

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



TESIS DOCTORAL

***ESTUDIO PROTEÓMICO DE LA OREJUELA CARDIACA
HUMANA. CAMBIOS INDUCIDOS POR LA FIBRILACIÓN
AURICULAR.***

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Luis Carlos Maroto Castellanos

Bajo la dirección de los doctores:

**Antonio López-Farre
Carlos Macaya Miguel**

Madrid, 2010

ISBN: 978-84-693-3488-1

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA**

***ESTUDIO PROTEÓMICO DE LA OREJUELA CARDIACA
HUMANA. CAMBIOS INDUCIDOS POR LA FIBRILACIÓN
AURICULAR.***

TESIS DOCTORAL

**Luis Carlos Maroto Castellanos
Madrid, 2009**

A Belén, mi apoyo.

*A Íñigo y Patricia,
mi razón.*

*A mis padres,
mi ejemplo.*

**DEPARTAMENTO DE CIRUGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**ESTUDIO PROTEOMICO DE LA OREJUELA
CARDIACA HUMANA. CAMBIOS INDUCIDOS POR
LA FIBRILACIÓN AURICULAR.**

DIRECTORES: Dr. D. Antonio López-Farre.
Dr. D Carlos Macaya Miguel.

**ESTUDIO PROTEOMICO DE LA OREJUELA
CARDIACA HUMANA. CAMBIOS INDUCIDOS POR
LA FIBRILACIÓN AURICULAR.**

**TESIS DOCTORAL PARA ACCEDER AL GRADO
DE DOCTOR POR LA FACULTAD DE MEDICINA
DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID.**

**PRESENTADA POR
LUIS CARLOS MAROTO CASTELLANOS
MADRID, 2009**

D. ANTONIO LÓPEZ FARRÉ, DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR) Y JEFE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN CARDIOVASCULAR DEL SERVICIO DE CARDIOLOGÍA DEL INSTITUTO CARDIOVASCULAR DEL HOSPITAL CLÍNICO DE MADRID

CERTIFICA: Que Don Luis Carlos Maroto Castellanos, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección y supervisión la tesis titulada “Estudio proteómico de la orejuela cardiaca humana. Cambios inducidos por la fibrilación auricular”.

El presente trabajo reúne las condiciones de rigor y originalidad científica para ser presentada como Tesis Doctoral.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Madrid a cuatro de Mayo de dos mil nueve .

D. CARLOS MACAYA MIGUEL, DOCTOR EN MEDICINA,
CATEDRÁTICO DE CARDIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID Y JEFE DEL SERVICIO DE
CARDIOLOGÍA DEL INSTITUTO CARDIOVASCULAR DEL
HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS DE MADRID

CERTIFICA: Que Don Luis Carlos Maroto Castellanos, licenciado en
Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección y supervisión la
tesis titulada “Estudio proteómico de la orejuela cardiaca humana.
Cambios inducidos por la fibrilación auricular”.

El presente trabajo reúne las condiciones de rigor y originalidad
científica para ser presentada como Tesis Doctoral.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente
certificación en Madrid a cuatro de Mayo de dos mil nueve.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Antonio López-Farré**, que ha codirigido esta tesis por su apoyo y estímulo y por su constante disponibilidad.

Al **Dr. Carlos Macaya**, codirector de esta tesis, por hacer posible una unidad de investigación de alto nivel en el Instituto Cardiovascular.

Al **Dr. Enrique Rodríguez**, creador de la idea de este trabajo, su constante estímulo ha hecho posible este y otros proyectos.

Al **Dr. Sergio Alonso Orgaz**, y a **Javier Modrego Martín**, investigadores del Instituto Cardiovascular, verdaderos artífices del trabajo en el laboratorio, sin su ayuda hubiera sido imposible llevar a cabo esta tesis.

A todos los **miembros del Servicio de Cirugía Cardíaca** del Hospital Clínico por su apoyo y colaboración en esta tesis.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACVA: Accidente cerebrovascular.

AD: Aurícula derecha.

AI: Aurícula izquierda.

DE: Desviación estándar.

ECA: Enzima conversor de la angiotensina.

FA: Fibrilación auricular.

FE: Fracción de eyección.

HTA: Hipertensión arterial.

NS: No significativo.

PSAP: Presión sistólica de la arteria pulmonar.

RS: Ritmo sinusal.

RF: Radiofrecuencia.

UA: Unidades arbitrarias.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Concepto, Epidemiología y fisiopatología de la fibrilación auricular.

