad de la terapia antianginosa. DA: arteria descendente anterior. FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo. FFR: flujo de reserva funcional. iwFR relación instantánea sin ondas. TCI: tronco coronario izquierdo.

Las recomendaciones de las estrategias de elección en estos casos van a depender del riesgo quirúrgico determinado por las puntuaciones de riesgo STS (**Anexo 1**) y EuroSCORE II (**Anexo 2**) así como de la complejidad de la anatomía coronaria determinada por la puntuación de SYNTAX³⁴ (**Anexo 3**) tal y como se muestra en la **Tabla 2**:

Recomendaciones de acuerdo con la extensión de la enfermedad coronaria.	CABG		PCI	
	Clase ^a	Nivel ^b	Clase ^a	Nivel ^b
Enfermedad coronaria de 1 vaso				
Sin lesión proximal de la DA	IIb	C	I	C
Con lesión proximal de la DA	I	A	I	A
Enfermedad coronaria de 2 vasos				
Sin lesión proximal de la DA	IIb	C	I	C
Con lesión proximal de la DA	I	B	I	C
Enfermedad coronaria de TCI				
Puntuación SYNTAX baja (0-22)	I	A	I	A
Puntuación SYNTAX intermedia (23-32)	I	A	IIa	A
Puntuación SYNTAX alta (>33) ^c	I	A	III	B
Enfermedad coronaria de 3 vasos sin diabetes mellitus				
Puntuación SYNTAX baja (0-22)	I	A	I	A
Puntuación SYNTAX intermedia o alta (>22) ^c	I	A	III	A
Enfermedad coronaria de 3 vasos con diabetes mellitus				
Puntuación SYNTAX baja (0-22)	I	A	IIb	A
Puntuación SYNTAX intermedia o alta (>22) ^c	I	A	III	A

Tabla 2. Recomendación para el tipo de revascularización en pacientes con enfermedad arterial coronaria estable con anatomía coronaria adecuada para ambos procedimientos y bajo pronóstico quirúrgico mortalidad. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. ^aClase de recomendación. ^bNivel de evidencia. ^cLa revascularización percutánea debería ser considerada en un Heart Team si el riesgo quirúrgico es alto o si el paciente rechaza la cirugía. CABG: coronary artery bypass grafting. PCI: percutaneous coronary intervention. DA: arteria descendente anterior. TCI: tronco coronario izquierdo.

1.2.3 Técnica quirúrgica

Como queda reflejado en las tablas, la revascularización coronaria quirúrgica es el tratamiento de referencia en pacientes con enfermedad coronaria estable de 3 vasos y enfermedad coronaria de tronco frente al tratamiento percutáneo³⁴. La mayoría de los procedimientos quirúrgicos se realizan bajo circulación extracorpórea (CEC).

La revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea (OP-CABG de “*off-pump coronary artery bypass grafting*”), es técnicamente más demandante. Surgió en los años 80⁴⁶ con la idea de disminuir la morbimortalidad de los procedimientos con CEC. Hoy en día, los beneficios de la cirugía sin bomba están en entredicho debido a que, en numerosos trabajos que han comparado ambas técnicas, no se han hallado diferencias en los resultados a corto-medio plazo^{47,48}. Algunos autores han publicado peores resultados a largo plazo tras una cirugía sin CEC⁴⁹ debido a una menor permeabilidad de los injertos y la menor prevalencia de revascularizaciones completas con respecto a la cirugía con CEC. Este hecho ha provocado el abandono de la técnica de cirugía sin bomba por algunos centros. En Estados Unidos, por ejemplo, el porcentaje de revascularizaciones sin CEC ha caído del 23% en 2002⁵⁰ al 13,1% en 2016⁵¹ sin embargo, en España, el porcentaje de cirugía coronaria sin bomba se ha mantenido estable en torno a un 28%⁵².

La protección miocárdica ha sido una de las principales preocupaciones en el desarrollo de la cirugía coronaria con CEC. A pesar de la hipotermia sistémica y local, así como de las soluciones de cardioplejia⁵³ que mantienen el corazón parado, minimizando el consumo de oxígeno, no se puede evitar

que se produzca cierto grado de daño miocárdico como consecuencia de la isquemia por el pinzamiento aórtico, más o menos prolongado, y de la posterior reperfusión.

La OP-CABG evita la isquemia y reperfusión miocárdica global, a cambio de varios periodos de isquemia miocárdica regional, similar a los procedimientos de revascularización percutánea. Con ello, se espera una menor intensidad del daño al miocardio⁵⁴. No obstante, es posible que se produzca daño miocárdico durante los periodos de isquemia necesarios para realizar las anastomosis o como consecuencia de la reperfusión que acontece tras finalizar la revascularización.

En el Hospital Clínico San Carlos, donde se llevó a cabo esta investigación, la cirugía coronaria sin bomba se estableció como técnica de elección desde 2005, y todas las revascularizaciones quirúrgicas, salvo excepciones puntuales, se llevaron a cabo bajo esta técnica. La decisión fue tomada para evitar los potenciales efectos deletéreos de la circulación extracorpórea y al ser una técnica más costo-efectiva^{47,55,56,57}.

1.3 Precondicionamiento isquémico

1.3.1 Concepto

La isquemia es una enfermedad vascular que se caracteriza por una descompensación entre el suministro de oxígeno y nutrientes al miocardio, aportados por el torrente sanguíneo coronario, y las demandas de este, lo que dificulta el metabolismo celular normal. El restablecimiento de la circulación es necesario para revertir la isquemia y proteger los tejidos de la muerte

celular después de una ausencia transitoria de oxígeno y nutrientes en la sangre. La aparición prolongada de isquemia y, posteriormente, la reperfusión, dan como resultado una lesión inducida por perfusión isquémica como resultado de la liberación de radicales libres de oxígeno, citoquinas y aumento de la expresión de moléculas de adhesión⁵⁸.

El término “daño letal por reperfusión” hace referencia explícita a la muerte celular que se produce en el momento de la reperfusión, tras una isquemia transitoria, y que se puede prevenir mediante intervenciones aplicadas en el momento de la restauración del flujo (**Figura 4**)⁵⁹.

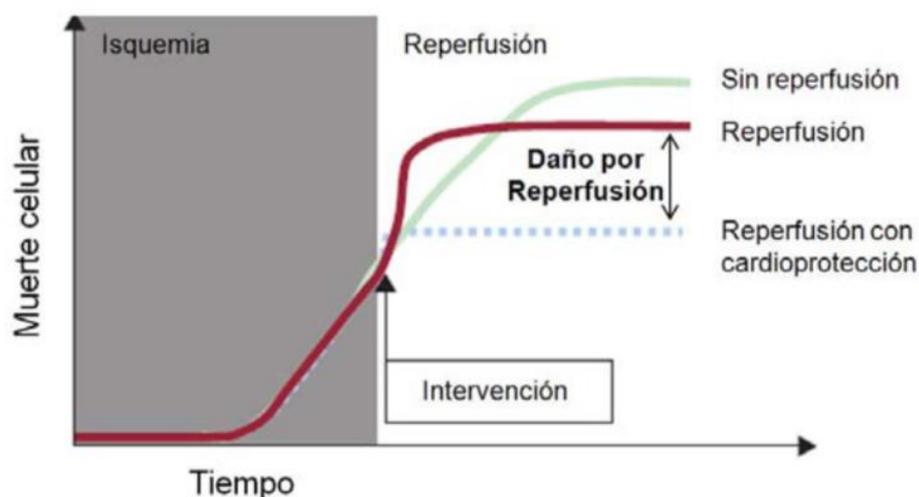


Figura 4. Ilustración del concepto de daño por reperfusión. La muerte celular aumenta de forma proporcional a la duración de la isquemia miocárdica. La reperfusión detiene este proceso, pero se asocia a su vez a un daño adicional producido en los primeros minutos de esta. Tratamientos aplicados en el inicio de la restauración del flujo, pueden hacer disminuir esta muerte. *Imagen modificada de García-Dorado, D. and Piper, H.M. (2006) Postconditioning: reperfusion of "reperfusion injury" after hibernation. Cardiovasc Res 69: 1-3.*

El daño por reperfusión está caracterizado por una serie de cambios fisiopatológicos en el cardiomiocito, que dan lugar a los procesos biológicos causantes de la necrosis. Hoy en día, las vías moleculares y procesos celulares por los que se rige esta muerte necrótica no están del todo esclarecidos.

La lesión intraoperatoria inducida por isquemia-reperfusión es una de las causas fundamentales en la perpetuación de la disfunción transitoria y tardía del órgano⁶⁰. Por lo tanto, con el fin de proporcionar protección a los órganos contra la lesión por reperfusión de isquemia, surgió un nuevo enfoque terapéutico: el preconditionamiento isquémico.

El preconditionamiento isquémico (PI) como protección miocárdica fue descrito en 1986 por Murry, Jennings y Reimer⁶¹. Con su trabajo en modelos animales demostraron cómo breves periodos de isquemia locales sobre el miocardio realizados previamente a la isquemia sostenida reducían la extensión del infarto hasta en un 70-80% y disminuían la incidencia de arritmias. Los fundamentos principales del preconditionamiento eran el enlentecimiento del consumo de ATP y la disminución de los catabolitos acumulados por las reperfusiones intermitentes (concepto denominado: resistencia miocárdica).

Se ha postulado que la protección que confiere el PI se produce en dos fases. Por un lado, el preconditionamiento isquémico precoz o clásico que es un periodo agudo que aparece a los pocos minutos tras el estímulo isquémico inicial y permanece unas 2-3 horas. Por otro lado, el preconditionamiento

tardío, más prolongado y que aparece entre las 12-24 horas persistiendo hasta 2-4 días⁶².

El preconditionamiento isquémico local consiste fundamentalmente en la oclusión de una arteria coronaria, generalmente secundaria, durante un corto periodo de tiempo⁶³. Dada a su agresividad, son técnicas utilizadas únicamente en modelos animales. Numerosos ensayos clínicos han pretendido demostrar el efecto potencial del PI local coronario de reducir la lesión miocárdica utilizando como marcadores los niveles de enzimas cardíacas postoperatorias (troponinas, CPK-MB) y la evolución clínica postoperatoria⁶⁴. Sin embargo, este tratamiento invasivo que se aplica directamente al miocardio para lograr la cardioprotección, y que puede ser impracticable y dañino, encontró una alternativa más apropiada al aplicar el estímulo cardioprotector a un órgano o tejido alejado del corazón, surgiendo el concepto del preconditionamiento isquémico remoto (PIR).

El PIR consiste en la protección de un órgano o tejido frente a una isquemia mantenida mediante la realización de episodios isquémicos subletales en otros órganos o tejidos diferentes. Esta idea fue concebida por primera vez por Przyklenk et al en 1993⁶⁵. Hasta hace unos años, no se había tenido en cuenta su potencial terapéutico, pero esta técnica supone una intervención no invasiva y de bajo coste que potencialmente puede reducir la extensión de la lesión miocárdica perioperatoria, medida en términos de elevación enzimática, en pacientes sometidos a cirugía cardíaca⁶⁶.

El preconditionamiento isquémico remoto es generado por oclusiones temporales de grandes arterias de los miembros, que generalmente duran 5 minutos, seguidas de reperfusión. Una comparación de varios números de ciclos de isquemia-reperfusión muestra que la protección es mejor con ciclos de hasta cuatro repeticiones. Con ciclos de seis o más, la protección se reduce y finalmente se pierde. Si bien un ciclo puede ser suficiente para desencadenar la liberación de sustancias protectoras, es posible que muchos más ciclos no puedan mejorar la liberación de desencadenantes. Un alto número de periodos isquémicos cortos puede comenzar a causar daño isquémico acumulativo, disminuyendo así la eficacia del preconditionamiento⁶².

El concepto de preconditionamiento isquémico remoto no solo se aplica a la protección del miocardio, sino que se extiende más allá para proporcionar una forma de protección interorgánica contra la lesión por isquemia-reperfusión⁶⁶ (**Figura 5**).

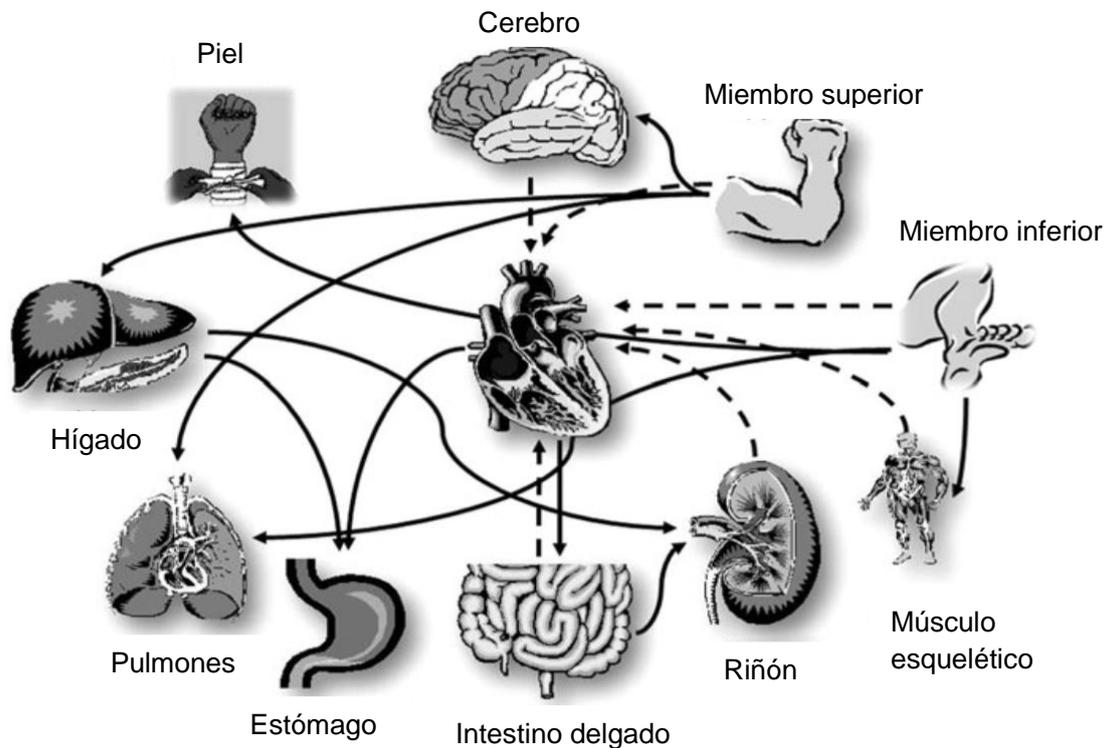


Figura 5. Protección entre órganos contra la lesión por isquemia-reperfusión. Esta figura describe la evolución del preconditionamiento isquémico remoto a partir de un concepto que inicialmente se usó para denotar una reducción intramiocárdica en el tamaño del infarto. Tras este descubrimiento inicial, se observó que la isquemia breve y la reperfusión de órganos distantes o alejados del corazón tenían la capacidad de mediar una reducción posterior del tamaño del infarto de miocardio (flechas negras discontinuas). El concepto ahora se ha expandido entre los órganos y tejidos no cardíacos, de modo que representa una forma general de protección entre órganos contra la lesión por isquemia-reperfusión (las flechas negras continuas representan el órgano de preconditionamiento remoto que apunta al órgano o tejido protegido) y que emana del órgano o tejido de preconditionamiento. *Cardiovascular Research* (2008) 79, 377–386.

1.3.2 Aspectos moleculares

Hoy en día existen numerosos estudios que han analizado el papel de más de 100 moléculas de señalización diferentes y mecanismos de acondicionamiento en una amplia gama de preparaciones experimentales, desde estructuras subcelulares aisladas como las mitocondrias hasta en corazones aislados. Se han utilizado diferentes especies y diferentes técnicas experimentales con el objetivo último de conseguir entender el mecanismo que lleva a la cardioprotección o reducción del tamaño del infarto en el PIR⁶⁷.

Se han propuesto, como mínimo, dos teorías distintas, que no son mutuamente excluyentes, para explicar la generación de la señal cardioprotectora del PIR y su transporte desde el tejido remoto hasta el corazón. Por un lado la liberación de factores humorales por parte del tejido condicionado que son liberados al torrente sanguíneo, y por otro, la activación de fibras nerviosas sensoriales en el órgano periférico, que activan la inervación autonómica cardíaca a través del sistema nervioso central⁶⁷.

Entendiendo las vías de señalización y las moléculas intervinientes se podría explicar y atenuar la interferencia de factores de riesgo, comorbilidades y medicación.

Los mecanismos implicados en la cardioprotección inducida por el PIR son bastante complejos e interconectados, por lo que es difícil señalar un desencadenante particular para iniciar la cascada de señalización. Los ciclos de isquemia/reperfusión que tienen lugar en el preconditionamiento actúan como estímulo para activar una cascada de mediadores para transmitir la señal cardioprotectora a través de moléculas desencadenantes extracelulares que se originan a partir de diversos tipos de células, incluidos los

cardiomiocitos, endotelio, neuronas, células inflamatorias, etc., y activan una cascada de mediadores citosólicos de pequeñas moléculas y enzimas que, a su vez, finalmente convergen en estructuras subcelulares como mitocondrias o citoesqueleto⁶⁷. El efecto final a nivel de los cardiomiocitos es inducir una respuesta de proteínas quinasas protectoras y la modificación de la apertura de poros de transición de permeabilidad (**Figura 6**).

Está bien establecido que el condicionamiento isquémico protege al corazón de la lesión aguda por isquemia/reperfusión a través de la activación de las vías de transducción de señales reclutadas al inicio de la reperfusión⁶⁸. Estas cascadas de señalización median la señal cardioprotectora provocada por el condicionamiento isquémico desde el sarcolema a las mitocondrias e incluyen dos vías principales (**Figura 7**):

- La vía que actúa con la fosforilación y activación de las proteínas quinasas que se conoce como vía RISK (Reperfusion Injury Salvage Kinase)⁶⁶. Un gran número de estudios experimentales han vinculado la activación de la vía de RISK a la cardioprotección inducida por una diversa variedad de agentes farmacológicos que incluyen factores de crecimiento, citoquinas y otros agentes como la metformina y las estatinas⁶⁹.
- La vía que activa la transcripción de ciertos genes inducibles por citoquinas conocida como vía SAFE (Salvage Activating Factor Enhancement)⁷⁰. Varios estudios experimentales han demostrado que existen agentes miméticos de acondicionamiento farmacológico que limitan la lesión por reperfusión miocárdica lo hacen a través de la

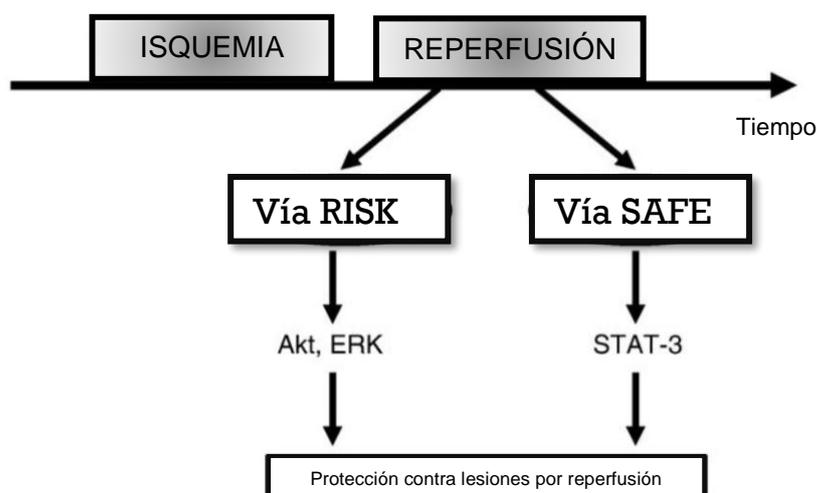


Figura 7. Principales vías de señalización activadas en situación de isquemia/reperfusión. La ruta SAFE implica la activación de STAT-3, mientras que la ruta RISK activa Akt y ERK. SAFE: Survivor Activating Factor Enhancement. RISK: Reperfusion Injury Salvage Kinases. STAT-3: Transductor de señal y activador de la transcripción 3. ERK: quinasa regulada extracelular. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 46 (2009) 607–609.

Ambas vías de señalización convergen en las mitocondrias, donde parecen mediar en su efecto cardioprotector al inhibir la permeabilidad de la apertura de poros de transición⁷³.

Como hemos visto, es difícil establecer un desencadenante particular para iniciar la cascada de señalización. Los mecanismos potencialmente implicados incluyen los siguientes⁷⁴:

1. Factor inducible de la hipoxia-1 α : El factor inducible de hipoxia (HIF) es un factor de transcripción que responde a los cambios de oxígeno en el entorno y desempeña un papel clave en la adaptación a condiciones como la isquemia. El PIR causa la dimerización en subunidades HIF 1 α -HIF-1 β , que luego se trasladan al núcleo donde el dímero actúa

como un activador de transcripción de NF- κ B, que proporciona protección cardiaca mediante el aumento de los niveles de IL-10 y la señalización de Akt/ eNOS⁷⁵.

2. Canales de potasio sensibles a ATP (canales K_{ATP}): El estímulo del PIR inicia la señalización de eNOS y el NO liberado hace que la apertura de los canales de K_{ATP} mitocondriales desencadene la señalización redox y provoque la disipación del potencial de la membrana mitocondrial, que a su vez disminuye la fuerza motriz para la entrada de calcio a través del canal mitocondrial del calcio. Además, el PIR inhibe directamente el canal mitocondrial del calcio que limita la sobrecarga de calcio mitocondrial en los miocitos y proporciona protección al miocardio⁷⁶.
3. Metaloproteinasas de la matriz: Las metaloproteinasas de matriz (MMP) son endopeptidasas dependientes de Zn^{2+} que degradan varias proteínas de la matriz extracelular para modular procesos fisiológicos y patológicos, incluidos la morfogénesis, angiogénesis, reparación tisular, artritis y metástasis⁷⁷. Se clasifican en 5 clases principales de las cuales, MMP-2 (gelatinasa A) y MMP-9 (gelatinasa B) juegan un papel imperativo en numerosos trastornos cardiovasculares. La cardioprotección inducida por PIR se asocia con la disminución en los niveles de MMP-2 y MMP-9 en tejido cardíaco⁷⁷.
4. B-N-acetilglucosamina ligada a O (O-GlcNAc): La señalización O-GlcNAc durante el PIR puede ejercer una acción cardioprotectora al reducir la formación de poros transicionales de permeabilidad mitocondrial, disminuir la sobrecarga de calcio intracelular, atenuar la activación de la proteína homóloga C/EBP (CHOP), aumentar la

expresión de HSP40 y HSP70, atenuar la señalización de NFκB, disminuir la expresión de mediadores proinflamatorios, la infiltración de mediadores proinflamatorios, y la infiltración de monocitos y neutrófilos⁷⁴.

5. Transductor de señal y activador de transcripción (STAT): El transductor de señales y el activador de la transcripción (STAT) controlan varios aspectos del crecimiento y la diferenciación. Es sabido que la unión de ligandos como citoquinas (TNF, IL6, etc.) provoca la activación de la Janus kinasa (JAK) intracelular que, en consecuencia, fosforila un residuo de tirosina específico en la proteína STAT, lo que finalmente lleva a la dimerización. La forma dimerizada posteriormente activa la transcripción de ciertos genes inducibles por citoquinas⁷⁸. Un estudio previo ha demostrado que STAT, se activa con el PIR y se convierte en la única firma de señalización de PIR en humanos⁷⁹. Muy recientemente, un estudio demostró que PIR podría mejorar los niveles de expresión fosforilada de STAT 3 en el miocardio de pacientes⁸⁰.
6. Sistema nervioso autónomo: El PIR causa la activación de las vías aferentes neurales y la señal cardioprotectora llega al miocardio a través de una vía eferente neural (nervio vago)⁸¹.
7. Expresión génica inflamatoria: La lesión inducida por isquemia-reperfusión se caracteriza por un aumento significativo en la respuesta celular inflamatoria y la cardioprotección inducida por el PIR, también se ha relacionado con la modulación de esta respuesta inflamatoria. Ha habido estudios clínicos limitados que correlacionan el PIR y las respuestas inflamatorias, sin embargo los informes de estos estudios

son contradictorios en cierta medida con respecto a los cambios en la expresión de citoquinas e infiltración de neutrófilos, en los que unos hablan de disminución en el nivel de TNF- α y otros marcadores inflamatorios en respuesta al PIR⁸² y en otros, de su aumento⁷⁵.

Como hemos visto, la protección que confiere el PIR se produce en dos fases. La fase temprana se basa en modificaciones postraduccionales de proteínas existentes, mientras que la forma tardía implica la síntesis de novo de proteínas cardioprotectoras en respuesta a una enfermedad aguda⁸³. El aumento de la expresión de proteínas cardioprotectoras es un sello distintivo de la forma tardía del PIR⁸³.

Durante los ciclos de preconditionamiento, se generan moléculas desencadenantes como radicales libre de oxígeno, óxido nítrico (NO) y opioides, que inician una compleja cascada de transducción de señales, incluida la activación de PKC ϵ , proteínas tirosina quinasas, JAK quinasas, así como factores de transcripción, como el factor nuclear κ B, STAT, etc. para finalmente inducir la transcripción de genes y el aumento de la expresión de proteínas cardioprotectoras. Las principales proteínas que median la protección contra el infarto y al contrario que con la forma aguda del PIR, actúan también contra el aturdimiento de las 24 a 48 horas, incluyen la NOS inducible, la COX2, el superóxido dismutasa, la aldosa reductasa y la hemooxigenasa⁶⁷.

Hay varios problemas no resueltos con los fenómenos de preconditionamiento, incluidas las diferencias entre especies, los diferentes tipos de preconditionamiento, las relaciones de dosis-respuesta y la

organización espacial y temporal de las señales cardioprotectoras. Un ejemplo de ello se encuentra entre las proteínas STAT, donde la proteína STAT 3, molécula de señalización importante en roedores y cerdos, ha demostrado su implicación con la reducción del infarto en situaciones de PIR, pero aparentemente la proteína STAT 5 fue la única molécula de señalización encontrada activada durante el PIR en humanos^{67,79,84}. No obstante, un estudio publicado en el año 2017 sobre el efecto cardioprotector del preconditionamiento isquémico remoto en niños intervenidos de Tetralogía de Fallot, detectó por primera vez la activación de la proteína STAT 3 en humanos⁸⁰.

1.3.3 Implicaciones clínicas

La identificación de parte de los mecanismos celulares causantes de la muerte celular ha dado a conocer algunas de las dianas terapéuticas sobre las que sería posible incidir. Esto permitiría, poner en marcha nuevos estudios con finalidad cardioprotectora, primero en modelos animales y más tarde, a través de ensayos clínicos, en pacientes. El PIR es una intervención inocua y fácilmente aplicable que cumpliría con dicha finalidad cardioprotectora.

La aplicación clínica del PIR requiere una intervención que se pueda instituir antes del evento isquémico miocárdico, lo que restringe su implementación en entornos clínicos en los que el evento isquémico no puede ser anticipado. De ahí el interés en el contexto de la cirugía donde podemos actuar antes de que se produzca el evento.

El grado de lesión del miocardio se evalúa realizando mediciones de marcadores cardíacos que revelan el estado funcional del corazón. Los

biomarcadores específicos y sensibles ampliamente utilizados para evaluar la función cardíaca incluyen los niveles de troponina cardíaca troponina I (cTnI) y T (cTnT). Las implicaciones clínicas que derivan de la lesión miocárdica deben ser consideradas y evaluadas, tales como la aparición de arritmias o afectación de órganos distales (función renal, etc) donde también el PIR confiere una protección⁶⁶.

La insuficiencia renal aguda (IRA) es una complicación común tras la cirugía cardíaca. La IRA se evalúa analizando varios parámetros, entre ellos el aclaramiento de creatinina que se correlaciona con el filtrado glomerular o los valores de creatinina en sangre. En la última década diferentes estudios han evidenciado una disminución del daño renal en pacientes a los que se le realiza a preconditionamiento remoto no solo en pacientes sometidos a cirugía cardíaca⁸⁵ sino también en aquellos sometidos a trasplante renal favoreciendo la recuperación precoz de la función renal en los receptores y disminuyendo la posibilidad de rechazo agudo⁸⁶.

La primera aplicación exitosa de PIR en el entorno clínico fue realizada por Cheung et al⁸⁷, quienes publicaron en 2006 que un estímulo de PIR con cuatro ciclos de 5 minutos de isquemia en miembros inferiores fue capaz de reducir la lesión miocárdica, mejorar la resistencia de las vías respiratorias y disminuir la necesidad de soporte vasoactivo en niños sometidos a cirugía cardíaca correctiva por cardiopatía congénita. Poco después se publicó que al usar ciclos de 3 a 5 minutos de isquemia en la extremidad superior fue capaz de reducir la lesión miocárdica (reducción del 43% en la troponina-T sérica liberada durante 72 h) en pacientes adultos sometidos a cirugía electiva de revascularización miocárdica⁸⁸.

II. JUSTIFICACIÓN

II. JUSTIFICACIÓN

Varios de los estudios de preconditionamiento en pacientes intervenidos de revascularización miocárdica bajo CEC han detectado una reducción significativa (de hasta el 50%), de la elevación de enzimas cardiacas en el postoperatorio y, por ende, de lesión miocárdica^{82,88,89,90,91,92}.

La evidencia de los beneficios del PIR como técnica de cardioprotección es controvertida. Sin embargo, ésta ha sido utilizada escasamente en pacientes sometidos a OP-CABG, y existen muy pocos estudios publicados al respecto. Hong et al⁹³ llevaron a cabo un ensayo prospectivo randomizado sobre PIR en pacientes sometidos a cirugía de revascularización sin CEC. Los niveles de troponina postoperatorios fueron menores en el grupo de PIR, pero no existieron diferencias significativas con el grupo control. Estos resultados fueron inesperados ya que la técnica de PIR fue similar a la utilizada en otros estudios en los que había tenido un potente efecto cardioprotector⁸⁸. El mismo grupo de investigadores utilizaron PIR y postcondicionamiento antes y después de realizar las anastomosis coronarias y publicaron un descenso significativo de las enzimas miocárdicas postoperatorias en ese grupo pero no pudieron demostrar que tuviera trascendencia en los resultados clínicos⁹⁴.

En la mayoría de los estudios solo se utiliza el preconditionamiento en una extremidad, mientras que si el procedimiento se aplicara de forma simultánea en varias extremidades podríamos provocar una respuesta mayor pudiendo obtener resultados significativos.

Los mecanismos moleculares que contribuyen al PIR son, sin duda, complejos y quedan muchas incógnitas por resolver. La hipótesis actual es que el PIR induce una respuesta neuro-humoral que, a su vez, induce una cascada de efectos posteriores. Sin embargo, hoy en día faltan por dilucidar si la evidencia de los modelos animales en cuanto a la presencia de proteínas cardioprotectoras y vías de señalización son aplicables a los seres humanos⁹⁵. La elucidación de nuevas vías de señalización subyacentes a la cardioprotección isquémica puede identificar mayor variedad de dianas terapéuticas para la cardioprotección farmacológica.

En resumen, el preconditionamiento isquémico remoto se considera una técnica prometedora de cardioprotección en cirugía cardíaca, pero hasta ahora no se han publicado trabajos con suficiente evidencia que puedan recomendar su uso en los pacientes sometidos a OP-CABG. Se necesitan nuevos ensayos con un diseño estadístico adecuado, que demuestren la validez teórica del PIR como protección miocárdica en la cirugía de revascularización sin CEC.

III. HIPÓTESIS

III. HIPÓTESIS

En la cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea (OP-CABG), la realización de ciclos de isquemia remota durante 20 minutos en miembro superior e inferior tras la inducción anestésica (4 ciclos de 5 min de isquemia) dará lugar a un acondicionamiento miocárdico protector frente a la isquemia que se reflejará en una reducción de los marcadores de daño miocárdico y en la modificación de los factores humorales que intervienen en el mecanismo, sobre los cuáles se podría intervenir. Además, el acondicionamiento isquémico remoto (PIR) disminuirá la morbimortalidad postoperatoria en términos de infarto, fracaso renal y arritmias.

IV. OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

4.1 General

Comparación del daño miocárdico después de una cirugía de revascularización miocárdica quirúrgica sin circulación extracorpórea en pacientes con y sin preconditionamiento isquémico remoto.

4.2 Específicos

4.2.1 Primario

Comparación de los niveles de Troponina I (TnI) 12 horas después de una cirugía de revascularización miocárdica sin CEC en pacientes con y sin PIR.

4.2.2 Secundarios

- Comparación de los niveles de TnI 6 y 24 horas después de una cirugía de revascularización miocárdica sin CEC en pacientes con y sin PIR.
- Comparación de los niveles máximos de TnI en los tiempos basal, 6, 12 y 24 horas después de una cirugía de revascularización miocárdica sin CEC en pacientes con y sin PIR.
- Comparación de la incidencia del evento combinado muerte por todas las causas, infarto miocárdico o conversión a CEC durante la estancia postoperatoria o en los 30 días siguientes.
- Comparación de la incidencia del evento combinado muerte por todas las causas, infarto miocárdico o conversión a CEC durante los 3 meses siguientes.

- Comparación de la incidencia de daño renal (disminución de al menos, un 20% del FG) perioperatorio (ingreso postoperatorio o en los 30 primeros días después de la cirugía) en los pacientes con y sin PIR.
- Comparación de la incidencia de fibrilación auricular de novo perioperatoria en los pacientes con y sin PIR.
- Analizar el posible efecto cardioprotector de la vía de señalización Jak/STAT3, a través de la activación de SOD (superóxido dismutasa), iNOS y COX-2 en los tiempos basal, 6 y 24 horas después de una cirugía de revascularización miocárdica sin CEC en pacientes con y sin PIR.
- Comparación de los niveles de citoquinas TNF e IL6, en los pacientes con y sin PIR, en los tiempos basal, 6 y 24 horas después de una cirugía de revascularización miocárdica sin CEC en pacientes con y sin PIR.

**V. MATERIAL Y
MÉTODOS**

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Características del estudio

Se diseñó un estudio tipo ensayo clínico aleatorizado y ciego del paciente y del analista. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Ensayos clínicos del Hospital Clínico San Carlos y se inició en Julio de 2015.

5.2 Población del estudio

El estudio se realizó en pacientes intervenidos de forma electiva de cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea en el Servicio de Cirugía Cardíaca del Hospital Clínico San Carlos, que fueron aleatorizados 1:1 a recibir o no preconditionamiento isquémico remoto. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado que brindaba información sobre el estudio y autorizada a recibir o no el preconditionamiento isquémico remoto, la toma de muestras sanguíneas y su posterior análisis (**Anexo IV**).

Para detectar diferencias de niveles de TnI de 1,3 ng/ml, asumiendo una desviación estándar de los niveles de TnI de 3 ng/ml, con una potencia el 80%, el tamaño muestral necesario era de 168 pacientes. Asumiendo una pérdida de, aproximadamente un 10% de los pacientes, el tamaño muestral necesario para los objetivos de este estudio era de 190 pacientes. Dado que la aleatorización seguía una ratio 1:1, era necesario un total de 95 pacientes en cada rama que se pretendía alcanzar en un periodo de 18 meses (hasta diciembre de 2016). Sin embargo, debido al lento ritmo de reclutamiento de los pacientes, se decidió interrumpir el estudio en febrero de 2018 y realizar un análisis de los resultados con los pacientes intervenidos hasta la fecha.

5.2.1 Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes candidatos a una cirugía de revascularización miocárdica quirúrgica aislada electiva.
- Pacientes en los que se planeaba que dicha revascularización fuese sin circulación extracorpórea.

5.2.2 Criterios de exclusión

- Embarazo.
- Deseo expreso de ser intervenido con circulación extracorpórea.
- Patología concomitante que obligase a cualquier otro procedimiento quirúrgico distinto de una revascularización miocárdica aislada.
- Imposibilidad por motivos físicos, mentales o sociales para cumplir con el protocolo de seguimiento del estudio.
- Cirugía emergente. Es la cirugía que se realiza en el momento de tomar la decisión quirúrgica.
- Infarto miocárdico previo reciente. En el momento de la inclusión, los niveles de Tnl debían estar dentro de los parámetros de normalidad según el criterio del laboratorio del Hospital Clínico San Carlos.
- Situación hemodinámica inestable en el momento de la inclusión (soporte vasoactivo, arritmias ventriculares o asistencia con balón de contrapulsación intraaórtico).
- Hepatopatía grave.

- Insuficiencia renal con aclaramiento de creatinina <30 ml/min.
- Antecedentes de arteriopatía periférica diagnosticada a cualquier nivel (miembros superiores o inferiores, troncos supraaórticos, vísceras abdominales, aorta abdominal o torácica...)
- Participación en otro ensayo clínico.

5.3 Precondicionamiento

El precondicionamiento se indujo mediante isquemia controlada en las extremidades con dos manguitos de presión arterial estándar colocados en un brazo y un muslo del paciente. Los manguitos se inflaban de forma simultánea por encima de los 200 mmHg y se mantenían así durante 5 minutos. Cuando la presión arterial superaba los 185 mmHg se inflaba el manguito con un incremento de 30 mmHg por encima de dicha cifra (**Figura 8**). Terminado este primer periodo de isquemia se desinchaban los manguitos iniciando el periodo de reperfusión y se esperaban 5 minutos antes de comenzar otro ciclo similar al anterior de 5 minutos de isquemia. De manera que el tiempo total de isquemia (precondicionamiento isquémico remoto) era de 20 minutos ((5+5) x 2).



Figura 8. Técnica del PIR en el quirófano. Durante la inducción anestésica, dos manguitos de presión arterial se inflaban de forma simultánea en el brazo y en el muslo.

5.4 Técnica quirúrgica

Todos los pacientes se intervinieron bajo anestesia general, por esternotomía media y con monitorización consistente en vía venosa central, arteria radial, electrocardiograma, pulsioximetría, temperatura nasofaríngea y vesical, sondaje vesical convencional y ecocardiografía transesofágica. La anestesia consistió en una premedicación con midazolam intravenoso, inducción con etomidato, y mantenimiento con sevoflurano inhalado y remifentanilo en infusión intravenosa continua.

En primer lugar, se exploraban los vasos coronarios epicárdicos y posteriormente, se disecaban los injertos vasculares necesarios para llevar a cabo la revascularización de la forma más completa posible. Los injertos utilizados podían ser de arteria mamaria interna desnuda (**Figura 9.A**), de arteria radial o vena safena en función del número y de la calidad de los vasos a revascularizar. Al realizarse sin circulación extracorpórea, la administración de heparina sódica fue a razón de 1mg/Kg de peso. Para la manipulación del corazón y la exposición de los vasos coronarios se utilizó el dispositivo CoroNeo™ (Coro-Neo Medical Systems, Montreal, Canadá) que consigue una estabilización local y la inmovilización del vaso diana mediante un mecanismo de presión. Para la cara lateral y posteroinferior, además se utilizaron unos puntos a nivel del pericardio posterior para traccionar y posicionar el corazón. Para llevar a cabo las anastomosis distales en los vasos coronarios se excluía de la circulación de forma temporal el segmento de la arteria coronaria donde se iba a hacer la anastomosis mediante un punto de silicona en “U” con la sutura de Silastic™ (Sertilacs. Peters, Laboratoire Pharmaceutique™) correspondiéndose al momento de la isquemia local. En primer lugar, se

revascularizaba la cara anterior del corazón (arteria descendente anterior y arterial diagonal), después la cara lateral (ramos marginales de la arteria circunfleja) y finalmente, la cara posteroinferior (ramos posterolaterales y descendente posterior). Las anastomosis coronarias se llevaron a cabo con sutura continua de polipropileno de 7.0 con la técnica de paracaídas (**Figura 9.B**). Las anastomosis proximales a la aorta se realizaban una vez hechas las anastomosis distales con sutura continua de polipropileno de 6.0 con la técnica de paracaídas tras un pinzamiento lateral en la aorta. Una vez completadas las anastomosis se comprobaba a la permeabilidad del injerto mediante flujometría por tiempo de tránsito (Medistim VeriQ; Medistim, Oslo, Noruega) y se revertía la heparina con protamina en una relación 1:1. Por último, se realizaba hemostasia y cierre esternal con alambres de acero inoxidable o bridas.

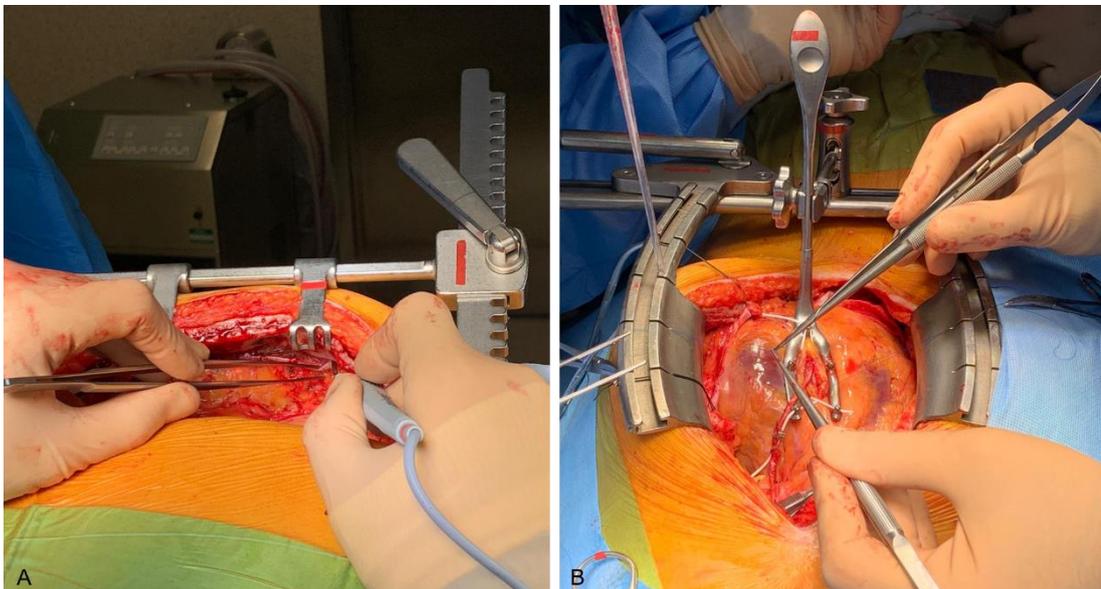


Figura 9. Técnica quirúrgica de la revascularización miocárdica. A. Disección de la arteria mamaria interna izquierda desnuda. **B.** Anastomosis en paracaídas de la arteria mamaria interna izquierda a la arteria descendente anterior con el estabilizador coronario CoroNeo™ y los puntos de silicona en “U” con la sutura de Silastic™.

5.5 Análisis de laboratorio.

La determinación de marcadores de daño miocárdico se efectuó mediante la cuantificación de la concentración plasmática de los niveles de troponina (TnI) de sangre venosa periférica mediante un análisis de sangre ordinario en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital Universitario San Carlos. Se realizaron cinco determinaciones: basal, a las 6, 12, 24 horas y una determinación antes del alta hospitalaria.

La obtención de los componentes sanguíneos para la extracción de las proteínas y citoquinas implicadas se realizó mediante el procesamiento de las muestras de sangre venosa periférica de las determinaciones basal, a las 6 horas y a las 24 horas en el laboratorio de la Unidad de Investigación Cardiovascular perteneciente al Instituto Cardiovascular del Hospital Clínico san Carlos y en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense.

5.5.1 Preparación de las muestras.

Para el procesamiento de las muestras se obtuvieron seis tubos de 4ml de sangre venosa periférica por cada paciente. Fueron tres con tubos EDTA (tapón malva), otros dos tubos con Citrato (tapón azul) y otro tubo seco (tapón rojo). Este último se enviaba directamente al laboratorio central para cuantificación de la concentración plasmática de los niveles de TnI. El resto de los tubos, debidamente identificados, se mantenían a temperatura de 4-8°C hasta su procesamiento.

El procesamiento de las muestras con EDTA tenía el objetivo de separar las células mononucleares (CMN) de la sangre periférica mediante gradiente de densidad de Ficoll. Para ello se recogían en dos tubos Falcon de 15 ml cantidades de 4 ml solución de Ficoll en cada uno y se añadía lentamente 4 ml de sangre prestando atención que resbalara por la pared del tubo para evitar la hemólisis.