1.2 El sistema de conducción. Sistema nervioso vegetativo cardiaco.

1.2.1 El nodo sinusal.

1.2.2 El nodo auriculoventricular.

1.2.3 El haz de His.

1.2.4 Fibras de Purkinje.

1.2.5 El sistema nervioso vegetativo cardiaco.

1.3 Mecanismos de la fibrilación auricular.

1.3.1 Conceptos básicos.

1.3.2 Mecanismo electrofisiológico.

1.3.3 Remodelado auricular.

1.4 Tratamiento médico. Control del ritmo *versus* control de la frecuencia.

Anticoagulación.

1.5 Tratamiento percutáneo.

1.6 Tratamiento quirúrgico.

1.6.1 Evolución histórica.

1.6.2 Técnica de Cox-Maze.

1.6.3 Resultados.

1.6.4 Impacto del tratamiento quirúrgico de la FA en el seguimiento.

1.7 Alternativas a la técnica de Cox-Maze.

1.7.1 El patrón de lesiones.

1.7.2 Fuentes de energía alternativas a la incisión quirúrgica.

1.7.3 Los resultados.

1.8 Situación actual del tratamiento quirúrgico de la fibrilación auricular.

Perspectivas futuras.

1.9 Guías clínicas para el tratamiento quirúrgico de la FA.

1.10 Proteómica.

1.10.1 Concepto.

1.10.2 Tipos de proteómica

1.10.3 Fundamentos de la imagen.

1.10.4 Análisis de imagen.

1.10.5 Espectrometría de masas.

1.10.6 Objetivos futuros de la proteómica.

1.10.7 Proteómica y enfermedad cardiovascular.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2.1 Hipótesis.

2.2 Objetivos

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 Pacientes.

3.2 Técnica quirúrgica.

3.3 Técnica de análisis proteómico.

3.4 Análisis estadístico.

4. RESULTADOS.

4.1 Pacientes.

4.2 Proteínas analizadas.

4.3 Pacientes en ritmo sinusal. Diferencias entre orejuela derecha e izquierda.

4.4 Pacientes en fibrilación auricular. Diferencias entre orejuela derecha e izquierda.

4.5 Perfil clínico de los pacientes en RS y en FA. Diferencias.

4.6 Diferencias en la orejuela derecha entre pacientes en RS y FA.

4.7 Diferencias en la orejuela izquierda entre pacientes en RS y FA.

4.8 Relación entre el tamaño auricular izquierdo y expresión proteica.

5. DISCUSIÓN.

5.1 Interpretación de los cambios encontrados en la expresión proteica.

5.1.1 Comparación de la expresión proteica entre orejuela derecha e izquierda en los pacientes en ritmo sinusal.

5.1.2 Comparación de la expresión proteica entre orejuela derecha e izquierda en los pacientes en fibrilación auricular.

5.1.3 Comparación de los cambios en la expresión proteica en la orejuela derecha de pacientes en RS y FA.

**5.1.4 Comparación de los cambios en la expresión proteica
en la orejuela izquierda de pacientes en RS y FA.**

5.2 Relación entre tamaño auricular izquierdo y expresión proteica.

5.3 Limitaciones del estudio.

6. CONCLUSIONES.

7. BIBLIOGRAFÍA.

8. ANEXO.

8.1 Consentimiento informado para muestras quirúrgicas.

8.2 Hoja de recogida de datos.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1. Concepto, epidemiología y fisiopatología de la fibrilación auricular.

La fibrilación auricular (FA) se define como la despolarización desorganizada de las aurículas como consecuencia de la fragmentación de la activación en múltiples frentes, que determina un patrón irregular de ondas auriculares en el electrocardiograma^{1,2}.

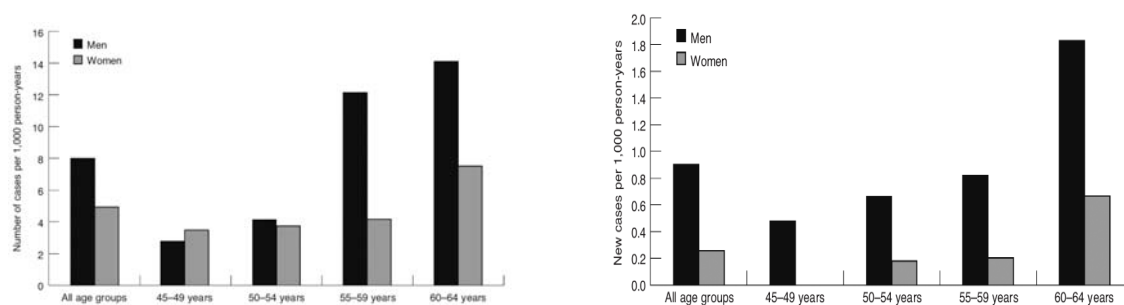


Figura 1. Incidencia y prevalencia de la FA (Rudolf M, Lip G, Backhshi L et al⁵).