Las muestras resultantes en los dos tubos Falcon de 15 ml se centrifugaban a 4°C a 2300 rpm durante 25 min. Tras la centrifugación se observaban 3 fases:

- La primera fase, fase superior de color amarillento correspondía con el plasma.
- La segunda fase, fase media de color blanco correspondía con los leucocitos.
- La tercera fase. fase inferior de color rojo correspondía con los glóbulos rojos.

Se identificaba entonces una zona grumosa en la zona intermedia del tubo, entre la primera y segunda fase, correspondiente a las de células mononucleares (**Figura 10**). Esa zona se recogía con una pipeta Pasteur y se añadía a un tubo Falcon de 15 ml. A dicho tubo se añadía una solución de lavado (PBS) y se realizaba un lavado a 1700 rpm durante 7 minutos desechando el sobrenadante.

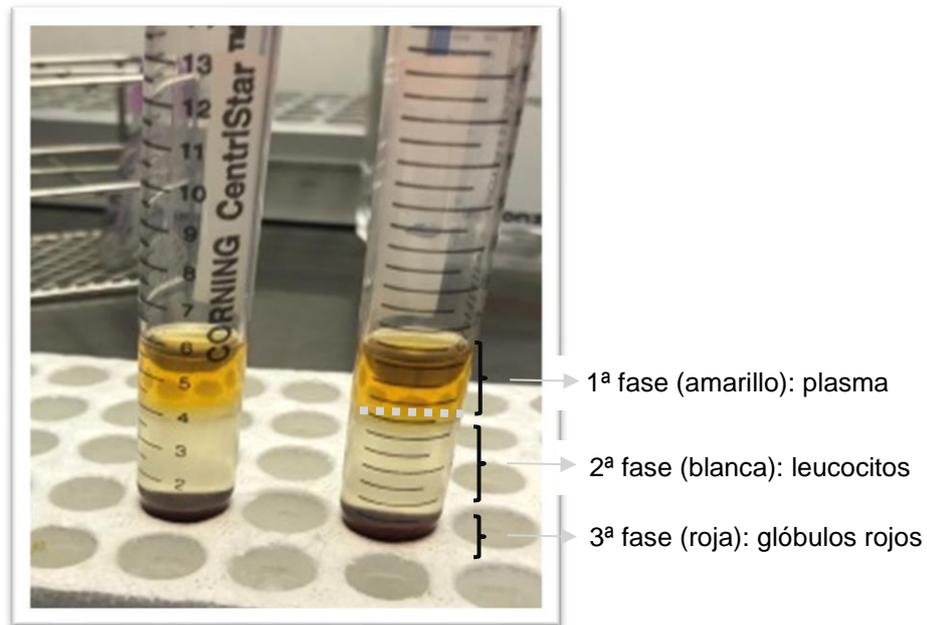


Figura 10. Tubos Falcon de 15 ml con componentes sanguíneos separados por gradiente de densidad de Ficoll tras centrifugación. Se diferencian 3 fases: La primera fase o superior de color amarillo correspondiente con el plasma. La segunda fase o la del medio de color blanco correspondiente con los leucocitos. La tercera fase o inferior de color rojo correspondiente con los glóbulos rojos. La zona punteada corresponde con las células mononucleares.

El procesamiento de las muestras recogidas en tubos con citrato sódico tenía el objetivo de obtener plasma. Para el procesamiento de las muestras con citrato sódico, los dos tubos de 4 ml sangre se centrifugaban a 4°C a 2300 rpm durante 10 minutos en los siguientes 30 minutos de la recolección de la muestra. Tras la centrifugación, se identificaban dos fases. Una fase superior de color amarillo correspondiente al plasma y una inferior de color rojo correspondiente a los glóbulos rojos (**Figura 11**). El plasma se recogía con una pipeta Pasteur y se añadía a un tubo Eppendorf, el resto de la muestra se desechaba.

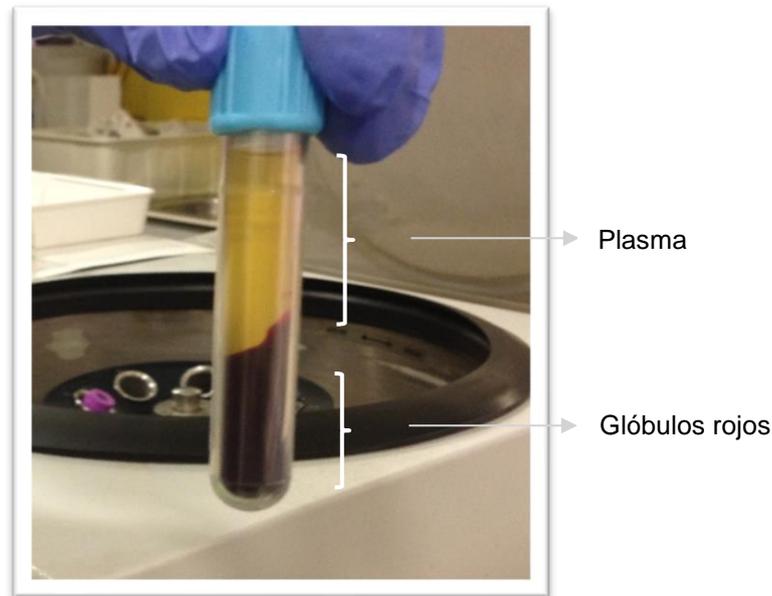


Figura 11. Tubo con citrato sódico de 4 ml de sangre periférica tras centrifugación. Se diferencian dos fases. Una superior de color amarillo correspondiente al plasma y una inferior de color rojo correspondiente a los glóbulos rojos.

Ambas muestras, el tubo Falcon con las CMN y los tubos Eppendorf con el plasma, se mantuvieron congeladas a -80°C hasta su posterior análisis.

5.5.2 Cuantificación de la concentración plasmática de los niveles de TnI.

La troponina es una proteína que colabora en el acoplamiento actina-miosina que se produce durante la contracción muscular. Comprende tres subunidades: troponina T, troponina I y troponina C⁹⁶.

Las troponinas I y T presentes en el músculo cardíaco presentan unas características peculiares, y se han desarrollado técnicas de inmunoanálisis específicas para su detección que no presentan reactividad cruzada alguna con las formas de troponina T y troponina I existentes en el músculo

esquelético⁹⁷. Ambas presentan una sensibilidad y especificidad similares y muy elevadas para la detección de lesión miocárdica, aunque recientemente se ha descrito una mayor sensibilidad para la TnI en la lesión miocárdica⁹⁶. A diferencia de la corta duración de la elevación de la creatina-fosfoquinasa (CPK) tras una lesión miocárdica, las concentraciones de las troponinas cardíacas permanecen elevadas durante al menos una semana después del inicio de los síntomas⁹⁸.

La troponina I cardíaca se detecta en suero o plasma de pacientes, usando anticuerpos monoclonales específicos. Los anticuerpos discriminan la isoforma cardíaca de la isoforma esquelética reconocen la molécula libre de la que forman complejos⁹⁹.

El intervalo de referencia de troponina I por técnicas de quimioluminiscencia en el Hospital Clínico San Carlos se sitúa entre 0,001-0,05 ng/ml¹⁰⁰.

5.5.3 Cuantificación de las proteínas de las células mononucleares. Western Blot.

Para la extracción de las proteínas del citoplasma de las células mononucleares se descongelaron los tubos Falcon de 15 ml almacenados. Se centrifugaron a 3.000 rpm a una temperatura de 4°C durante 5 minutos. Tras desechar el sobrenadante se añadía 500µl de RIPA buffer + 10µl de Inhibidor Halt de proteasas por cada tubo Falcon. Se incubó durante 15 minutos en hielo y después de 3 ciclos de sonicación más se volvía a incubar durante 15 minutos en hielo. Posteriormente se centrifugaban las muestras a 14.000 rpm con una temperatura de 4°C durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido

correspondía con las proteínas del citosol. Este se concentraba en Amicon Ultra 4, se centrifugaba de nuevo a 4.000 rpm con una temperatura de 4°C y tiempo inicial 30 minutos con frenada paulatina a los 10 minutos hasta dejarlo en un volumen aproximadamente de 100-150 µl. Por último, se llevaba a cabo la precipitación de proteínas con acetona (5 volúmenes) y la resuspensión del pellet en 50 µl buffer de lisis (7M urea, 2M tiurea y 4% CHAPS).

Para cuantificar las proteínas específicas se utilizaron los lisados de las células mononucleares, los cuales una vez descongelados, fueron cuantificadas mediante el método de Bradford¹⁰¹.

Se utilizó la misma cantidad de proteína de cada una de las muestras, se mezclaron con tampón de carga compuesto por SDS al 10%, glicerol al 87%, 2-mercaptoetanol al 5%, azul de bromofenol al 0,002% y Tris-HCl 0,5M con pH 6,8, y se calentaron a 95°C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas. A continuación, se realizó la electroforesis en SDS-PAGE, utilizando el sistema de electroforesis Mini-PROTEANII® Tetra Cell (BIO-RAD®) aplicando un voltaje inicial de 80 V durante 5-10 min, seguido de un voltaje constante de 25mA/gel durante 1 hora. Después del SDS-PAGE las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (BIO-RAD®) mediante transferencia semiseca (Trans-Blot® Turbo™ Transfer System, BIO-RAD®) durante 40 minutos a 20 V, utilizando el siguiente tampón de transferencia: Tris 25mM, Glicina 151,8 mM y metanol al 20% (v/v). A continuación, las proteínas se tiñeron sumergiendo las membranas de nitrocelulosa en una solución de Rojo Ponceau (Sigma) al 0,2% en ácido tricloroacético 30% (p/v) y ácido sulfosalicílico al 30% (p/v) durante 1 minuto,

tras lo cual se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de colorante y tomamos una imagen digitalizada de cada membrana con el densitómetro (GS-800 Calibrated Densitometer, BIO-RAD®). Las proteínas fueron bloqueadas a temperatura ambiente durante 1 hora, utilizando un tampón PBS/Tween20 0.1% (v/v) con leche en polvo desnatada 7.5% (p/v) y a continuación incubamos las membranas durante toda la noche a 4°C con el anticuerpo primario diluido en tampón PBS con 5% (p/v) de leche en polvo desnatada. Los anticuerpos primarios utilizados y sus diluciones utilizadas fueron: Stat3 diluido 1/500 y (cell Signaling Technology) y P-Stat3 a 1/250 (cell Signaling Technology).

Al finalizar la incubación con el anticuerpo primario, se lavaron las membranas con PBS-Tween y se incubaron durante una hora a temperatura ambiente con un anticuerpo secundario conjugado a una peroxidasa de rábano diluido en PBS con 5% de leche desnatada en polvo. Los anticuerpos secundarios utilizados y sus diluciones fueron: Stat3: Anti-Mouse Trueblot (SIGMA ALDRICH) conjugado HRP diluido a 1/10.000 y P-Stat3: Anti-Rabbit IgG (SIGMA ALDRICH) conjugado HRP diluido a 1/1000 (**Tabla 3**).

Proteína	Anticuerpo/kit	Dilución Ac 1 ^a	Dilución Ac 2 ^o	Muestra
P-STAT 3	Anti-Rabbit IgG (SIGMA ALDRICH) conjugado HRP	1:250	1:1000	CMN
STAT3	Anti-Mouse Trueblot (SIGMA ALDRICH) conjugado HRP	1:500	1:10000	CMN

Tabla 3. Proteínas analizadas por Western Blot de las CMN con los anticuerpos primarios y secundarios utilizados con sus correspondientes diluciones.

Finalmente, tras volver a lavar con PBS-Tween, se visualizaron las bandas de proteínas utilizando el método quimioluminiscente basado en la oxidación del luminol por acción del peróxido de hidrógeno catalizado por la peroxidasa de rábano (ECL Western blotting Detection Reagents, GE Healthcare). Mediante la realización de un densitometrado de las bandas visualizadas, utilizando el programa informático Quantity One (BIO-RAD) se cuantificó el nivel de expresión de las proteínas. El estudio estadístico de los datos obtenidos (unidades arbitrarias de desintometría), se realizó aplicando la prueba de t de Student, considerándose estadísticamente significativas las diferencias con un valor de $p \leq 0,05$.

5.5.4 Determinación de citoquinas (IL-6 y TNF α) en el plasma mediante técnica ELISA

Para detectar las citoquinas en el plasma se llevó a cabo la técnica ELISA con kits que se utilizaron siguiendo las instrucciones de la casa comercial Invitrogen.

Se llevó a cabo la técnica ELISA tipo sándwich o ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos. Se recubrieron los pocillos de las placas empleadas para realizar la técnica con un primer anticuerpo anti-antígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpo, se aplicó el plasma en la que se encuentra el antígeno (IL6 o TNF α), retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después de un segundo lavado que eliminó el material no retenido, se aplicó una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado. Así, pues, cada molécula de antígeno estuvo unida a un anticuerpo en la base que lo retuvo y un segundo anticuerpo, al menos, que lo marcó. Los kits utilizados se muestran en la **Tabla 4**.

Citoquinas	Anticuerpo/kit	Ensayos	Muestra
TNF- α	TNF alpha ELISA Kit, Human	96	50 μ l
	(invitrogen). Número de catálogo: BMS223HS		plasma (citrato)
IL-6	IL-6 Human ELISA Kit (Invitrogen)	96	50 μ l
	Número de catálogo: BMS 213-2		plasma (citrato)

Tabla 4. Citoquinas analizadas por ELISA en el plasma (citrato) con los anticuerpos primarios y secundarios utilizados.

5.6 Variables analizadas

5.6.1 Preoperatorias

- Factores demográficos: edad (años) y sexo.
- Factores antropométricos: talla (cm), peso (kg).

- Constantes vitales: frecuencia cardiaca (latidos por minuto), ritmo cardiaco (ritmo sinusal, fibrilación auricular), tensión arterial (mmHg).
- Factores de riesgo cardiovascular: tabaquismo, hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus, antecedentes de infarto miocárdico, accidente cerebrovascular, patología arterial periférica o cerebrovascular, antecedentes familiares de cardiopatía isquémica.
- Intervenciones quirúrgicas previas cardiacas o no cardiacas.
- Medicación consumida habitualmente.
- Otras comorbilidades que interfieren en el riesgo quirúrgico: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), insuficiencia renal, insuficiencia cardiaca según clase funcional de la asociación cardiaca de Nueva York o New York Heart Association (NYHA), clase de la angina según la sociedad cardiovascular canadiense o Canadian Cardiovascular Society (CCS), fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), presión sistólica en la arteria pulmonar.
- Riesgo quirúrgico perioperatorio en base a las escalas de riesgo EuroSCORE I y II.
- Exploraciones de laboratorio: hemograma completo, perfil de coagulación, función renal, marcadores de daño miocárdico (TnI, CPK, CPK MB).
- Exploraciones imagen: ecocardiograma transtorácico y/o transesofágico en los tres meses previos a la intervención con determinación de FEVI, análisis segmentario de la contractilidad, presión arterial pulmonar, análisis de valvulopatías.
- Información preoperatoria referente a los criterios de inclusión y exclusión.

5.6.2 Quirúrgicas

- Fecha, hora y duración del procedimiento quirúrgico.
- Prioridad de la indicación de la cirugía diferenciándose 3 opciones:
 - o Lista de espera: admisión de rutina para la operación.
 - o Preferente: pacientes que no han sido admitidos de manera electiva para la operación pero que requieren intervención o cirugía en el ingreso actual por razones médicas. Estos pacientes no pueden ser enviados a casa sin un procedimiento definitivo.
 - o Urgencia: intervención que se realiza antes del comienzo del siguiente día hábil tras la decisión de operar.
- Tiempo quirúrgico y anestésico.
- Tiempos de oclusión de las arterias coronarias.
- Tiempo de CEC e isquemia miocárdica por pinzado aórtico si fuese preciso una conversión a CEC la cual se define como el inicio de CEC durante un procedimiento que estaba planificado a realizarse sin CEC.
- Asignación de la intervención: PIR o Control.
- Número de injertos realizados, revascularización completa o incompleta, número de injertos arteriales y venosos, flujo de los injertos, arteria coronaria que recibe cada injerto, calidad y diámetro de cada vaso coronario injertado.

5.6.3 Postoperatorias

- Cualquier evento adverso en el postoperatorio y hasta el momento del alta:
 - Reoperación por sangrado.

- Infarto agudo de miocardio (IAM) perioperatorio: cualquier elevación de la troponina por encima de 20 ng/ml independientemente de la presencia de cambios electrocardiográficos o ecocardiográficos.
- Accidente cerebrovascular (ACV): déficit neurológico focal o generalizado acompañado de imagen radiológica compatible y un incremento en al menos un punto de la escala modificada de Rankin.
- Fibrilación auricular (FA).
- Insuficiencia renal (IR): aclaramiento de creatinina (ClCr) <60 ml/min o una disminución del 20% de la ClCr preoperatoria en caso de estar disminuida.
- Mortalidad.
- Información referente a todas las exploraciones complementarias realizadas durante este tiempo (pruebas de imagen, exploraciones de laboratorio, marcadores de daño miocárdico, etc.).
- Días de estancia hospitalaria y en la unidad de cuidados postoperatorios.
- Medicación al alta

5.6.4 Seguimiento

- Información clínica referente a la clase funcional del paciente, exploración física, medicación y exploraciones complementarias.
- Eventos adversos: IAM, ACV, FA, IR, necesidad de reintervención, mortalidad.

5.7 Análisis estadístico

Para el análisis de la normalidad de las variables cuantitativas se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov. Las variables continuas con distribución normal se expresan con su media y desviación estándar. Las no normales se expresan con mediana y rango intercuartil. La comparación entre los dos grupos de las variables cuantitativas se realizó mediante un test t de Student o test de Wilcoxon para muestras independientes. Las variables categóricas se expresan con frecuencia absoluta y relativa (%). Las variables categóricas se compararon mediante test de ji cuadrado. El umbral de significación estadística se estimó con una probabilidad p de cometer un error tipo I (alpha) <0.05 .

Se comparó la distribución de las variables basales en los dos grupos para comprobar la eficacia de la aleatorización, de suerte que el análisis comparativo de los eventos del estudio fue ajustado por cualquier variable con una distribución asimétrica en los dos grupos con una $p < 0,1$ (mediante regresión lineal múltiple o logística binaria en función de la variable efecto). El análisis se realizó por intención de tratar, de suerte que los eventos de seguridad fueron asignados a la intervención asignada independientemente de si esta se pudo llevar a cabo o no. Todos los test efectuados fueron de dos colas. El análisis se realizó con STATA 13.

5.8 Aspectos éticos

Se cumplieron las normas de buena práctica clínica (Orden SCO 256/2007, BOE 13-II-2007) y la legislación vigente en el desarrollo de ensayos

clínicos (RD 223/2004). Se respeta la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (Ley orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, BOE 2018; 294: 119788-857). Este estudio se atuvo a la Declaración de Helsinki sobre los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos (enmienda de la 59ª Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en Seúl, Corea, 2008).

Los pacientes leyeron, aceptaron y firmaron un consentimiento informado específico para el estudio (**Anexo 4**). La no aceptación o retirada de dicho consentimiento imposibilitó la inclusión o la continuidad del paciente en el estudio.

El estudio se aprobó por el Comité Ético del Hospital Clínico San Carlos (**Anexo 5**). Una vez dentro del estudio, cualquier paciente pudo decidir libremente dejar de participar y retirar su consentimiento.

VI. RESULTADOS

VI. RESULTADOS

6.1 Descripción de la muestra

Desde junio de 2015 hasta febrero de 2018 se incluyeron en el estudio 106 pacientes intervenidos de manera programada de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea. Esto supone el 55,8% del tamaño muestral calculado para obtener resultados estadísticamente significativos. El resultado de la aleatorización fue equitativo con 53 pacientes (50%) en el grupo control y 53 pacientes (50%) en el grupo PIR. Entre los pacientes incluidos en el grupo PIR, el acondicionamiento isquémico remoto se realizó sin incidencias excepto en dos pacientes (3,8%) en los que hubo problemas con el hinchado del manguito. En uno de ellos, tras la realización del primer ciclo de forma correcta, el manguito no volvió a llenarse de aire y en el otro paciente, no funcionó desde el principio.

La edad media de los pacientes fue de 65,3 años (DE 9,7) y la mayoría fueron varones (n= 94; 88,7%). El EuroSCORE logístico medio fue de 3,5 (DE 5,6). Más de una cuarta parte de los pacientes (n= 26; 24,5%) habían tenido una revascularización percutánea previa. Tan solo 10 pacientes (9,4%) se encontraban en una clase NYHA ≥ 3 en el momento de la cirugía. En nuestra serie encontramos a 6 pacientes (5,7%) con un leve deterioro de la función renal con aclaramiento de creatinina por debajo 60 ml/min. Más de la mitad de los pacientes (n= 67; 63,2%) tenían una FEVI normal por encima del 60% y ningún paciente se encontraba con la FEVI severamente deprimida por debajo del 20%. El TCI se encontraba afectado en 39 pacientes (36,8 %) y la

enfermedad multivaso estaba presente en 85 pacientes (80,2%). La mayoría de los pacientes se intervinieron ya hospitalizados (n=72; 67,9%).

Otras características basales de ambos grupos se muestran en la **Tabla 5** y todas ellas eran comparables.

Tabla 5. Características basales de la muestra

	Total pacientes (N=106)	Grupo Control (n=53)	Grupo PIR (n= 53)	p
Edad media (años)	65,3 (DE 9,7)	64,9(DE 10,2)	65,7(DE 9,2)	0,648
Hombres	94 (88,7%)	50 (94,3%)	44 (83%)	0,07
ES medio				
Logístico	3,5 (DE 5,6)	3,7 (DE 7,3)	3,3 (DE 5,6)	0,38
ES II	2,5 (DE 4,7)	2,9 (DE 6,3)	2,2 (DE 2,3)	0,253
Fumador				
No	49 (46,2%)	23 (43,4%)	26 (49,1%)	0,585
Previo	45 (42,5%)	25 (47,2%)	20 (37,7%)	
Actual	12 (11,3%)	5 (9,4%)	7 (13,2%)	
ACTP previa	26 (24,5%)	12 (22,6%)	14 (26,4%)	
DM				0,192
No	52 (49,1%)	23(43,4%)	29 (54,7)	
ADO	35 (33%)	17 (32,1%)	18 (34%)	
Insulina	19 (17,9%)	13 (24,5%)	6 (11,3%)	
HTA	72 (67,9%)	35 (66%)	37 (69,8%)	0,677
Dislipemia	63 (59,4%)	29 (54,7%)	34 (64,1%)	0323
Hª familiar EC	0	0	0	
EPOC	7 (6,6%)	5 (9,4%)	2 (3,8%)	0,312
ACVt previo	8 (7,6%)	3 (5,7%)	5 (9,4%)	0,462
FG< 60 ml/min	6 (5,7%)	2 (3,8%)	4 (7,6%)	0,401
CCS ≥ 3	33 (31,1%)	16 (30,2%)	17 (32,1%)	0,108
NYHA ≥ 3	10 (9,4%)	3 (5,7%)	7 (13,2%)	0,140
FEVI media	57,4 (DS 9,3)	56,7 (DS 9,7)	58 (DS 9)	0,76
Rango FEVI				0,594
>60%	67 (63,2%)	31 (58,5%)	36 (67,9%)	
51-60%	19 (17,9%)	11 (20,8%)	8 (15,1%)	
31-50%	19 (17,9%)	10 (18,9%)	9 (17%)	
21-30%	1 (0,94%)	1 (1,9%)	0	
<21%	0	0	0	
Afectación del TCI	39 (36,8%)	20 (37,7%)	19 (35,9%)	0,581
Nº de vasos enfermos distintos al TCI				0,585
1 vaso	7 (6,6%)	4 (7,6%)	3 (5,7%)	
2 vasos	13 (12,3%)	5 (9,4%)	8 (15,1%)	
3 vasos	85 (80,2%)	44 (83%)	41 (77,4%)	
Prioridad				0,105
Lista de espera	23 (21,7%)	16 (30,1%)	7 (13,2%)	
Hospitalizados	72 (67,9%)	32 (60,4%)	40 (75,5%)	
Urgentes	11 (10,4%)	5 (9,4%)	6 (11,3%)	

ACTP: angioplastia coronaria percutánea. ACVt: accidente cerebrovascular transitorio. ADO: anti diabéticos orales. CCS: clase funcional de la angina. DM: Diabetes Mellitus. EC: enfermedad coronaria. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica. ES: euroSCORE. FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo. FG: filtrado glomerular. HTA: hipertensión arterial. IAM: infarto agudo de miocardio.

La reconversión a circulación extracorpórea (CEC) fue necesaria en 6 pacientes (5,7%) de los cuales 1 se pudo realizar sin isquemia miocárdica global y fue el único que pertenecía al grupo control. Los otros 5 pacientes reconvertidos pertenecían al grupo PIR. Las causas fueron por la presencia de vasos intramiocárdicos en 2 pacientes, de los cuales, uno de ellos fue el que se realizó sin pinzamiento aórtico. En otros 2 casos se decidió reconvertir por la necesidad de realizar múltiples injertos. En un paciente se descubrió de forma casual un fibroelastoma aórtico en la ecocardiografía transesofágica intraoperatoria por lo que tuvo que ser reconvertido para la intervención sobre el mismo. Por último, otro caso tuvo que ser reconvertido por inestabilidad hemodinámica durante el procedimiento.

El tiempo medio de oclusión coronaria local fue de 35,4 minutos (DE 18,5) siendo equiparable en ambos grupos (Control: 34,7 minutos; DE 14,3 vs PIR: 36,1 minutos; DE 22; p: 0,648) teniendo en cuenta que solo los pacientes reconvertidos a CEC y que tuvieron una isquemia miocárdica global fueron del grupo PIR con tiempo medio de isquemia de 70 minutos (DE 26,3).

El número medio de injertos realizados fue de 2,9 (DE 0,8) siendo lo más frecuente realizar tres puentes (n=57, 53,8%). El injerto más frecuentemente utilizado fue la mamaria izquierda en el 100% de las ocasiones y el menos utilizado fue la radial (n=7; 6,6%). La doble mamaria se llevó a cabo en algo menos de la mitad de los pacientes (n=43; 40,6%) La revascularización fue completa en 85 pacientes (80,2 %).

Entre los resultados intraoperatorios no hay diferencias significativas entra ambos grupos y se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Resultados intraoperatorios

Variables intraoperatorias	Total pacientes (N=106)	Grupo Control (n=53)	Grupo PIR (n= 53)	p
Reconversión CEC	6 (5,7%)	1 (1,9%)	5 (9,45%)	0,09
Tiempo de CEC (min)	83 (DE 21,2)	72	85,2 (DE 22,9)	
Tiempo de isquemia (min)	70 (DE 26,3)	0	70 (DE 26,3)	
Tiempo de oclusión coronaria (min)	35,8 (DE 18,2)	34,7 (DE 14,3)	37 (DE 21,4)	0,741
Injertos utilizados				
Mamaria	106 (100%)	53 (100%)	53 (100%)	
Doble mamaria	43 (40,6%)	24 (45,3%)	19 (35,9%)	0,323
Safena	78 (73,6%)	36 (67,9%)	42 (79,3%)	0,186
Radial	7 (6,6%)	3 (5,7%)	4 (7,6%)	0,696
Nº medio injertos	2,9 (DS 0,8)	2,9 (DS 0,8)	2,9 (DE 0,8)	0,594
Nº de injertos				0,324
1	4 (3,8%)	3 (5,7%)	1 (1,9%)	
2	25 (23,6%)	10 (18,9%)	15 (28,4%)	
3	57 (53,8%)	32 (60,4%)	25 (47,2%)	
>3	20 (18,9%)	8 (15,1%)	12 (22,6%)	
RM completa	85 (80,2%)	44 (83%)	41 (77,4%)	0,465

CEC: Circulación extracorpórea. RM: revascularización completa. Min: minutos.

6.2 Resultados clínicos

6.2.1 Periodo postoperatorio

En cuanto a las complicaciones postoperatorias no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos como se muestra en la **Tabla 7**.

La fibrilación auricular postquirúrgica se presentó en 21 pacientes (19,8%) (Control: n=13; 24,5% vs PIR: n= 8;15,1%; p=0,223). Seis pacientes (5,7%) desarrollaron un IAM perioperatorio (Control: n=4; 7,6% vs PIR: n= 2; 3,8%; p = 0,401), aunque solo en un paciente (0,9%) se evidenció oclusión de un injerto coronario que pertenecía al grupo control. La media de estancia en UCI fue de 1,8 días (DE 1,5) y de estancia hospitalaria fue de 6,5 días (DE 3,2). Solo un paciente (0,9%) falleció antes del alta hospitalaria por un accidente cerebrovascular permanente y fue uno de los pacientes que tuvo que ser reconvertido a CEC y realizar isquemia miocárdica global por inestabilidad hemodinámica.

Tabla 7. Resultados postoperatorios.

Variables postoperatorias	Total pacientes (N=106)	Grupo Control (n=53)	Grupo PIR (n= 53)	p
Estancia UCI (d)	1,8 (DE 1,5)	1,8 (DE 1)	1,9 (DE 1,8)	0,745
Mediastinitis	1 (0,9%)	1 (1,9%)	0	0,315
REDO por sangrado o TC	3 (2,8%)	1 (1,9%)	2 (3,8%)	0,558
Ventilación > 72h	1 (0,9%)	0	1 (1,9%)	0,578
FA PO	21 (19,8%)	13 (24,5%)	8 (15,1%)	0,223
IAM periopx	6 (5,7%)	4 (7,6%)	2 (3,8%)	0,401
Oclusión del injerto	1 (0,9%)	1 (1,9%)	0	0,315
ACV transitorio	1 (0,9%)	0	1 (1,9%)	0,315
HF/HD	1 (0,9%)	0	1 (1,9%)	0,315
Estancia hospitalaria(d)	6,5 (DE 3,2)	6,4 (DE 3,8)	6,6 (DE 2,5)	0,629
Mortalidad <30 d	1 (0,9%)	0	1 (1,9%)	0,315

ACV: accidente cerebrovascular. d: días. FA PO: fibrilación auricular postoperatoria. HF/HD: hemofiltro/hemodiálisis. IAM periopx: infarto agudo de miocardio perioperatorio. REDO: reintervención. TC: taponamiento cardiaco. UCI: unidad de cuidados intensivos.

6.2.2 Seguimiento

En el seguimiento al mes y a los tres meses de la intervención ningún paciente presentó un nuevo IAM. Un paciente falleció a los 3 meses debido a un tromboembolismo pulmonar masivo y pertenecía al grupo control.

6.3 Resultados de laboratorio

6.3.1 Determinación del aclaramiento de creatinina para valorar función renal

El análisis de la disfunción renal se estableció por el deterioro del filtrado glomerular medido por el aclaramiento de creatinina (CICr) de al menos un 20% del basal. En la muestra total de pacientes el CICr basal era de 79,17 ml/min (DE19,4). En cada una de las muestras tomadas posterior a la cirugía, tanto a las 6,12,24 horas, así como al alta, no solo no se objetivó deterioro de la función renal, sino que además en cada una de las muestras

se objetivó una mejoría, sobre todo a las 6 horas posteriores a la cirugía con un CICr de 91,5 ml/min (DE 21,8) tal y como se aprecia en la **Tabla 8**. Esta tendencia fue similar para ambos grupos sin evidenciarse diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 8. Resultados del aclaramiento de creatinina basal y en cada una de las muestras tomadas en el postoperatorio (6,12,24 horas y al alta).

CICr (ml/min)	Total pacientes (N=106)	Grupo Control (n=53)	Grupo PIR (n= 53)	p
Basal	79,17 (DE 19,4)	76,8 (DE 18,3)	81,7 (DE 20,3)	0,901
6 horas	91,5 (DE 21,8)	90,9 (DE 23,3)	92,2 (DE 20,2)	0,611
12 horas	86 (DE 20,1)	84,7 (DE 21,2)	87,4 (19)	0,752
24 horas	86 (DE 20,4)	82,6 (DE 19,3)	89,3 (DE 21)	0,960
Al Alta	81, 7 (DE 19)	80,4 (DE 19,7)	83,1 (DE 18,4)	0,761

CICr: Aclaramiento de creatinina.

6.3.2 Determinación de marcadores de daño miocárdico: Troponinas (TnI).

Los biomarcadores específicos y sensibles que utilizamos para valorar el daño miocárdico fueron las troponinas (TnI). Como criterio de exclusión del ensayo clínico se estableció el infarto miocárdico previo por lo que, en el momento de la inclusión, los niveles de TnI debían estar dentro de los parámetros de normalidad según el criterio del laboratorio del hospital que eran niveles de TnI < 0,05 ng/dl.

El análisis de los valores desconocidos y extremos de los niveles de troponina pone de manifiesto un total de 31 valores perdidos que, con respecto al total, supone un 5,9%, sobre todo a expensas de los valores de troponina al alta con 23 valores perdidos.

Los niveles de Tnl antes de la intervención se encontraban por debajo de 0,05 ng/dl en todos los pacientes (Control 0,016 DE 0,14 ng/dl vs PIR 0,028 DE 0,11 ng/dl, p: 0,796). Tras la cirugía, los niveles de Tnl se encuentran elevados en ambos grupos, con un pico mayor a las 12 y a las 24 horas. A pesar de que no se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, podemos observar que la media de los niveles Tnl a las 12 horas (Control 3,95 DE 15,1 ng/dl vs PIR 1,8 DE 1,155 ng/dl, p: 0,156) y a las 24 horas (Control 2,74 DE 8,3 ng/dl vs PIR 2,1 DE 3,59 ng/dl, p: 0,296) son menores en el grupo PIR (**Tabla 9** y **Figura 12**). En los pacientes reconvertidos a CEC, los niveles de Tnl durante el postoperatorio fueron significativamente mayores excepto en las muestras recogidas a las 12 horas como se muestra en la **Tabla 10**.

Tabla 9 y Figura 12. Resultados de las troponinas basales y en cada una de las muestras tomadas en el postoperatorio (6,12,24 horas y al alta).

Troponina (ng/dl)	Total pacientes (N=106)	Grupo Control (n=53)	Grupo PIR (n= 53)	p
Basal	0,022 (DE 0,76)	0,016 (DE 0,14)	0,028 DE (0,11)	0,796
6 horas	0,671 (DE 0,98)	0,68 (DE 1,3)	0,662 (0,56)	0,463
12 horas	2,9 (DE 10,9)	3,95 (DE 15,1)	1, 8 (DE 1,55)	0,156
24 horas	2,4 (DE 6,4)	2,74 (DE 8,3)	2,1 (DE 3,59)	0,296
Al Alta	0,878 (DE 2)	0,883 (DE 1,8)	0,87 (DE 2)	0,489

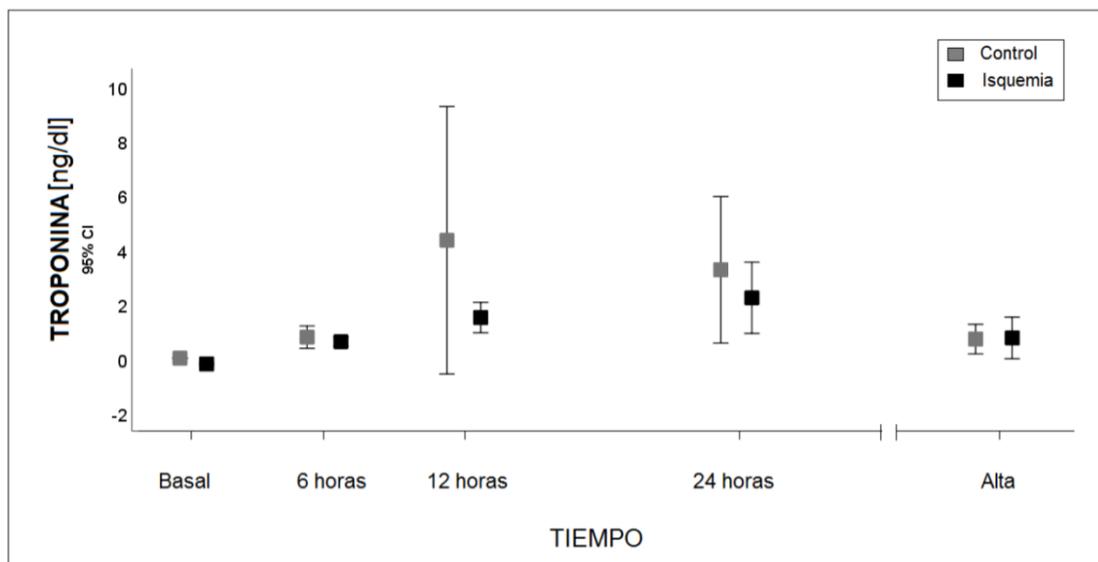


Tabla 10. Resultados de las troponinas basales y en cada una de las muestras tomadas en el postoperatorio (6,12,24 horas y al alta) en los pacientes reconvertidos a CEC.

Troponina (ng/dl)	Total pacientes (N=106)	CEC (n=6)	No CEC (n= 100)	p
Basal	0,022 (DE 0,76)	0,172 (SD 0,34)	0,001 (SD 0,01)	<0,05
6 horas	0,671 (DE 0,98)	2,96 (SD 3,54)	0,56 (SD 0,47)	<0,05
12 horas	2,9 (DE 10,9)	7,75 (SD 9,7)	2,65 (SD 10,89)	0,308
24 horas	2,4 (DE 6,4)	10,71 (SD 12,92)	1,98 (SD 5,72)	<0,05
Al Alta	0,878 (DE 2)	6,87 (SD 6,57)	0,65 (SD 1,31)	<0,05

6.3.3 Cuantificación de proteínas de las células mononucleares:

STAT 3.

Para determinar si la cardioprotección observada era debida a la activación de algunas cascadas citosólicas que diversos autores han relacionado con la presencia de cardioprotección, como las vías RISK o SAFE^{69,70}, analizamos el grado de fosforilación (o lo que es lo mismo, de activación) y la expresión total de una de las proteínas involucradas en la vía SAFE, la proteína STAT 3, mediante la técnica de Western Blot convencional¹⁰². Decidimos estudiar esta proteína, porque, a diferencia de la STAT 5⁷⁹, esta proteína no se había documentado previamente en humanos, sin embargo recientemente se ha publicado un estudio donde se evidencia por primera vez la presencia de la fosforilación de la STAT 3 en biopsias miocárdicas del tracto de salida de ventrículo derecho en niños intervenidos de Tetralogía de Fallot a los que se realizó PIR⁸⁰.

Se analizaron muestras de 8 pacientes. Cuatro de ellos pertenecían al grupo control identificados con la numeración 60,99,101 y 104; y los otros cuatro pertenecían al grupo de pacientes a los que se les realizó el preconditionamiento isquémico remoto (PIR) identificados con la numeración

94,96,102 y 105. En ambos grupos se obtuvieron los tiempos basales (TB) y a las 6 horas (T6H).

La cuantificación de proteínas se llevó a cabo según el método Bradford y los valores de la concentración de proteínas en cada una de las muestras se encuentran reflejadas en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Cuantificación de proteínas según método Bradford

Muestra	Media µg/µl	Muestra	Media µg/µl
PIR- CABG 60-TB	3,1	PIR- CABG 60-T6H	6,8
PIR- CABG 94-TB	5,5	PIR- CABG 94-T6H	4,0
PIR- CABG 96-TB	2,0	PIR- CABG 96-T6H	1,7
PIR- CABG 99-TB	1,6	PIR- CABG 99-T6H	3,0
PIR- CABG 101-TB	2,0	PIR- CABG 101-T6H	7,0
PIR- CABG 102-TB	3,5	PIR- CABG 102-T6H	7,4
PIR- CABG 104-TB	4,0	PIR- CABG 104-T6H	8,0
PIR- CABG 105-TB	6,5	PIR- CABG 105-T6H	5,4

TB: tiempo basal, T6H: tiempo a las 6 horas.

El color verde corresponde a las muestras de los pacientes del grupo control y el color rojo corresponde a las muestras de los pacientes del grupo PIR.

A continuación, se muestra la visualización de las bandas de proteínas STAT 3 y STAT 3 fosforilada mediante quimioluminiscencia en las muestras tomadas en los diferentes tiempos.

Los niveles basales de expresión de las isoformas alfa (α) ($p=0,42$) y beta (β) ($p=0,346$) de STAT3 fueron casi indetectables en las células mononucleares tanto de los pacientes controles como en el grupo PIR sin hallarse diferencias estadísticamente significativas como se aprecia en la

Figura 13.

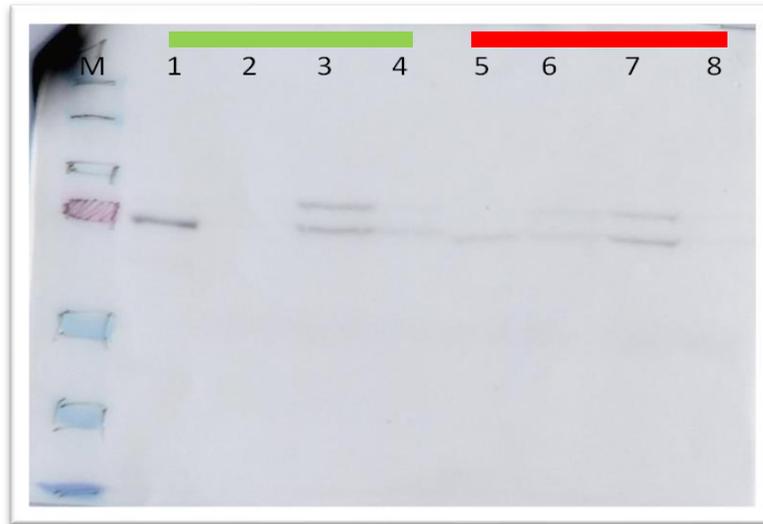


Figura 13. Western blot tiempo basal utilizando como anticuerpo primario **Stat3** 1/500 y como anticuerpo secundario Anti-Mouse Trueblot RP 1/10000. *M*: marcador de peso molecular, 1: PIR 60-TB, 2: PIR 99-TB, 3: PIR 101-TB, 4: PIR 104-TB, 5: PIR 94-TB, 6: PIR 96-TB, 7: PIR 102-TB, 8: PIR 105-TB. El color verde corresponde a las muestras de los pacientes del grupo control y el color rojo corresponde a las muestras de los pacientes del grupo PIR.

Sin embargo, tras 6 horas, se pudo observar un aumento en la expresión de la isoforma α de STAT3 α ($p=0,05$) en los pacientes controles, aunque no se observó en la isoforma β ($p=0,19$) (**Figura 14**).

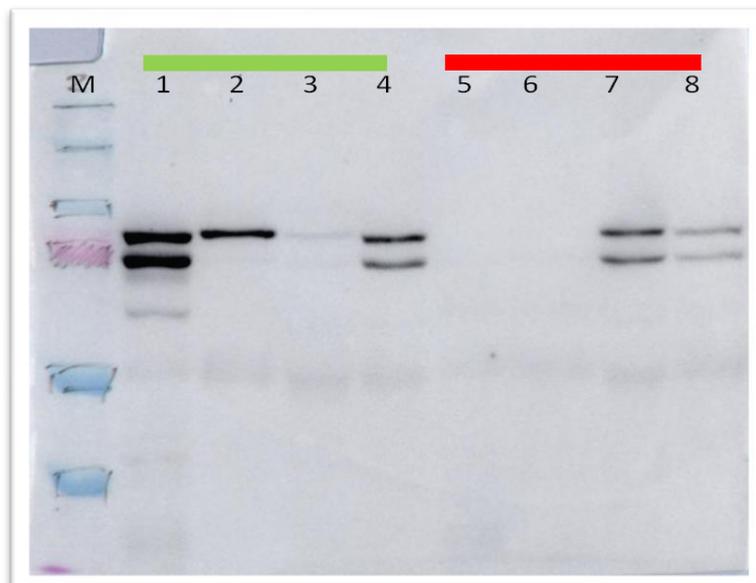


Figura 14. Western blot tiempo 6 horas utilizando como anticuerpo primario **Stat3** 1/500 y como anticuerpo secundario Anti-Mouse Trueblot RP 1/10000. *M*: marcador de peso molecular, 1: PIR 60-TB, 2: PIR 99-TB, 3: PIR 101-TB, 4: PIR 104-TB, 5: PIR 94-TB, 6: PIR 96-TB, 7: PIR 102-TB, 8: PIR 105-TB. El color verde corresponde a las muestras de los pacientes del grupo control y el color rojo corresponde a las muestras de los pacientes del grupo PIR.

Los niveles basales de expresión de las isoformas α ($p=0,01$) y β ($p=0,173$) de STAT3 fosforilados también fueron casi indetectables en las células mononucleares tanto de los pacientes controles como en el grupo PIR aunque en este caso la diferencia si fue estadísticamente significativa en la unidad α (**Figura 15**).



Figura 15. Western blot tiempo basal utilizando como anticuerpo primario **P-Stat3** 1/250 y como anticuerpo secundario Anti-Rabbit IgG-HRP 1/1000. M: marcador de peso molecular, 1: PIR 60-TB, 2: PIR 99-TB, 3: PIR 101-TB, 4: PIR 104-TB, 5: PIR 94-TB, 6: PIR 96-TB, 7: PIR 102-TB, 8: PIR 105-TB. El color verde corresponde a las muestras de los pacientes del grupo control y el color rojo corresponde a las muestras de los pacientes del grupo PIR

Tras 6 horas, se objetivó un aumento en la expresión de la isoforma α de STAT 3 fosforilada ($p=0,029$) en los pacientes controles, aunque tampoco se observó en la isoforma β ($p=0,13$) (**Figura 16**).

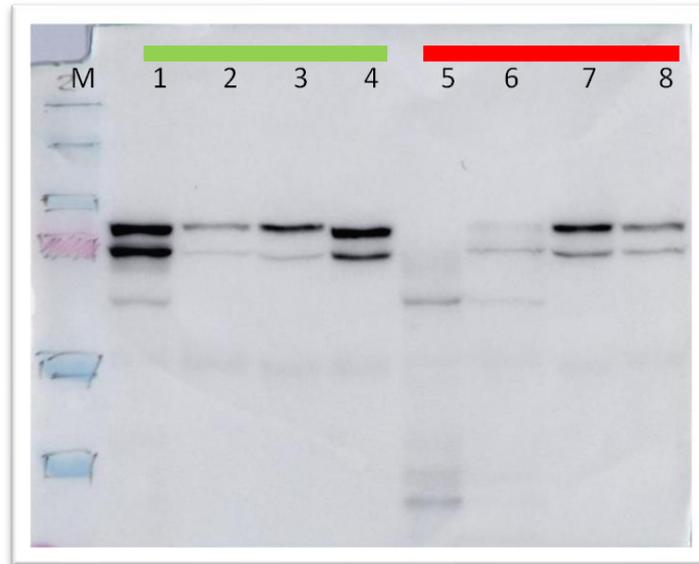


Figura 16. Western blot tiempo 6 horas utilizando como anticuerpo primario P-Stat3 1/250 y como anticuerpo secundario Anti-Rabbit IgG-HRP 1/1000. M: marcador de peso molecular, 1: PIR 60-TB, 2: PIR 99-TB, 3: PIR 101-TB, 4: PIR 104-TB, 5: PIR 94-TB, 6: PIR 96-TB, 7: PIR 102-TB, 8: PIR 105-TB. El color verde corresponde a las muestras de los pacientes del grupo control y el color rojo corresponde a las muestras de los pacientes del grupo PIR

7.1.1 Determinación de citoquinas: IL-6 y TNF α

Algunas de las citoquinas implicadas en la activación de la ruta SAFE relacionadas con la cardioprotección del PIR son la IL-6 y el TNF α . Para la determinación de estas citoquinas se analizaron muestras de 19 pacientes. Diez de ellos correspondían a controles y 9 pertenecían al grupo PIR. De dichas muestras se analizaron es los tiempos basales (TB) y a las 6 horas (T6H).

Mediante el método ELISA se determinó la concentración de las citoquinas en cada una de las muestras. No se consiguieron detectar niveles séricos de TNF α por muestra insuficiente por lo que solo se pudieron analizar los niveles séricos de IL 6 donde sus concentraciones se muestran en la **Tablas 12 y 13.**

Tablas 12 y 13. Concentración de citoquinas mediante técnica ELISA en los tiempos basales y a a las 6 horas de las muestras recogidas.

TIEMPO BASAL							
	Muestra	ABS(450)	ABS(450)	Media Abs	Media pg/ml	Media grupos	t student Cb&Ib
Control 1	26 TB	0,1295	0,1488	0,1392	2,03392658		
Control 2	28 TB	0,1159	0,1284	0,1222	0,44831002		
Control 3	50 TB	0,1117	0,1136	0,1126	-0,4377698		
Control 4	60 TB	0,1380	0,1194	0,1287	1,05923864		
Control 5	65 TB	0,1482	0,0893	0,1188	0,13118691		
Control 6	93 TB	0,1408	0,1166	0,1287	1,05923864	0,0	
Control 7	95 TB	0,1081	0,1146	0,1113	-0,5590228		
Control 8	97 TB	0,1066	0,1077	0,1071	-0,9507634		
Control 9	99 TB	0,1050	0,1003	0,1026	-1,3704856		
Control 10	101 TB	0,0966	0,0978	0,0972	-1,8788151		
Isquemia 1	14 TB	0,12030	0,11160	0,11595	-0,1299737		0,37
Isquemia 2	15 TB	0,10260	0,09340	0,09800	-1,804198		
Isquemia 3	24 TB	0,09740	0,17890	0,13815	1,94065518		
Isquemia 4	29 TB	0,11130	0,11710	0,11420	-0,2931989		
Isquemia 5	35 TB	0,09060	0,10630	0,09845	-1,7622261	1,2	
Isquemia 6	49 TB	0,19310	0,21380	0,20345	8,03128778		
Isquemia 7	64 TB	0,21220	0,18200	0,19710	7,43901309		
Isquemia 8	94 TB	0,09950	0,09330	0,09640	-1,9534326		
Isquemia 9	96 TB	0,11110	0,10030	0,10570	-1,086007		

TIEMPO 6 HORAS							
	Muestra	ABS(450)	ABS(450)	Media Abs	Media pg/ml	Media	t student C6h&I6h
Control 1	26 6Hr	0,38730	0,25340	0,32035	18,9347333		
Control 2	28 6Hr	0,28540	0,52470	0,40505	26,8348331		
Control 3	50 6Hr	0,27280	0,23650	0,25465	12,806791		
Control 4	60 6Hr	0,41760	0,62990	0,52375	37,9061667		
Control 5	65 6Hr	0,41030	0,49800	0,45415	31,4144662	18,6	
Control 6	93 6Hr	0,31150	0,25650	0,28400	15,5443124		
Control 7	95 6Hr	0,16400	0,17890	0,17145	5,04659815		
Control 8	97 6Hr	0,25100	0,21220	0,23160	10,6568814		
Control 9	99 6Hr	0,29080	0,26280	0,27680	14,872757		
Control 10	101 6Hr	0,24050	0,24240	0,24145	11,5756072		
Isquemia 1	14 6Hr	1,06680	0,62440	0,84560	67,925619		0,14
Isquemia 2	15 6Hr	0,25430	0,24810	0,25120	12,4850043		
Isquemia 3	24 6Hr	0,28210	0,30150	0,29180	16,271829		
Isquemia 4	29 6Hr	0,44890	0,43500	0,44195	30,2765548		
Isquemia 5	35 6Hr	0,36020	0,43380	0,39700	26,0839975	32,8	
Isquemia 6	49 6Hr	0,99190	0,88190	0,93690	76,4413132		
Isquemia 7	64 6Hr	0,19390	0,09470	0,14430	2,51427524		
Isquemia 8	94 6Hr	0,83960	0,57290	0,70625	54,9282278		
Isquemia 9	96 6Hr	0,23620	0,17190	0,20405	8,08725097		

Podemos observar que los niveles séricos medios de la IL 6 fueron superiores en las muestras de las 6 horas en los pacientes PIR (Control 18,6 vs PIR 32,8;) (*Figura 17*).

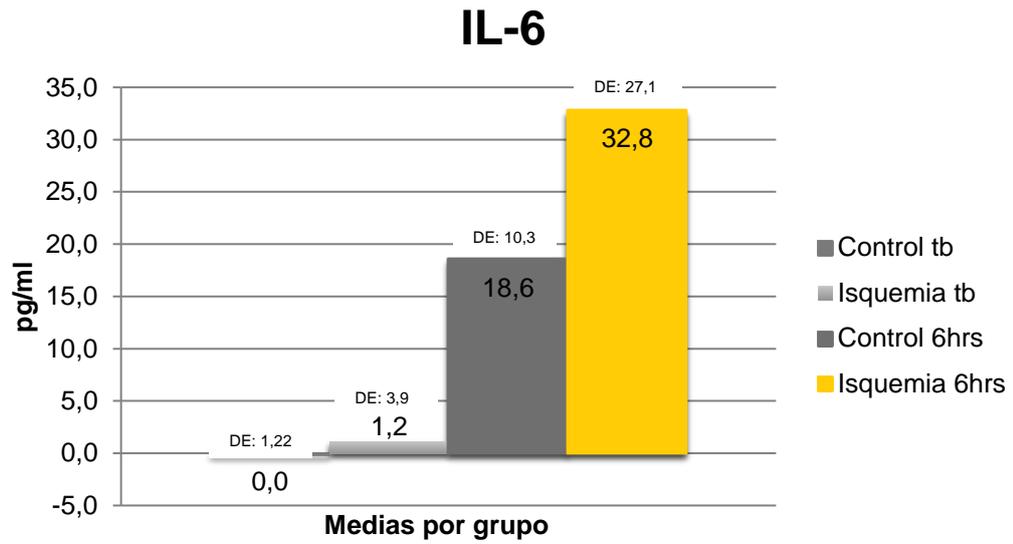


Figura 17. Concentración de citoquinas mediante técnica ELISA en los tiempos basales y a las 6 horas.

VII. DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

En los resultados de nuestro estudio sobre el efecto del preconditionamiento isquémico remoto en la lesión miocárdica perioperatoria, realizado de forma simultánea en el miembro superior e inferior, durante la cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea, no se detectaron diferencias en la elevación de las enzimas miocárdicas en el postoperatorio así como tampoco en la incidencia de eventos clínicos tales como: daño renal, fibrilación auricular, muerte, infarto agudo de miocardio o conversión a CEC.

No obstante, sí que se detectó un efecto sobre la lesión miocárdica perioperatoria expresada en eventos subclínicos, ya que se observó una alteración en la expresión y la activación de una de las proteínas implicadas en los mecanismos moleculares de la cardioprotección como es la proteína STAT 3. El presente trabajo es de los pocos publicados que han determinado la activación de esta proteína en humanos relacionándola con el preconditionamiento isquémico en pacientes sometidos a cirugía cardíaca.

Aun así, numerosos estudios han demostrado el efecto protector del PIR en la lesión miocárdica en pacientes intervenidos de cirugía cardíaca. La mayoría de estos estudios se han realizado en pacientes operados con CEC^{60,87,88}, y menos estudios se han realizado en pacientes en OP-CABG. Cheung et al⁸⁷ fueron los primeros en diseñar un estudio aleatorizado y controlado para confirmar el efecto cardioprotector del PIR y se realizó en niños sometidos a cirugía cardíaca con resultados favorables. El primer estudio realizado en pacientes coronarios sin CEC se realizó por el grupo de

Hong et al⁹³ y se publicó 4 años más tarde del anterior, en 2010. La conclusión de este estudio fue que el PIR reduce las enzimas miocárdicas en el postoperatorio como expresión de la disminución del daño miocárdico, pero sin alcanzar la significación estadística. Esta falta de evidencia se atribuyó a la menor respuesta inflamatoria y menor daño miocárdico que tiene lugar al prescindir de la CEC. Advirtieron que la lesión cardiaca en estas circunstancias debería determinarse con otros factores como el tiempo de oclusión coronaria o los cambios hemodinámicos que suceden con la manipulación del corazón.

A pesar de que en nuestro estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la elevación de las enzimas miocárdicas entre el grupo control y el grupo PIR, pudimos observar que la media de los niveles Tnl a las 12 horas (Control 3,95 DE 15,1 ng/dl vs PIR 1,8 DE 1,155 ng/dl, $p: 0,156$) y a las 24 horas (Control 2,74 DE 8,3 ng/dl vs PIR 2,1 DE 3,59 ng/dl, $p: 0,296$) fueron menores en el grupo PIR.

En los 6 pacientes reconvertidos a CEC, de los cuales solo uno de ellos pertenecía al grupo control, tuvieron mayor elevación de los niveles de troponinas en el postoperatorio de forma significativa de manera global (Tnl a las 6 h: CEC 2,96 SD 3,54 vs No CEC 0,56 SD 0,47 $p < 0,05$; Tnl a 12 h: CEC 7,75 SD 9,7 vs No CEC 2,65 SD 10,89 $p 0,308$; Tnl a las 24 h: CEC 10,71 SD 12,92 vs No CEC 1,98 SD 5,72 $p < 0,05$; Tnl al alta: CEC 6,87 SD 6,57 vs No CEC 0,65 SD 1,31 $p < 0,05$). De estos pacientes reconvertidos, el que pertenecía al grupo control se pudo hacer sin pinzamiento aórtico, y los otros 5 que pertenecían al grupo PIR, tuvieron un tiempo medio de isquemia

miocárdica global de 70 minutos (DE 26,3). A pesar de ello, los pacientes sometidos a PIR tuvieron niveles de TnI menores.

Además, el tiempo medio de oclusión coronaria fue de 35,4 minutos (DE 18,5) siendo equiparable en ambos grupos (Control: 34,7 minutos DE 14,3 vs PIR: 36,1 minutos; DE 22; $p: 0,648$) y el daño miocárdico expresado, a pesar de no alcanzar la significación estadística, sí que mostró una reducción en el grupo PIR con niveles TnI a las 12 horas (Control 3,95 DE 15,1 ng/dl vs PIR 1,8 DE 1,155 ng/dl, $p: 0,156$) y a las 24 horas (Control 2,74 DE 8,3 ng/dl vs PIR 2,1 DE 3,59 ng/dl, $p: 0,296$) menores con respecto al grupo control.

Estos resultados ponen de manifiesto que los pacientes sometidos a CEC tienen asociado un mayor daño miocárdico de por sí¹⁰³ y que el PIR puede reflejar mayor protección, no obstante, en los pacientes intervenidos sin CEC el daño miocárdico provocado es menor y por lo tanto el efecto del PIR no es tan evidente.

Hay que tener en cuenta con respecto a la metodología llevada a cabo para el preconditionamiento isquémico remoto, que en nuestro estudio se utilizó el manguito de presión en ambas extremidades, de forma simultánea, por lo que cabría esperar una mayor activación de la masa muscular pudiendo aumentar el efecto cardioprotector del PIR. A diferencia con en el estudio de Hong et al⁹³, el PIR se realizó únicamente con un manguito de presión en el miembro superior. Sin embargo, los resultados obtenidos fueron similares ya que los datos publicados por Hong et son parecidos a los nuestros con niveles de Troponina I (ng/ml) a las 12 y a las 24 horas también menores en el grupo

control con respecto al grupo PIR pero sin alcanzar la significación estadística aunque con un valor p muy próximo a 0,05. (Basal: Control $0,04 \pm 0,03$ vs PIR $0,05 \pm 0,07$ $p: 0,105$; Tnl a las 6 h: Control $2,25 \pm 4,10$ vs PIR $1,42 \pm 1,68$ $p 0,818$; Tnl a 12 h: Control $1,54 \pm 2,13$ vs PIR $1,14 \pm 1,66$ $p 0,061$; Tnl a las 24 h: Control $1,05 \pm 1,54$ vs $0,76 \pm 1,20$ $p 0,064$).

El mismo grupo Hong et al, publicaron años más tarde otro trabajo sobre el efecto del PIR en pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica sin CEC¹⁰⁴. A diferencia del estudio anterior, en este caso el preconditionamiento isquémico remoto lo llevaron a cabo mediante el inflado del manguito de presión en el miembro inferior, por lo que se asume una mayor activación de la masa muscular, y además realizaron un postcondicionamiento que consistía en inflar el manguito de presión después de realizar las anastomosis coronarias. En esta ocasión, sí que se evidenció una reducción del daño miocárdico en los pacientes a los que se realizó el condicionamiento. Los resultados en este caso se expresaron como área bajo la curva y no con niveles de troponinas.

También se ha discutido que las diferentes estrategias anestésicas pueden influir en la cardioprotección que supone el PIR. Ya en 1999, Belhomme et al¹⁰⁵ publicaron un artículo donde se demostraba que la administración de anestésicos volátiles disminuía la lesión miocárdica. Esta cardioprotección se ha mantenido en pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica a los que se realiza PIR bajo dicho régimen anestésico aunque no así con el uso de anestésicos intravenosos como el propofol⁹¹. Por tanto, se ha establecido el uso del propofol como posible anestésico alterante. En nuestro caso utilizamos sevofluorano para el

mantenimiento anestésico y el remifentanilo como opiáceo. Ambos se mantienen durante toda la intervención. No utilizamos propofol hasta el final de la intervención, como hipnótico durante la estancia en la unidad de cuidados intensivos y hasta la extubación de los pacientes, por tanto, no tendría efecto en nuestro estudio. El remifentanilo, a pesar de administrarse por vía intravenosa, su composición y mecanismo de acción es diferente con respecto al propofol. El remifentanilo es un opiáceo de acción ultracorta que es metabolizado por las esterasas plasmáticas y tisulares en metabolitos no activos¹⁰⁶, mientras que el Propofol es un alquifenol, el 2,6,di-isopropilfenol, casi insoluble en agua, por lo que necesita un agente solvente lipídico y su metabolismo se produce por gluco y sulfoconjugación hepática, eliminándose los productos de degradación en un 88% por el riñón¹⁰⁷ y por tanto, no reacciona con los canales de K_{ATP} .

Hasta la fecha solo hay un estudio publicado que utiliza el remifentanilo como régimen anestésico junto a sevoflurano, como ocurre en nuestra muestra. Se trata del primer estudio publicado que habla sobre el PIR en OP-CABG de Hong et al en 2010. Como se ha comentado previamente, este estudio concluye que el PIR reduce la elevación de las enzimas miocárdicas en pacientes sometidos a OP-CABG pero sin significación estadística⁹³.

A pesar de haber múltiples trabajos que tratan sobre el preconditionamiento isquémico remoto, los resultados obtenidos han sido muy dispares y no se llega a esclarecer el beneficio de tal procedimiento, sobre todo en cuánto repercusiones clínicas. La mayoría de los ensayos han tenido muy poca potencia para llegar a una conclusión clínicamente relevante. Tras la realización de varios ensayos pequeños, dos ensayos clínicos

principales sobre el preconditionamiento isquémico remoto completaron su reclutamiento y publicaron sus resultados recientemente. Se trata de ensayos aleatorizados, prospectivos y multicéntricos que proporcionaron datos sobre 3012 pacientes sometidos a cirugía cardíaca electiva bajo CEC cuyo objetivo fundamental fue determinar las implicaciones clínicas del PIR. Estos ensayos clínicos fueron: el estudio ERICCA (Effect of Remote Ischaemic Preconditioning on Clinical Outcomes in Patients undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery [ERICCA])¹⁰⁸ y el estudio RIP (Remote Ischaemic Preconditioning for Heart Surgery [RIPHeart-Study])¹⁰⁹ cuyos resultados fueron publicados en el 2015 en la revista “New England of Medicine” concluyendo que el PIR no mejora los resultados clínicos en cuanto al evento combinado de muerte por cualquier causa, IAM, ACV o disfunción renal en el estudio RIP y del evento combinado de muerte cardiovascular, IAM, ACV o necesidad de nueva revascularización en el estudio ERICCA.

Debemos tener en cuenta que los protocolos de dichos estudios revelan que el régimen anestésico en el ensayo RIP se basó al 100% en el uso de propofol y en el ensayo ERICCA, más del 90% de los pacientes fueron anestesiados con solo propofol o con una combinación de propofol y anestésicos volátiles. También considerar que el estudio ERICCA se llevó a cabo en pacientes de alto riesgo quirúrgico (EuroSCORE I > 5)¹¹⁰. Estos condicionantes deben estar presentes a la hora de interpretar los resultados que ya pueden verse alterados por un sesgo de selección.

En 2017, se publicó una revisión en Cochrane¹¹¹ con el objetivo principal de evaluar los beneficios y los daños del PIR en pacientes sometidos a cirugía coronaria con o sin cirugía valvular. En ella se incluyeron 29 ensayos

clínicos aleatorizados realizados entre 2007-2016, de los cuales la mayoría fueron estudios unicéntricos excepto los estudios ERICCA y RIP. No se encontró evidencia de que el PIR tuviese un efecto beneficioso sobre los resultados clínicos medidos como el evento combinado que incluye mortalidad por cualquier causa, IAM y ACV a los 30 días, aunque sí que se encontró una reducción de los niveles de troponina en el postoperatorio.

En nuestro estudio tampoco se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de eventos clínicos tales como arritmias, IAM, disfunción renal, ACV o mortalidad, así como tampoco en la reducción de los niveles de troponinas en los pacientes PIR.

Por el contrario, en un metaanálisis más reciente en donde se incluyeron 30 estudios prospectivos aleatorizados y controlados en adultos, demuestra la reducción de los niveles de troponinas en los pacientes sometidos a Cirugía Cardíaca a los que se le realiza PIR y la disminución de la incidencia del daño renal y mortalidad si además se utilizan anestésicos volátiles¹¹².

Estas discrepancias podrían atribuirse a las diferencias en los factores relacionados no solo con el paciente, que pueden actuar como variables de confusión, tales como edad, comorbilidades o comedificaciones, sino también a las diferencias en el protocolo quirúrgico y de la metodología empleada para PIR incluyendo el número de ciclos, la duración de la isquemia y las fases de reperfusión, así como la cantidad de tejido sometido a isquemia. Todos estos factores, que a menudo no se tienen en cuenta en los estudios experimentales, pueden ser los que se deban considerar para obtener resultados más homogéneos.

Aun así, los estudios realizados en pacientes sin CEC siguen siendo una minoría^{93,113,114,115,116}. Nuestro trabajo es uno de los pocos estudios realizados en Cirugía Cardíaca electiva sin circulación extracorpórea y donde se ha utilizado una metodología algo diferente al implicar una mayor cantidad de tejido sometido a isquemia para intentar aumentar la expresión cardioprotectora del PIR.

Los mecanismos moleculares que intervienen en el efecto cardioprotector del PIR continúan siendo desconocidos y se trata de un tema innovador donde queda un amplio campo por explorar. El primer estudio en demostrar que una de las proteínas relacionadas con los mecanismos cardioprotectores del PIR se encontraba activada en humanos es muy reciente, del año 2018. En este estudio se demostró que PIR mejoraba los niveles de expresión de Akt, STAT3, STAT5 y eNOS en el miocardio del tracto de salida del ventrículo derecho de los pacientes⁸⁰. En nuestro estudio, también se estudió la proteína STAT3 observándose cambios en la expresión y actividad de ésta en función de la presencia de intervención o no apreciando a las 6 horas un aumento en la expresión de la isoforma α de STAT3 ($p=0,05$) y de STAT3 fosforilada ($p=0,029$) en los pacientes controles así como un aumento de las citoquinas implicadas evidenciando niveles séricos medios de la IL 6 superiores en las muestras de las 6 horas en los pacientes PIR (Control 18,6 vs PIR 32,8).

Actualmente, los eventos adversos asociados al PIR no se conocen. El hinchado repetido de los manguitos de presión arterial se considera seguro, y dado que la intervención se produce después de la inducción de la anestesia,

es poco probable producir dolor o estrés en el paciente. El riesgo potencial de trombosis, rotura de placa o embolización en personas con aterosclerosis preexistente en las extremidades superiores también se considera bajo.

En este trabajo existen múltiples limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio que no llegó a concluir como estaba previsto por el lento ritmo de reclutamiento de los pacientes. Esto fue debido a la falta de cumplimiento en los criterios de inclusión de los participantes, ya que el perfil del paciente coronario con indicación quirúrgica, durante el periodo del estudio en el HCSC, presentaba mucha comorbilidad, sin permitir alcanzar el tamaño muestral que se había establecido para conseguir una potencia adecuada que detectara diferencias en el objetivo primario en la fecha estimada de la finalización del estudio. En segundo lugar, el análisis de laboratorio de las muestras para determinar las proteínas y citoquinas implicadas, que pertenecía a uno de los objetivos secundarios, se vio limitado a un reducido número de pacientes por la escasez de personal cualificado para realizar los procesamientos. Además, la cantidad de las muestras tomadas no fue suficiente e impidió detectar ciertas moléculas implicadas, tales como el TNF α que para su detección es necesaria mucha cantidad muestra y anticuerpos muy específicos. Entre las fortalezas, cabe destacar que se haya estudiado una de las proteínas implicada en los procesos moleculares del preconditionamiento y que escasamente ha sido estudiada en humanos, como es la STAT3, cuyo resultado debe ser considerado para futuras investigaciones. También hay que destacar que no se produjeron cross over, todos los pacientes que fueron aleatorizados recibieron la intervención que les correspondía.

Se considera necesario establecer un consenso final sobre la efectividad de PIR en pacientes sometidos a Cirugía Cardíaca electiva teniendo en cuenta que nos encontramos ante una intervención con un perfil de seguridad favorable. Por ello sería recomendable que se realizaran más estudios con un mejor diseño y suficiente potencia, con una menor variabilidad estratégica y de protocolos, con objetivos claros y uniformes, para determinar el potencial beneficio del PIR y descubrir la importancia de los factores de confusión del condicionamiento isquémico en la realidad clínica ya que de forma subclínica sí que se han encontrado diferencias.

VIII. CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

El preconditionamiento isquémico remoto en pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea, realizado de forma simultánea en el miembro superior e inferior:

1. No reduce la elevación de las enzimas miocárdicas en el postoperatorio ni a las 6,12 y 24 horas tras la cirugía ni al alta.
2. No reduce la incidencia de eventos clínicos tales como muerte, infarto agudo de miocardio, conversión a CEC, disfunción renal y fibrilación auricular en el postoperatorio, ni a los 30 días siguientes ni durante los 3 meses posteriores.
3. Tiene efecto directo sobre la lesión miocárdica perioperatoria, manifestada en eventos subclínicos, al alterar la expresión y activación de proteínas e interleucinas implicadas en los mecanismos moleculares de la cardioprotección disminuyendo la expresión de la proteína STAT3 y aumentando la expresión de la IL6.

IX. ANEXOS

ANEXO 1: ESCALA DE RIESGO STS

Los modelos de riesgo predicen el riesgo de mortalidad y morbilidad quirúrgica después de la cirugía cardíaca en adultos en función de las variables demográficas y clínicas del paciente. Se utilizan por médicos y pacientes como herramientas para comprender los posibles riesgos de la cirugía. Como estos riesgos son únicamente estimaciones estadísticas, deben complementarse con el juicio profesional médico, en particular de su cirujano cardíaco.

El modelo de riesgo de la Sociedad de Cirujanos Torácicos o STS (Society of Thoracic Surgeons) score es un modelo construido a partir de la recopilación de datos de los pacientes sometidos a una intervención cardíaca mayor (incluyendo adultos y congénitas) en más de 250 hospitales norteamericanos. Esta recogida de datos comenzó en 1989 y continúa en la actualidad. Se han registrado más de 4 millones y medio de pacientes. El modelo de predicción desarrollado presenta actualizaciones periódicas, que se efectúan sobre la base de la totalidad de los datos, lo que supone un excelente y constante método de revisión y ajuste¹¹⁷.

La escala de riesgo STS tiene tres modelos de riesgo actualmente: Cirugía coronaria, cirugía valvular y cirugía combinada (coronaria y valvular). Los modelos se aplican a siete clasificaciones específicas de procedimientos quirúrgicos: Modelo Coronario: 1. Cirugía coronaria aislada (CABG); Modelo Valvular: 2. Reemplazo de válvula aórtica aislada, 3. Reemplazo de válvula mitral aislada, 4. Reparación de válvula mitral aislada; Modelo combinado: 5. Reemplazo de válvula aórtica + CABG, 6.

Reemplazo de válvula mitral + CABG, 7. Reparación de válvula mitral + CABG.

Después de introducir la información sobre un caso determinado, la calculadora de riesgo STS en línea¹¹⁸ proporciona un porcentaje de riesgo para cada uno de los resultados específicos tales como mortalidad y otras comorbilidades importantes.

A continuación, se plasma un ejemplo del cálculo de riesgo según el STS para un paciente con enfermedad coronaria severa de 3 vasos programado para una cirugía de revascularización miocárdica quirúrgica (**Figura 1**).

Variables

Age:	65	Second Degree Heart Block:	None
Gender:	Male	Sick Sinus:	None
Race – Black/African American:	No	Vtach/Vfib:	None
Hispanic, Latino or Spanish Ethnicity:	Yes	ADP Inhibitor (includes P2Y12):	No
Primary Payor:	None / self	ACE or ARB:	No
Weight Kg :	82	Steroids:	No
Height Cm:	174	Resuscitation:	No
Hematocrit:	42	Number Diseased Vessels:	Three
WBC Count:	16	Percent Stenosis – Left Main:	80
Platelet Count:	160000	Ejection Fraction:	65
Last Creatinine Level:	0.62	Percent Stenosis – Proximal LAD:	90
Hypertension:	Yes	Aortic Insufficiency:	None
Chronic Lung Disease:	No	Mitral Insufficiency:	None
Illicit Drug Use:	No	Tricuspid Insufficiency:	None
Alcohol Use:	<= 1 drink/week	Incidence:	First cardiovascular surgery
Pneumonia:	No	Status:	Elective
Tobacco use:	Current every day smoker	CAB:	Yes, planned
Home Oxygen:	No	Procedure Type:	Isolated CAB
Classification–NYHA:	Class II	Calculated Risk Scores	
At time of this admission:	Stable Angina	Risk of Mortality	0.741%
Cardiogenic Shock:	No	Renal Failure	0.770%
AFibrillation:	None	Permanent Stroke	0.802%
Aflutter:	None	Prolonged Ventilation	4.893%
Third Degree Heart Block:	None	DSW Infection	0.193%
		Reoperation	1.682%
		Morbidity or Mortality	7.625%
		Short Length of Stay	58.327%
		Long Length of Stay	2.602%

Figura 1. Puntuación en la escala de riesgo STS en un ejemplo de paciente con enfermedad coronaria severa de 3 vasos. <http://riskcalc.sts.org/stswebriskcalc/calculate>.

ANEXO2: ESCALA DE RIESGO EUROSCORE

El EuroSCORE fue un modelo desarrollado a partir de datos recogidos durante el año 1995¹¹⁹. Participaron 132 centros de 8 países europeos. El modelo fue finalmente publicado en 1999¹²⁰. La popularidad de esta escala alcanzó un nivel muy notable en los años siguientes a su publicación¹²¹.

Sin embargo, el éxito inicial de este modelo se desvaneció a finales de la década de los 2000, momento en el que comenzó a hacerse frecuente la publicación de estudios de validación externa que acusaban al modelo de fallo de calibración por sobreestimación del riesgo de mortalidad y redundaban en la superioridad predictiva de otros modelos, especialmente STS Score^{122,123}.

La consecuencia fue la creación de un nuevo modelo basado en el esquema ya existente, aunque con datos actualizados y reestructuración de las variables. El proyecto se ejecutó en 2010 y el EuroSCORE II fue presentado a finales del 2011 y publicado en febrero del 2012, contando con la participación de 154 centros de 43 países de los 5 continentes europeos¹²⁴.

En 2012 se llevó a cabo un estudio en nuestro país para la validación a nivel nacional de ambos modelos concluyendo que ambas escalas muestran mala calibración a la hora de predecir la mortalidad, el EuroSCORE por sobreestimación y EuroSCORE II por infraestimación¹²⁵. No obstante, es probable, por los datos y resultados obtenidos, que el modelo ideal se sitúe entre EuroSCORE y EuroSCORE II y por ello se siguen utilizando ambas escalas de riesgo en la actualidad (**Figura 2 y 3**).

Variables	Puntuación
Variables extracardíacas	
Edad (por cada período de 5 años, total o parcial, por encima de 60)	1
Sexo femenino	1
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	1
Arteriopatía extracardíaca	2
Disfunción neurológica	2
Cirugía cardíaca previa	3
Creatinina sérica > 200 µmol/l	2
Endocarditis activa	3
Estado preoperatorio crítico	3
Variables cardíacas	
Angina inestable con nitratos i.v.	2
Fracción de eyección 30-50%	1
< 30%	3
Infarto reciente (menos de 90 días)	2
Presión arterial sistólica pulmonar > 60 mmHg	2
Variables operatorias	
Emergencia	2
Cualquier operación distinta de cirugía coronaria aislada	2
Cirugía de aorta torácica	3
Rotura septal postinfarto	4

Figura 2: Escala de valoración de riesgo de EuroSCORE. Riesgo bajo :0-2: Riesgo intermedio: 3-5; Riesgo alto ≥ 6 . Miguel Álvarez et al ¿Se puede identificar mediante el EuroSCORE a los pacientes con mortalidad mínima en cirugía cardíaca? Rev Esp Cardiol 2003;56(7):682. <http://www.euroscore.org/calcp.html>

Patient related factors		
Age ¹ (years)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="0"/>
Gender	<input type="text" value="select"/>	<input type="text" value="0"/>
Renal impairment ² <small>See calculator below for creatinine clearance</small>	<input type="text" value="normal (CC >85ml/min)"/>	<input type="text" value="0"/>
Extracardiac arteriopathy ³	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Poor mobility ⁴	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Previous cardiac surgery	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Chronic lung disease ⁵	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Active endocarditis ⁶	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Critical preoperative state ⁷	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Diabetes on insulin	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Cardiac related factors		
NYHA	<input type="text" value="select"/>	<input type="text" value="0"/>
CCS class 4 angina ⁸	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
LV function	<input type="text" value="select"/>	<input type="text" value="0"/>
Recent MI ⁹	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Pulmonary hypertension ¹⁰	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>
Operation related factors		
Urgency ¹¹	<input type="text" value="elective"/>	<input type="text" value="0"/>
Weight of the intervention ¹²	<input type="text" value="isolated CABG"/>	<input type="text" value="0"/>
Surgery on thoracic aorta	<input type="text" value="no"/>	<input type="text" value="0"/>

Figura 3: Escala de valoración de riesgo de EuroSCORE II. <http://www.euroscore.org/calcp.html>

ANEXO 3: PUNTUACIÓN SYNTAX

La puntuación Syntax es una herramienta que se desarrolló para determinar la complejidad de la enfermedad coronaria en el seno del ensayo clínico SYNTAX (Synergy Between Percutaneous Coronary Intervention With Taxus and Cardiac Surgery)¹²⁶. Se utiliza como guía para discernir la mejor estrategia revascularizadora, quirúrgica o percutánea, en la enfermedad de tronco coronario izquierdo o enfermedad coronaria de 3 vasos.

La puntuación Syntax combina la importancia del segmento coronario afectado, y las características angiográficas de la lesión¹²⁷. Para su cálculo, se han desarrollado una serie de pasos a seguir (**Figura 4**).

El primer paso a seguir es establecer la dominancia de la circulación coronaria teniendo en cuenta que no se valora la co-dominancia. El segundo paso es determinar el segmento afectado y, en función de la localización, se le asigna un valor que va de menor puntuación si se trata de rama posterolateral a una mayor puntuación si se trata de lesión en el TCI o de dominancia izquierda (**Figura 5**). Los siguientes pasos consisten en evaluar las características de la lesión (**Tabla 1**)^{34,128}. Con la puntuación obtenida se estratifican los riesgos en: bajo riesgo (puntuación 0-22), riesgo intermedio (puntuación 23-32) y riesgo elevado (puntuación ≥ 33). El cálculo se puede realizar directamente a través de la página web <http://www.syntaxscore.com>.



Figura 4: Componentes de los pasos a seguir para la puntuación Syntax en relación con la complejidad de la enfermedad coronaria. Modificado de Head SJ et al. The SYNTAX score and its clinical implications. Heart. 2014;100(2):169-177.

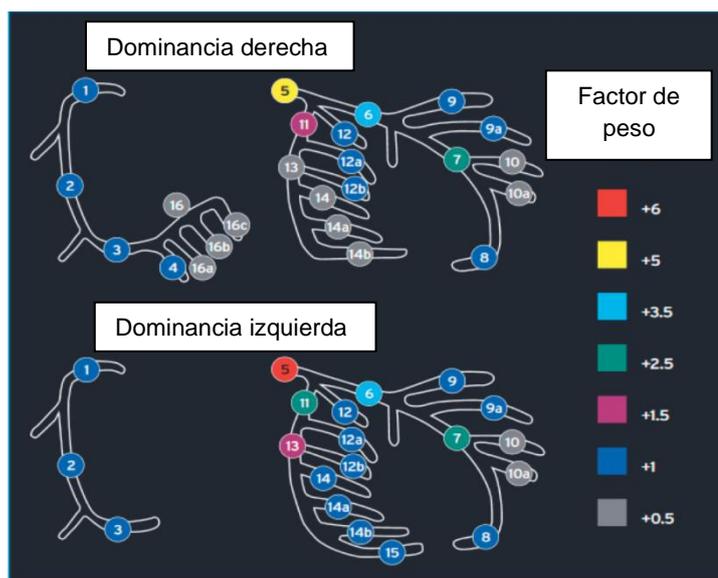


Figura 5. Evaluación del segmento coronario afectado en el Syntax Score. Modificado de 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization.

Tabla 1 Puntuación	
Características de la lesión	
Diámetro	
Oclusión total	× 5
Lesión significativa (50-99%)	× 2
Oclusión total	
> 3 meses o desconocido	+1
Muñón con terminación abrupta o chata («blunt stump»)	+1
Puente («bridging»)	+1
Primer segmento visible después de la oclusión total por flujo anterógrado o llenado retrógrado	+1
Ramas laterales	
Si < 1.5 mm	+1
Si > 1.5 mm	+1
Trifurcaciones	
Enfermedad de un segmento	+3
Enfermedad de 2 segmentos	+4
Enfermedad de 3 segmentos	+5
Enfermedad de 4 segmentos	+6
Bifurcaciones	
Tipo 100, 010, 110	+1
Tipo 111, 101, 011, 001	+2
Angulación < 70°	+1
Lesión aortoostial	+1
Tortuosidad severa	+2
Lesiones > 20 mm longitud	+1
Gran calcificación	+2
Trombo	+1
Enfermedad difusa y estrecha	+1 (por segmento)

×: multiplicación, +: suma.

Tabla 1. Puntuación syntax en función de las características de la lesión. M Gómez- Sánchez et al. *El cirujano cardiovascular y la puntuación Syntax. Arch Cardiol Mex, 2015;85(1); 50-8.*

Entre sus múltiples limitaciones, cabe destacar principalmente que no tiene en cuenta variables clínicas, se trata de un score angiográfico, así como su incapacidad para realizar predicciones a nivel individual. El SYNTAX score II¹²⁹ se desarrolló con el objeto de suplir estas limitaciones incluyendo 7 variables clínicas: edad, sexo femenino, aclaramiento de creatinina, fracción de eyección del ventrículo izquierdo, tronco coronario izquierdo no protegido, enfermedad vascular periférica y enfermedad pulmonar obstructiva crónica aunque solo ha demostrado relevancia clínica en pacientes sometidos a revascularización percutánea¹³⁰.

ANEXO 4: CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACIÓN AL PACIENTE DE LA INVESTIGACIÓN Y DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO	
TÍTULO:	EFECTO DEL PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO SOBRE LA LESIÓN MIOCÁRDICA PERIOPERATORIA, EN CIRUGÍA DE REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA SIN CEC: PIR-CABG

Este documento de consentimiento contiene información importante para ayudarle a decidir sobre la participación en este estudio de investigación.

El personal del estudio le explicará el estudio. Pregunte sobre cualquier aspecto que no le quede claro en cualquier momento. Puede llevarse a casa una copia sin firmar de este documento de consentimiento para poder pensarlo con calma o comentarlo con familiares o amigos

- **La participación en el estudio es voluntaria: usted decide.**
- **Si decide participar en este estudio, podrá finalizar dicha participación en cualquier momento.**
- **No se le puede prometer que un estudio le pueda ayudar.**
- **No acepte participar en este estudio hasta que no le hayan respondido todas las preguntas.**

Tras leer y comentar la información de este consentimiento debe saber:

- Por qué se realiza este estudio;
- Qué ocurrirá durante el estudio;
- Sus posibles beneficios;
- Sus posibles riesgos;
- Otras opciones a las que puede optar en lugar de la participación en este estudio;
- Cómo se tratará la información médica personal durante el estudio y después del mismo;
- Si la participación en este estudio le acarreará algún gasto; y
- Qué debe hacer si tiene problemas o preguntas sobre este estudio.

Lea atentamente este documento de consentimiento.

INFORMACIÓN AL PACIENTE DE LA INVESTIGACIÓN Y DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO

TÍTULO: EFECTO DEL PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO SOBRE LA LESIÓN MIOCÁRDICA PERIOPERATORIA, EN CIRUGÍA DE REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA SIN CEC: **PIR-CABG**

INVESTIGADOR: María Victoria Acedo
CENTRO(S): Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España

NÚMERO(S) DE TELÉFONO RELACIONADOS CON EL ESTUDIO: **913303691/913303000**
INVESTIGADOR PRINCIPAL María Victoria Acedo

Introducción

Se le invita a participar en un estudio clínico, un tipo de estudio de investigación. El investigador del estudio o la persona designada le explicará el estudio. Antes de que decida participar, es importante que entienda por qué se lleva a cabo el estudio y lo que supone participar. Tómese el tiempo necesario para leer detenidamente la información que se le proporciona a continuación. Este documento de consentimiento puede contener palabras que no entienda. No dude en pedir al médico o al personal del estudio que le explique las palabras o la información que no entienda bien.

Si lo desea, puede comentar su decisión sobre participar con amigos, familiares y con su médico de cabecera. Si tiene alguna pregunta, puede pedir más información al investigador principal. Su participación en este estudio es voluntaria. Si decide no participar, no se verá afectada en modo alguno su atención médica futura.

¿Por qué se realiza este estudio?

El objetivo principal de este estudio es determinar si, en el contexto de una cirugía coronaria como la que se le va a practicar, el acondicionamiento isquémico remoto (PIR) es beneficioso o no. El acondicionamiento isquémico remoto consiste en interrumpir durante unos minutos el flujo sanguíneo arterial en dos de sus extremidades mediante una compresión con un manguito de los que habitualmente se emplean para medir la presión arterial. Se ha observado que esta maniobra es capaz de reducir la severidad del infarto miocárdico en pacientes que lo sufren. Se cree que este PIR es una forma de acondicionar al corazón para hacerlo más “resistente” al daño cardíaco cuando una arteria coronaria se ocluye. Durante una cirugía como la que se le va a practicar, es necesario ocluir de forma transitoria la circulación en los segmentos de las arterias donde se van a realizar los “bypass”, “puentes” o derivaciones coronarias. Se sabe, que esa oclusión va asociada a un daño, que casi siempre es leve, del miocardio (músculo cardíaco) que se nutre de esa arteria. Esta maniobra es obligatoria durante la intervención que se le va a hacer. El propósito de este estudio es comprobar si, realizando el PIR, sería posible limitar ese daño miocárdico asociado a la manipulación de sus arterias coronarias durante la intervención. El PIR se aplica hoy en día antes de una cirugía como la que se le va a practicar a usted de forma habitual sin que exista ninguna evidencia sólida de su eficacia o su perjuicio; y sin que exista un criterio definido de si algunos pacientes en concretos puedan beneficiarse o no más que otros. Así, la aplicación de esta técnica depende, en último término, del criterio del cirujano o anestesiólogo responsables. Este estudio está diseñado con el fin de determinar si su aplicación puede suponer un beneficio o inconveniente, y recomendar su uso sistemático o no.

¿Por qué he sido elegido?

Se le ha pedido que participe en este estudio porque usted padece una enfermedad coronaria por la cual precisa someterse a una cirugía de revascularización miocárdica. Su médico le informará con precisión de la técnica quirúrgica que se le va a realizar, que en ningún caso se verá modificada por motivos del estudio.

¿Cómo se lleva a cabo el PIR?

El acondicionamiento isquémico remoto se realiza mediante dos manguitos de tensión arterial estándar (los que se emplean para medir la presión arterial) colocados en su brazo y su muslo. Los manguitos se inflan de forma simultánea por encima de los 200 mmHg (la presión arterial normal es inferior a esta) y se mantienen así durante 5 minutos. Al inflar el manguito por encima de su presión arterial, conseguimos interrumpir transitoriamente el flujo sanguíneo en sus dos extremidades. Terminado este primer periodo de isquemia se sueltan los manguitos y se espera 5 minutos antes de comenzar otro ciclo similar al anterior de 5 minutos de isquemia. De manera que el tiempo total de isquemia (acondicionamiento isquémico remoto) es de un total de 20 minutos $((5+5) \times 2)$. Si su tensión arterial supera los 185 mmHg se debe inflar el manguito con un incremento de 30 mmHg por encima de dicha cifra. Este procedimiento se llevará a cabo en el quirófano, cuando se encuentre inconsciente, una vez haya sido anestesiado y antes de comenzar la intervención.

¿Cuántas personas participarán en el estudio?

Se incluirán 190 pacientes que serán asignados al azar a recibir PIR o no en dos grupos de igual tamaño (95 por cada rama).

¿Cuánto tiempo estaré en el estudio?

El evento más importante para el cual está diseñado este estudio se medirá al cabo de las 12 horas después de la cirugía. Además, se efectuará un seguimiento clínico durante su estancia hospitalaria y hasta tres meses después de la intervención para vigilar la aparición de cualquier tipo de complicación.

¿Qué ocurrirá si decido participar en este estudio?

Deberá leer, aceptar y firmar este documento de consentimiento informado antes de que se realice ningún procedimiento del estudio.

Antes del procedimiento, el médico le realizará los siguientes procedimientos para evaluar si cumple los requisitos para participar en el estudio:

- Antecedentes patológicos y exploración física.

- Extracción de sangre para determinar los niveles de creatina-quinasa (CK) y CK-MB (en las 24 horas previas al procedimiento). Pruebas de coagulación (INR-TTPa).
- ECG de 12 derivaciones.
- Registro de los medicamentos cardíacos relevantes.
- Registro de cualquier acontecimiento adverso previo al tratamiento.
- Se podrán obtener pruebas analíticas adicionales según el criterio del investigador o según el protocolo de referencia del hospital.

Estas pruebas proporcionarán al investigador principal un registro basal (inicial) del corazón y del estado de salud en general antes del procedimiento.

Estas pruebas y procedimientos se realizan habitualmente antes de una intervención quirúrgica, y no se llevan a cabo por motivos del estudio.

Procedimiento

El médico le explicará cómo se realiza el procedimiento según la práctica habitual. Se obtendrán los datos sobre la fecha y los resultados del procedimiento para evaluar el éxito del procedimiento y la posible aparición de cualquier efecto indeseado de la intervención o por motivos del estudio. No requerirá ninguna atención especial, exploración o prueba complementaria después de la intervención quirúrgica. Usted será tratado/a durante la intervención y durante la estancia hospitalaria de acuerdo con los protocolos generales del centro en lo referente al manejo operatorio y perioperatorio de enfermos sometidos a una cirugía cardíaca

Asignación del tratamiento

La asignación del procedimiento del estudio (PIR o no PIR) que va a recibir se hará antes de la intervención quirúrgica. Ni usted ni su médico conocerán si ha sido asignado o no a recibir el PIR antes de la operación. Un investigador conocerá qué le ha sido asignado, y se lo comunicará a un médico independiente del estudio, que será el encargado de inflar o no el manguito de presión para aplicar el PIR una vez usted esté en el quirófano, anestesiado y antes de la operación.

Imposibilidad de aplicar el tratamiento

La verificación final de la afección médica que padece se podrá realizar únicamente durante el procedimiento. Si, durante el procedimiento, el investigador principal o su cirujano deciden que no es un candidato adecuado para recibir el PIR, se le excluirá del estudio, y seguirá siendo tratado de la forma habitual. El investigador principal determinará la atención de seguimiento que se le realizará.

¿Qué tengo que hacer después del procedimiento?

Después del procedimiento y antes del alta hospitalaria, el médico le realizará lo siguiente:

- Evaluación clínica y exploración física (práctica habitual después de una cirugía cardíaca)
- Extracción de sangre para determinar los niveles de Troponina CK y CK-MB a las 6, 12 y 24 horas del procedimiento y antes del alta). Estas enzimas cardíacas son las que nos informarán del posible daño o no que haya sufrido su corazón durante la cirugía, y son la forma de valorar si el PIR es eficaz o no en la atenuación/prevención del sufrimiento cardíaco durante la cirugía.
- ECG de 12 derivaciones (en las 24 horas posteriores al procedimiento).
- Registro de los medicamentos cardíacos relevantes (no recibirá ninguno a los recomendados en la práctica habitual).
- Ecocardiograma transtorácico para evaluar el funcionamiento de su corazón (práctica habitual). El ecocardiograma es una prueba no invasiva, indolora e inocua que consiste en poner una sonda de ultrasonidos sobre el tórax para capturar imágenes y realizar mediciones de su corazón.
- Registro de cualquier acontecimiento adverso.

Se podrán obtener pruebas analíticas adicionales según su evolución en el postoperatorio y el seguimiento.

Todas estas pruebas son los habituales después de un procedimiento quirúrgico como el que se le va a realizar.

Pregunte al investigador principal sobre las actividades cotidianas que puede realizar en las distintas fases de la recuperación.

Por favor, indique a otros médicos que le traten de que participa en un estudio clínico, de forma que puedan decidir el mejor tratamiento para usted.

Visitas de seguimiento

Si decide participar en este estudio y cumple los requisitos para su inclusión en él, es muy importante que acuda a todas las visitas programadas. Estas visitas clínicas están programadas para su realización 1 mes y 3 meses después del procedimiento.

Durante estas visitas el investigador principal o la persona designada le realizarán una exploración física completa, se le interrogará sobre posibles efectos adversos relacionados acaecidos entre las visitas y se registrará la medicación que esté consumiendo en ese momento.

¿Cuáles son los posibles riesgos y efectos secundarios?

Puede sufrir efectos secundarios durante el desarrollo del estudio. Se vigilará atentamente a todos los participantes en el estudio para detectar

posibles efectos secundarios. No obstante, los médicos no conocen todos los efectos secundarios que podrían ocurrir y es posible que aparezcan efectos secundarios distintos a los enumerados a continuación. Los efectos secundarios pueden ser leves o muy graves. Debe informar al investigador principal acerca de cualquier efecto secundario que sufra durante la participación en el estudio de forma que se realice un seguimiento correcto de su estado de salud.

Aquí resumimos algunos de los eventos adversos relacionados con la cirugía que se le va a llevar a cabo, si bien estos no difieren de los procedimientos habituales:

Complicaciones relacionadas con la cirugía:

1. <2% de incidencia: Muerte, accidente cerebrovascular (infarto o hemorragia cerebral), shock, dehiscencia esternal (ausencia de consolidación del esternón después de la cirugía), infección superficial de la herida quirúrgica, infección profunda de la herida quirúrgica, daño inadvertido de la aorta o sus ramas, reintervención urgente o emergente en las horas siguientes a la intervención.
2. 2-5% de incidencia: Hemorragia excesiva, infarto miocárdico, insuficiencia renal, síndrome de bajo gasto cardiaco (dificultad del corazón para bombear sangre adecuadamente), coagulopatía (dificultad de la sangre para interrumpir la hemorragia), presión arterial anormalmente baja o alta, insuficiencia cardiaca congestiva aguda (fallo brusco del corazón para bombear sangre que genera disnea o “falta de aire”).
3. >5% de incidencia: dolor torácico mecánico, insuficiencia respiratoria, intubación orotraqueal prolongada >24 horas (necesidad de mantenerlo conectado a un respirador con un tubo en la boca), arritmias supraventriculares (alteraciones del ritmo normal con el que se contrae el corazón), disfunción neurológica (no ACV) (daño cerebral distinto al infarto o hemorragia cerebral, y por ende menos leve y normalmente, transitorio), fiebre, infecciones leves, vómitos, náuseas, diarrea, estreñimiento.

Complicaciones relacionadas con el PIR:

1. <1/1000 pacientes-año: isquemia aguda de la extremidad donde se aplique la presión que puede obligar a una cirugía de revascularización urgente.
2. <1/100 pacientes-año: hematoma o dolor en la zona de presión del manguito de presión, dermatitis de contacto por el material del manguito de presión.

Si experimenta un efecto secundario o una lesión que pudiera estar relacionada con este estudio o si decide asistir a una visita no programada para atención médica por cualquier motivo, contacte con **María Victoria Acedo** en el número de teléfono **913303691** durante un día laborable o en el **913303000** por la noche o en fines de semana.

¿Cuáles son los posibles beneficios de la participación en este estudio clínico?

No obtendrá ningún beneficio directo por participar en este estudio. El objetivo de este estudio es comprobar los posibles beneficios del PIR en pacientes que van a ser sometidos a una intervención como la suya para así recomendar o no su uso de forma sistemática.

¿Es obligatoria mi participación?

Su participación en este estudio es completamente VOLUNTARIA. Si decide participar, nos gustaría que continuara hasta el final del estudio, independientemente de que el médico o usted consideren que tratamiento ha sido efectivo. No obstante, podrá retirarse del estudio en cualquier momento, por cualquier motivo, sin perjuicio alguno para usted.

Si se retira del estudio después de que haya empezado, no se verá afectada su relación con el investigador principal o el centro, la atención médica que reciba ni los servicios a los que tenga derecho.

El investigador principal o el promotor podrán retirarle del estudio sin su consentimiento por cualquiera motivo. Los motivos pueden ser:

- Es lo mejor para usted.
- Porque no ha asistido a las visitas programadas.
- Porque no ha seguido las instrucciones del investigador.
- El estudio se ha interrumpido por cualquier motivo.

Si se retira o es retirado del estudio, el equipo de la investigación podrá seguir utilizando la información que se haya obtenido como parte del estudio entre la fecha en la que firmó el documento de consentimiento y la fecha en la que retiró su permiso. De este modo, se protege la calidad de los resultados de la investigación.

¿Qué otras opciones tengo si decido no participar en este estudio?

No tiene que participar en el estudio para recibir tratamiento para su enfermedad cardíaca. Si usted elige no participar en este estudio, el investigador principal comentará con usted opciones de tratamiento habituales, que son las mismas salvo por la aplicación de PIR en el seno del estudio; es decir: se le aplicará o no el PIR según el criterio de su cirujano o anestesiólogo responsable más allá de las necesidades del estudio. Usted puede, independientemente del estudio que nos ocupa, discutir con su cirujano este aspecto del tratamiento que va a recibir.

¿Qué ocurre si aparece nueva información?

En ocasiones, durante el transcurso de un estudio aparece información nueva acerca del tratamiento que se está estudiando. Si esto ocurre, el investigador le informará y comentará con usted si quiere

continuar en el estudio.

Si decide retirarse, el investigador principal organizará la continuación de su atención médica. Si decide continuar en el estudio, se le pedirá que firme un consentimiento informado actualizado.

¿Mi información médica seguirá siendo confidencial?

Si otorga su consentimiento para participar en el estudio, el investigador principal del estudio, las autoridades reguladoras locales, el Hospital Clínico San Carlos, y/o el Comité Ético de Investigación Clínica de este centro podrán auditar/revisar todos los documentos de su historia clínica.

El investigador principal, o el personal con el que trabaja recopilarán información personal sobre usted y la registrarán en documentos del estudio especiales con un número de identificación único y sus iniciales, sin indicar su nombre.

Sus datos relacionados con el estudio se introducirán en una base de datos informatizada. Los datos obtenidos estarán compuestos por sus antecedentes médicos, la información del procedimiento de implantación y la información médica obtenida durante el estudio clínico. El personal autorizado por el promotor controlará y analizará estos datos.

Sus datos personales serán tratados de acuerdo con lo que dispone la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de carácter personal, LOPD, vigente en España).

Los datos obtenidos se utilizarán sin su nombre para evaluar los resultados de la investigación y podrán utilizarse en el futuro en este o en otros estudios. Sin embargo, no figurará su nombre ni ningún otro dato que pudiera identificarle en ningún informe o publicación del estudio.

Autorización de uso y revelación de información para fines de investigación.

¿Qué tipo de información se utilizará o compartirá?

Su información médica relacionada con este estudio, incluidos entre otros, datos demográficos (como edad, género, etnia), exploraciones físicas y médicas, información referente al procedimiento quirúrgico o las exploraciones ecocardiográficas, fotos y/o vídeos de la zona afectada, análisis de sangre, registros relacionados con el estudio y otra información obtenida durante el estudio se podrán utilizar o revelar en relación con este estudio de investigación.

Las siguientes personas tienen autorización para utilizar y/o compartir la información médica relacionada con este estudio de investigación:

- El investigador principal y los subinvestigadores,
- El coordinador del estudio o el equipo de investigación,
- Otros médicos o personal sanitario centro,
- Su médico de cabecera.

Sus datos serán incluidos en un Fichero de Investigación Clínica del Centro (Hospital Clínico San Carlos), cuyo responsable es el centro, y su finalidad es realizar estudios de investigación. Puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición de datos (ARCO) poniéndose en contacto con el centro (Hospital Clínico San Carlos) y/o su investigador principal de este estudio: Dra: María Victoria Acedo, en el teléfono 913303691.

¿Quién utilizará y recibirá esta información?

Las personas incluidas en el párrafo anterior podrán revelar información médica sobre usted a las siguientes personas y organizaciones para que la utilicen en relación con este estudio de investigación:

- Hospital Clínico San Carlos
- Profesionales contratados, asesores médicos, analistas de datos y estadísticos.
- Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC)

¿Por qué se utilizará y/o proporcionará esta información a otras personas?

- Para realizar la investigación,
- Para analizar los resultados y
- Para garantizar que la investigación se está realizando correctamente.

Si firma este documento de consentimiento, da su permiso a las personas citadas anteriormente para utilizar y compartir la información médica sobre usted obtenida durante este estudio clínico. Su información médica únicamente se utilizará según las declaraciones incluidas en este documento de consentimiento y la legislación aplicable.

Los resultados se podrán presentar en congresos científicos y se podrán publicar en revistas únicamente de forma anónima (no revelando su identidad).

¿Puedo revisar o copiar mi información?

Podrá revisar o copiar la información médica sobre usted después de que haya finalizado la investigación.

¿Qué sucede si decido no autorizar la utilización y la divulgación de mi información médica?

No tendrá que proporcionar su autorización para utilizar y compartir su información médica, pero si no lo hace, no podrá participar en este estudio de investigación.

¿Puedo retirar o revocar (cancelar) mi autorización?

Si decide interrumpir su participación en el estudio o si se retira del estudio, puede revocar (cancelar o modificar) su autorización en cualquier momento.

Puede revocar su autorización enviando una notificación por escrito al investigador principal. Si retira su autorización, no podrá continuar en este estudio.

A partir del momento en que retire su autorización, no se recopilará información nueva sobre su salud susceptible de identificarle. La información que se haya obtenido hasta entonces se podrá seguir utilizando y se podrá entregar a otras personas.

¿Cuáles son los costes de la participación en este estudio?

Su participación en este estudio no tendrá ningún coste para usted; tampoco se le pagará por participar en este estudio.

Cualquier suministro, visitas a consulta, exploraciones y procedimientos descritos en este documento de consentimiento que sean necesarios para el estudio y que no formen parte de la atención sanitaria habitual para su enfermedad se le proporcionarán sin coste alguno para usted.

¿Qué sucede si sufro lesiones debido a mi participación en el estudio?

Si sufre alguna lesión mientras participa en este estudio, recibirá tratamiento médico, incluidos el tratamiento de emergencia y atención de seguimiento.

Si sufre alguna lesión relacionada directamente con la participación en este estudio, el Hospital Clínico San Carlos se hará cargo de los costes de su atención en dicho centro.

En caso de que sufra alguna lesión, contacte con el investigador principal y este contactará con el promotor.

¿Quién organiza y financia la investigación?

Los investigadores principales son: la Doctora María Victoria Acedo (anestesióloga), el Doctor Juan Carlos Martín Benítez (médico de la Unidad de Cuidados Intensivos) y los Doctores Luis Carlos Maroto y Manuel Carnero (cirujanos cardiacos).

¿Quién puede responder a mis preguntas sobre el estudio?

Si tiene cualquier problema, reclamación o pregunta relacionados con este estudio de investigación o si cree que podría haber sufrido alguna lesión como resultado de la participación en este estudio, contacte con **María Victoria Acedo** en el 913303691 o **913303000** (24 horas).

Si tiene alguna pregunta acerca de sus derechos como participante

en una investigación, o si tiene alguna duda, preocupación o queja sobre la investigación, puede contactar con:

- Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos.
- El Comité Ético de Investigación Clínica está formado por un grupo de personas que llevan a cabo una revisión independiente de la investigación.
- El Comité Ético de Investigación Clínica no podrá responder a algunas preguntas específicas del estudio, como preguntas sobre las citas. Sin embargo, podrá contactar con el Comité Ético de Investigación Clínica si no puede contactar con personal del estudio o si desea hablar con alguien que no forme parte del personal de la investigación.

No firme este consentimiento si no ha tenido la oportunidad de plantear sus preguntas y no ha recibido una respuesta satisfactoria.

Si acepta participar en este estudio, recibirá un ejemplar firmado y fecho de este documento de consentimiento para que lo conserve.

Consentimiento para participar

Mediante mi firma, afirmo que:

He leído completamente este documento de consentimiento. El investigador o el subinvestigador designado me ha explicado este estudio y ha revisado este documento de consentimiento conmigo. Me han contestado todas mis preguntas satisfactoriamente. Acepto participar de forma voluntaria en el estudio clínico. Entiendo que recibiré una copia firmada de este documento de consentimiento para que pueda consultarlo en cualquier momento.

Autorizo el uso y la divulgación de la información sobre mi salud a las personas que se enumeran en el apartado dedicado a la autorización del presente documento de consentimiento con la finalidad descrita.

Al firmar este documento de consentimiento, no renuncio a ninguno de mis derechos legales.

Nombre del paciente

Firma

Fecha

Declaración

Confirmando que se ha explicado el estudio de investigación en su totalidad al paciente. He revisado el documento de consentimiento con el paciente y he respondido sus preguntas. Parece que el paciente ha entendido la información y ha respondido a las siguientes preguntas correctamente:

1. ¿Cuál es el objetivo de este estudio?
2. Si decide participar en el estudio, ¿qué se le pedirá que realice?
3. ¿Cuál es el posible beneficio de participar en este estudio?
4. ¿Cuáles son los posibles riesgos de participar en este estudio?
5. Si decide no participar en este estudio, ¿qué opciones tiene?
6. ¿Le acarreará algún gasto su participación en el estudio? En caso afirmativo, ¿qué tendrá que pagar?
7. ¿Tiene que participar en este estudio?
8. Si decide participar en el estudio, ¿puede abandonarlo cuando usted lo decida?

Nombre en mayúsculas y firma de la persona a cargo encargada de explicar el consentimiento informado. Fecha.

Nombre en mayúsculas y firma del investigador* (si es diferente del anterior). Fecha

****El investigador principal o un subinvestigador formado para el estudio.***

ANEXO 5: INFORME DICTAMEN PROTOCOLO FAVORABLE DECOMITÉ DE ÉTICA DEL HCSC



Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.P. PIR-CABG - C.I. 15/323-E

18 de Junio de 2015

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 17/06/2015, acta 6.2/15 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

Título: "EFECTO DEL PRECONDICIONAMIENTO ISQUEMICO REMOTO SOBRE LA LESIÓN MIOCARDICA PERIOPERATORIA, EN CIRUGIA DE REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA SIN CEC"

Que en este estudio:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por la Dra. M^a Victoria Acedo Díaz-Pache como investigadora principal en el Servicio de Anestesiología y Reanimación, del Hospital Clínico San Carlos.

Lo que firmo en Madrid, a 18 de Junio de 2015

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

**ANEXO 6: CERTIFICADO DE PRESENTACIÓN COMO COMUNICACIÓN
CORTA EN EL CONGRESO EUROPEO DE CIRUGÍA CARDIACA 2017**



CERTIFICATE OF ATTENDANCE

We hereby certify that

Mónica G^a Bouza
attended the

31st EACTS Annual Meeting

Sunday 8 - Wednesday 11 October 2017
Vienna, Austria

And made the following presentation

**Effect of remote ischemic preconditioning on myocardial injury after
off-pump coronary artery bypass graft: unicentric randomized trial**

M. G^a Bouza (1) ; B. Ramchandani. (1) ; D. Pérez Camargo (1) ; L. Montero Cruces (1) ; E. Villagran (1) ; M.
Carnero Alcázar (1) ; F. Reguillo, (1) ; L. Maroto, (1)
(1) Cardiac surgery, Clinico San Carlos Hospital, Madrid

D Pagano
Secretary General

11/10/2017
Date

X. BIBLIOGRAFÍA

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. James TN. The coronary circulation and conduction system in acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis.* 1968;10:410–446.
2. Ross R. Inflammation or Atherogenesis. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-126.
3. Dowling GP BL. Spontaneous coronary artery dissection occurs with and without periadventitial inflammation. *Arch Pathol Lab Med.* 1987;111:470-472.
4. Stenberg RG, Winniford MD, Hillis LD, Dowling GP BL. Simultaneous acute thrombosis of two major coronary arteries following intravenous cocaine use. *Arch Pathol Lab Med.* 1989;113:521-524.
5. Cheitlin MD, McAllister HA de CC. Myocardial infarction without atherosclerosis. *JAMA.* 1975;231:951–959.
6. Buja LM WJ. The role of coronary artery lesions in ischemic heart disease: insights from recent clinicopathologic, coronary arteriographic, and experimental studies. *Hum Pathol.* 1987;18:451-461.
7. Steinberg D, Parthasarathy S, Crew TE, Khoo JC WJS. Beyond cholesterol: modification of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989;320:915-924.
8. N. Anitschkow and S. Chalатов translated by MZP. Classics in arteriosclerosis research: On experimental cholesterol steatosis and its significance in the origin of some pathological processes. *Arteriosclerosis.* 1983;3:178-182.

9. Wick G, Perschinka H MG. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update. *TRENDS Immunol.* 2001;22:665-669.
10. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002;420:868-874.
11. Tedgui A MZ. Anti-Inflammatory Mechanisms in the Vascular Wall. *Circ Res.* 2001;88:877-887.
12. Soliman A K. Experimental models investigating the inflammatory basis of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2008;10:260-271.
13. Dawber TR, Meadors GF MF. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Heal.* 1951;41:279-286.
14. Gordon T KW. Premature mortality from coronary heart disease: the Framingham Study. *JAMA.* 1971;215:1617-1625.
15. Retnakaran R, Zinman B. Type 1 diabetes, hyperglycaemia, and the heart. *Lancet.* 2008;371(9626):1790-1799.
16. Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet.* 2004;364(9438):937-952.
17. Rosengren A, Hawken S, Ôunpuu S, et al. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11 119 cases and 13 648 controls from 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet.* 2004;364(9438):953-962.
18. McGill HC, McMahan CA, Gidding SS. Preventing heart disease in the 21st century: Implications of the pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY) study. *Circulation.* 2008;117(9):1216-1227.

19. Stemme S, Rymo L HG. Polyclonal origin of T lymphocytes in human atherosclerotic plaques. *Lab Invest.* 1991;65:654-660.
20. Virmani R, Burke AP, Farb A KF. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:17-38.
21. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: Part I: Evolving concepts. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(6):937-954.
22. AJ L. Atherosclerosis. *Nature.* 2000;407:233-241.
23. Choudhury RP, Fuster V FS. Molecular cellular, and functional imaging of atherothrombosis. *Nat Rev.* 2004;3:915-925.
24. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Trends in age-specific coronary heart disease mortality in the European Union over three decades: 1980-2009. *Eur Heart J.* 2013;34(39):3017-3027.
25. Ferreira-González I. Epidemiología de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol.* 2014;67(2):139-144.
26. Townsend N, Nichols M, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe - Epidemiological update 2015. *Eur Heart J.* 2015;36(40):2696-2705.
27. Coste económico de las enfermedades cardiovasculares desde 2014 a 2020 en seis países europeos Trabajo de investigación preparado para AstraZeneca. 2020.
28. Mathers CD, Loncar D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. 2015;3(11).
29. Ford ES. Explaining the decline in US deaths from coronary disease, 1980-2000. *New Engl J Med.* 2007;356:2388-2398.

30. Instituto nacional de estadística. Defunciones según la casua de muerte. Notas de prensa. Año 2017. 19 de diciembre de 2018.
31. James M. Wilson, James J. Ferguson III and RJH. Coronary Artery Bypass Surgery and Percutaneous Revascularization: impact on Morbidity and Mortality in Patients with Coronary Artery Disease. In: *Cardiovascular Medicine.* ; 2007:1073-1111.
32. VI. K. Mammary artery-coronary artery anastomosis as method of treatment for angina pectoris. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1967;54(4):535-544.
33. Gruntzig. Transluminal dilatation of coronary-artery stenosis. *Lancet.* 1978;1(8058):263.
34. Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J.* 2018;00:1-87.
35. Wijeyesundera HC, Nallamotheu BK, Krumholz HM, Tu JV KD. Meta-analysis: effects of percutaneous coronary intervention vs. medical therapy on angina relief. *Ann Intern Med.* 2010;152(6):370-379.
36. Pursnani S, Korley F, Gopaul R, Kanade P, Chandra N, Shaw RE BS. Percutaneous coronary intervention vs. optimal medical therapy in stable coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5(4):476-490.
37. Stergiopoulos K, Boden WE, Hartigan P, Mobius-Winkler S, Hambrecht R, Hueb W, Hardison RM, Abbott JD BD. Percutaneous Coronary Intervention Outcomes in Patients With Stable Obstructive Coronary Artery Disease and Myocardial Ischemia: A Collaborative Meta-analysis of Contemporary Randomized Clinical Trials. *JAMA Intern Med.*

- 2014;174(2):232-240.
38. Bucher HC, Hengstler P, Schindler C GG. Percutaneous transluminal coronary angioplasty vs. medical treatment for non-acute coronary heart disease: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2000;321(7253):73-77.
 39. Katritsis DG IJ. Percutaneous coronary intervention vs. conservative therapy in nonacute coronary artery disease: a meta-analysis. *Circulation*. 2005;111(22):2906-2912.
 40. Schomig A, Mehilli J, de Waha A, Seyfarth M, Pache J KA. A meta-analysis of 17 randomized trials of a percutaneous coronary intervention-based strategy in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(11):894-904.
 41. Trikalinos TA, Alsheikh-Ali AA, Tatsioni A, Nallamothu BK KD. Percutaneous coronary interventions for non-acute coronary artery disease: a quantitative 20-year synopsis and a network meta-analysis. *Lancet*. 2009;373(9667):911-918.
 42. Stergiopoulos K BD. Initial coronary stent implantation with medical therapy vs. medical therapy alone for stable coronary artery disease: meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2012;172(4):312-319.
 43. Jeremias A, Kaul S, Rosengart TK, Gruberg L BD. The impact of revascularization on mortality in patients with nonacute coronary artery disease. *Am J Med*. 2009;122(2):152-161.
 44. Yusuf S, Zucker D, Peduzzi P, Fisher LD, Takaro T, Kennedy JW, Davis K, Killip T, Passamani E NR et al. Effect of coronary artery bypass graft

- surgery on survival: overview of 10-year results from randomized trials by the Coronary Artery Bypass Graft Surgery Trialists Collaboration. *Lancet*. 1994;344(8922):563-570.
45. Windecker S, Stortecky S, Stefanini GG, et al. Revascularisation versus medical treatment in patients with stable coronary artery disease: network meta-analysis. *BMJ*. 2014;348(jun23 8):g3859-g3859.
 46. Archer R , Ott DA , Parravicini R , Cooley DA , Reul GJ , Frazier OH , Duncan JM , Livesay JJ WW. Coronary artery revascularization without cardiopulmonary bypass. *Texas Hear Inst J*. 1984;11(1):52-57.
 47. Angelini GD, Taylor FC, Reeves BC, Ascione R. Early and midterm outcome after off-pump and on-pump surgery in Beating Heart Against Cardioplegic Arrest Studies (BHACAS 1 and 2): A pooled analysis of two randomised controlled trials. *Lancet*. 2002;359(9313):1194-1199.
 48. Karolak W, Hirsch G, Buth K, Légaré JF. Medium-term outcomes of coronary artery bypass graft surgery on pump versus off pump: Results from a randomized controlled trial. *Am Heart J*. 2007;153(4):689-695.
 49. Smart NA, Dieberg G, King N. Long-Term Outcomes of On- Versus Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(9):983-991.
 50. Bakaeen FG, Shroyer ALW, Gammie JS, et al. Trends in use of off-pump coronary artery bypass grafting: Results from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;148(3):856-864.
 51. The Society of Thoracic Surgeons adult cardiac surgery database.

- Durham, NC: Society of Thoracic Surgeons and Duke Clinical Research Institute S 2017.
52. Bustamante-Munguira J, Centella T. Registro de intervenciones de la Sociedad Española de Cirugía Torácica-Cardiovascular. *Cir Cardiovasc* 2014;21(4):271-285.
 53. Chambers DJ, Fallouh HB. Pharmacology & Therapeutics Cardioplegia and cardiac surgery: Pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther.* 2010;127(1):41-52.
 54. Brown JR1, Hernandez F Jr, Klemperer JD, Clough RA, DiPierro FV, Hofmaster PA, Ross CS OG. Cardiac troponin T levels in on- and off-pump coronary artery bypass surgery. *Hear Surg Forum.* 2007;10(1):E42-6.
 55. Widimsky P, Straka Z, Stros P, et al. One-year coronary bypass graft patency: A randomized comparison between off-pump and on-pump surgery angiographic results of the PRAGUE-4 trial. *Circulation.* 2004;110(22):3418-3423.
 56. Nathoe HM, van Dijk D, Jansen EWL, et al. A comparison of on-pump and off-pump coronary bypass surgery in low-risk patients. *N Engl J Med.* 2003;348(5):394-402.
 57. Patency G, Puskas JD, Williams WH, et al. Off-Pump vs Conventional Coronary Artery Bypass Grafting : *Patient Manag.* 2004;291(15):1841-1849.
 58. Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, et al. Regulation of Intercellular

- Adhesion Molecule-I (ICAM-1) in Ischemic and Reperfused Canine Myocardium. *J Clin Invest* 1993;92(September):1504-1516.
59. Garcia-dorado D, Michael H. Postconditioning: Reperfusion of "reperfusion injury" after hibernation. *Cardiovascular Research* 2006;69:1-3.
60. Xie J, Liao X, Chen W, et al. Remote ischaemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing heart valve surgery: randomised controlled trial. *Heart* 2012; 98:384-88.
61. Murry CE, Jennings RB, Reimer K a. Preconditioning with ischemia: injury delay of lethal cell ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1224-1136.
62. Zaugg M, Schaub MC, Foëx P. Myocardial injury and its prevention in the perioperative setting. *Br J Anaesth*. 2004;93(1):21-33.
63. Galagudza MM, Sonin DL, Vlasov TD, Kurapeev DI, Shlyakhto E V. Remote vs . local ischaemic preconditioning in the rat heart: infarct limitation , suppression of ischaemic arrhythmia and the role of reactive oxygen species. *Int.I J.of Exp. Path*. 2016:66-74.
64. Teoh LKK, Grant R, Hulf JA, Pugsley WB, Yellon DM. A Comparison between Ischemic Preconditioning, Intermittent Cross-Clamp Fibrillation and Cold Crystalloid Cardioplegia for Myocardial Protection during Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Vascular*. 2002;10(3):251-255.
65. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional Ischemic ' Preconditioning ' Protects Remote Virgin Myocardium From Subsequent Sustained Coronary Occlusion. *Circulation* 1993 ; 87:893-899.

66. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: Underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res.* 2008;79(3):377-386.
67. Gerd Heusch. Molecular Basis of Cardioprotection. *Circ Res.* 2015;116: 674-99.
68. Hausenloy DJ, Barrabes JA, Erik H, et al. Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury : a 30 year voyage of discovery. *Basic Res Cardiol*, 2016; 111(6):70
69. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia – reperfusion injury : targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK) -pathway. *Cardiovascular Research*, 2004;61:448-460.
70. Africa S, Evaluating S, Ef R, Diabetic N, User A, Carlos HSAN. Journal of Molecular and Cellular Cardiology Multiple protective pathways against reperfusion injury : A SAFE path without Aktion ? *Journal of Molecular and Cellular* 2009;46(5):607-609.
71. Frias MA, Pedretti S, Hacking D, et al. HDL protects against ischemia reperfusion injury by preserving mitochondrial integrity. *Atherosclerosis.* 2013;228(1):110-116.
72. Lamont KT, Somers S, Lacerda L, Opie LH. Is red wine a SAFE sip away from cardioprotection? Mechanisms involved in resveratrol- and melatonin-induced cardioprotection. *Journal of Pineal Research* 2011; 50(4): 374-380.
73. Hilfiker-kleiner KBD, Heusch G, Schulz R. Inhibition of permeability

- transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia / reperfusion. *Basic Res Cardiol.* 2010;150: 771-785.
74. Randhawa PK, Bali A, Singh A. RIPC for multiorgan salvage in clinical settings : Evolution of concept , evidences and mechanisms. *Eur J Pharmacol.* 2015;746:317-332.
75. Albrecht M, Zitta K, Bein B, Wennemuth G. Remote ischemic preconditioning regulates HIF-1 a levels , apoptosis and inflammation in heart tissue of cardiosurgical patients : a pilot experimental study. 2013. *Basic Res Cardiol.* 2013 (108);314.
76. Shahid M, Tauseef M, Sharma KK, Fahim M. Brief femoral artery ischaemia provides protection against myocardial ischaemia – reperfusion injury in rats : the possible mechanisms. *Exp Physiol.* 2008, 954-968.
77. Jackson C, Nguyen M, Arkell J, Sambrook P. Selective matrix metalloproteinase (MMP) inhibition in rheumatoid arthritis – Targetting gelatinase A activation. *European Journal of Pharmacology.* 2001;50:183-186.
78. Mohr A1, Chatain N, Domszalai T, Rinis N, Sommerauer M, Vogt M M-NG. Dynamics and non-canonical aspects of JAK/STAT signalling. *Eur J Cell Biol.* 2012;91(6-7):524-532.
79. Heusch G, Musiolik J, Kottenberg E, Jakob H, Thielmann M. STAT5 Activation and Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning in Humans. Short Communication. *Circulation Research.* 2012; 110: 111-115

80. Wu Q, Wang T, Chen S, et al. Cardiovascular surgery Cardiac protective effects of remote ischaemic preconditioning in children undergoing tetralogy of fallot repair surgery : a randomized controlled trial. *European Heart Journal*. 2018:1028-1037.
81. Buchholz B, Rodr M, Virginia P, Inserte J, Garc D, Gelpi RJ. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. *Exp Physiol*. 2013;2:425-434.
82. Konstantinov IE1, Arab S, Kharbanda RK, Li J, Cheung MM, Cherepanov V, Downey GP, Liu PP, Cukerman E, Coles JG RA. The remote ischemic preconditioning stimulus modifies inflammatory gene expression in humans. *Physiol Genomics*. 2004;16;19(1):143-150.
83. Bolli R, Dawn B, Xuan Y. Role of the JAK – STAT Pathway in Protection Against Myocardial Ischemia / Reperfusion Injury. *Trends Cardiovasc Med* 2003;13:72-79.
84. Gedik N, Krüger M, Thielmann M, et al. Proteomics / phosphoproteomics of left ventricular biopsies from patients with surgical coronary revascularization and pigs with coronary occlusion / reperfusion : remote ischemic preconditioning. *Scientific Reports* 2017;(June):1-22.
85. Zimmerman RF, Ezeanuna PU, Kane JC, et al. Ischemic preconditioning at a remote site prevents acute kidney injury in patients following cardiac surgery. *Kidney Int*. 2011;80(8):861-867.
86. Wu, J., Feng, X., Huang, H., Shou, Z., Zhang, X., Wang, R., Chen, Y., Chen J. Remote ischemic conditioning enhanced the early recovery of renal function in recipients after kidney transplantation: a randomized

- controlled trial. *Journar Surg Res.* 2014;88(1):303-308.
87. Michael M. H. Cheunget al. Randomized Controlled Trial of the Effects of Remote Ischemic Preconditioning on Children Undergoing Cardiac Surgery First Clinical Application in Humans. *Journal of the American College of Cardiology.* 2006;47(11): 2277-82.
88. Derek J Hausenloy, Peter K Mwamure et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2007;370(9587):575-579.
89. Ali N1, Rizwi F, Iqbal A RA. Induced remote ischemic pre-conditioning on ischemia-reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2010;20(7):427-431.
90. Candilio L, Malik A, Ariti C, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery : a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2015:185-192.
91. Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, et al. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol – a clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand* 2012:30-38.
92. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, et al. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery : a single-centre randomised , double-blind , controlled trial. *Lancet.* 2013:597-604.
93. Hong D.M. Min JJ, Kim JH et al. The effect of remote ischaemic

- preconditioning on myocardial injury in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery. *Anaesth Intensive Care*. 2010;38(5):924-929.
94. Hong DM, Lee E-H, Kim HJ, et al. Does remote ischaemic preconditioning with postconditioning improve clinical outcomes of patients undergoing cardiac surgery? Remote Ischaemic Preconditioning with Postconditioning Outcome Trial. *Eur Heart J*. 2014;35(3):176-183.
95. Skyschally A, Gent S, Amanakis G, Schulte C, Kleinbongard P. Integrative Physiology Across-Species Transfer of Protection by Remote Ischemic Preconditioning With Species-Specific Myocardial Signal Transduction by Reperfusion Injury Salvage Kinase and Survival Activating Factor Enhancement Pathways. *Circ Research* 2015:279-288.
96. García dela Villa B, Díaz-Buschmann I, Alfonso Jurado J et al. Valor de la troponina I cardíaca como prueba diagnóstica en el estudio del dolor torácico. *Rev Esp Cardiol*1998; 51:122-128.
97. Bucher EA, Maisonpierre PC, Konieczny SF, Emerson CP. Expression of the troponin complex genes: transcriptional coactivation during myoblast differentiation and independent control in heart and skeletal muscles. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 4.134-4.142..
98. GS. B. Cardiac troponin-I: a highly specific biochemical marker for myocardial infarction. *J Clin Immunoass*. 1994;(17):40-44.
99. González DM, Gómez LS, Díaz DP, et al. Evaluación de un inmunoanálisis rápido de cuantificación de troponina I cardíaca en el

- diagnóstico de infarto agudo del miocardio. *Química clínica* 2003;22(6):419-430.
100. Valores referencia de laboratorio HCSC 2015.
 101. NJ K. The Bradford method for protein quantitation. *Methods Mol Biol.* 1994;32:9-15.
 102. Fern J, Baleares I. Entendiendo un Western Blot. 2016:1-25.
 103. Chowdhury UK, Malik V, Yadav R, et al. Myocardial injury in coronary artery bypass grafting: On-pump versus off-pump comparison by measuring high-sensitivity C-reactive protein, cardiac troponin I, heart-type fatty acid-binding protein, creatine kinase-MB, and myoglobin release. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135(5).
 104. Hong DM, Jeon Y, Lee CS, et al. Effects of remote ischemic preconditioning with postconditioning in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery - Randomized controlled trial -. *Circ J.* 2012;76(4):884-890.
 105. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M MP. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation.* 1999;100:340-344.
 106. https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/76233/FT_76233.html#10-fecha-de-la-revisi-n-del-texto. Ficha técnica remifentanilo.
 107. https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/62134/62134_ft.pdf.Ficha técnica de propofol.
 108. DJ Hausenloy, L Candilio RE et al. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery. *New England Journal of Medicine* 2015;373(15):1408–17

109. P. Meybohm, B. Bein, et al. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *New England Journal of Medicine* 2015;373 (15):1397-1407.
110. Hausenloy DJ, Candilio L, Laing C, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery (ERICCA): Rationale and study design of a multi-centre randomized double-blinded controlled clinical trial. *Clin Res Cardiol.* 2012;101(5):339-348.
111. Benstoem C, Stoppe C, Liakopoulos OJ, et al. Remote ischaemic preconditioning for coronary artery bypass grafting. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;(5).
112. Xie J, Zhang X, Xu J, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on outcomes in adult cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies. *Anesth Analg.* 2018;127(1):30-38.
113. Joung KW, Rhim JH, Chin JH, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on cognitive function after off-pump coronary artery bypass graft: A pilot study. *Korean J Anesthesiol.* 2013;65(5):418-424.
114. Krawczyk K R. Remote ischaemic preconditioning in patients undergoing off-pump coronary bypass grafting: prospective study and preliminary results. *Card Track Progr.* 2011;6(3):146.
115. Krawczyk K, Burnos Z, Gierak E, Golowicz J, Gryszko L, Suwalski G et al. Remote ischemic preconditioning is cardioprotective in patients undergoing off-pump coronary bypass grafting a prospective randomised controlled study. *Track Progr 2.* 2011;6(3):146.

116. Krawczyk K, Grzegorz S, Gryszko L, Go owicz J, Burnos Z, Sza a ski P et al. Routine remote ischemic preconditioning in patients undergoing off-pump coronary artery bypass grafting improves results in controlled randomized prospective study. *Innov Technol Tech Cardiothoracic&Vascular Surg.* 2012;7(2):137.
117. The Society of Thoracic Surgeons. STS adult cardiac surgery database risk model variables-Data version 2.9. 2018:1-32.
118. <http://riskcalc.sts.org/stswebriskcalc/calculate>.
119. F. Roques, S.A. Nashef, P. Michel, E. Gauducheau, C. de Vincentiis, E. Baudet et al. Risk factors and outcome in European cardiac surgery: Analysis of the EuroSCORE multinational database of 19030 patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999;15:816-822.
120. S.A. Nashef, F. Roques, P. Michel, E. Gauducheau, S. Lemeshow RS. European System for Cardiac Operative Risk Evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999;16:9-13.
121. Álvarez López M, Colmenero M, Martín P, et al. ¿Se puede identificar mediante el EuroSCORE a los pacientes con mortalidad mínima en cirugía cardíaca? *Rev Esp Cardiol.* 2003;56(7):682-686.
122. C. Wang, F. Yao, L. Han, J. Zhu ZYX. Validation of the European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE) in Chinese heart valve surgery patients. *J Hear Valve Dis.* 2019;10:21-27.
123. I. Qadir, M.M. Salick, S. Perveen HS. Mortality from isolated coronary bypass surgery: A comparison of the Society of Thoracic Surgeons and the EuroSCORE risk prediction algorithms. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2012;14:258-262.

124. S.A. Nashef, F. Roques, L.D. Sharples, J. Nilsson, C. Smith, A.R. Goldstone et al. EuroSCORE II. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012;41:734-744.
125. Miguel Álvarez, Manuel Colmenero, Pilar Martín. ¿ Se puede identificar mediante el EuroSCORE a los pacientes con mortalidad mínima en cirugía cardiaca?. *Rev Esp Cardiología* .2013; 56(7): 682-686.
126. Patrick W. Serruys, M.D., Ph.D., Marie-Claude Morice, M.D., A. Pieter Kappetein et al. Percutaneous Coronary Intervention versus Coronary-Artery Bypass Grafting for Severe Coronary Artery Disease. *New Engl J Med.* 2009;360:961-972.
127. Head SJ, Farooq V, Serruys PW, Kappetein AP. The SYNTAX score and its clinical implications. *Heart.* 2014;100(2):169-177.
128. Gómez-Sánchez M, Soulé-Egea M, Herrera-Alarcón V, Barragán-García R. El cirujano cardiovascular y la puntuación Syntax. *Arch Cardiol México.* 2015;85(1):50-58.
129. Farooq V, Van Klaveren D, Steyerberg EW, et al. Anatomical and clinical characteristics to guide decision making between coronary artery bypass surgery and percutaneous coronary intervention for individual patients: Development and validation of SYNTAX score II. *Lancet.* 2013;381(9867):639-650.
130. Campos CM, Garcia-Garcia HM, Van Klaveren D, et al. Validity of SYNTAX score II for risk stratification of percutaneous coronary interventions:A patient-level pooled analysis of 5433 patients enrolled in contemporary coronary stent trials. *Int J Cardiol.* 2015;187(1):111-115.