Es la taquiarritmia supraventricular más frecuente con una prevalencia en la población general de aproximadamente el 1%(Fig.1). Además su frecuencia aumenta con la edad, de manera que el 6% de los mayores de 65 años y el 10% de los mayores de 80 años la presentan²⁻¹³. La incidencia anual es aproximadamente del 0.1% al año en los menores de 40 años y del 2% al año en los mayores de 80. En los pacientes sometidos a cirugía cardiaca la incidencia de FA preoperatoria es aún mayor: 30-60% de los pacientes sometidos a cirugía mitral, 15-20% de los sometidos a cirugía valvular aórtica y 1-4% de los pacientes sometidos a cirugía coronaria. Se calcula que en el año

2020 más de 9 millones de estadounidenses tendrán FA, siendo el 50% de ellos mayores de 80 años⁸.

Se trata de una patología multifactorial, que la mayoría de las veces se inicia como una enfermedad paroxística o intermitente y que evoluciona con el tiempo a una forma crónica o permanente. La *American Heart Association*, el *American Collage of Cardiology (ACC)* y la *European Society of Cardiology(ESC)* clasifican la FA en 4 tipos en función de su evolución⁹ (Fig. 2):

1. **Primer episodio** de FA.
2. **FA paroxística**: 2 o más episodios que revierten espontáneamente a ritmo sinusal (RS) antes de 7 días.
3. **FA persistente**: Dura más de 7 días, no revierte espontáneamente a RS pero si lo hace con fármacos antiarrítmicos o cardioversión eléctrica.
4. **FA permanente**: El ritmo de base del paciente es la FA.

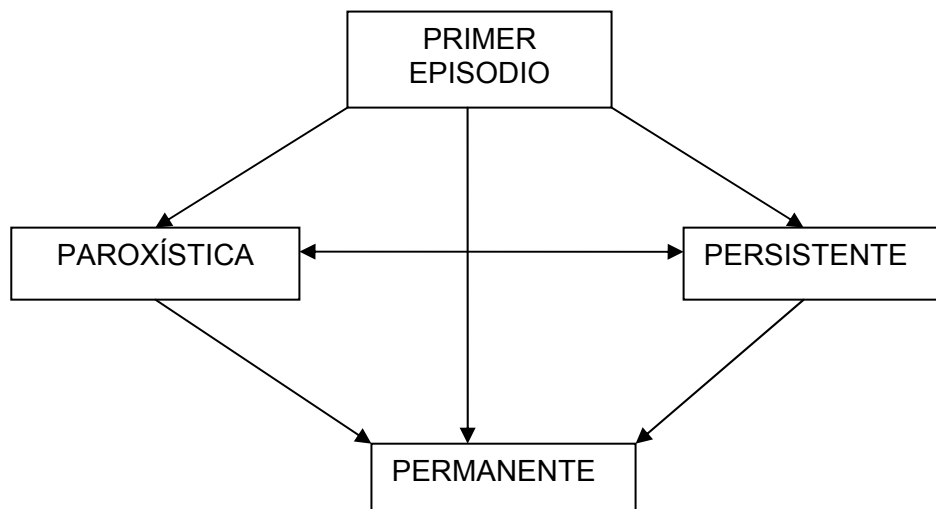


Figura 2. Clasificación de la FA .

Además de la edad son factores de riesgo para su aparición la hipertensión arterial, la cardiopatía isquémica, las miocardiopatías, las

valvulopatías, el hipertiroidismo, la diabetes *mellitus*, la cirugía torácica, la pericarditis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el alcohol, entre otros⁹⁻¹³. En hasta un 30% de los casos no se identifica un factor desencadenante claro.

Su presencia duplica la mortalidad cardiovascular y de cualquier causa y multiplica por 2-5 el riesgo de accidente cerebrovascular (ACVA). Los ACVAs relacionados con la FA tienen mayor mortalidad, el déficit es más severo y la recurrencia más frecuente. Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca con FA preoperatoria tienen mayor mortalidad hospitalaria y menor supervivencia en el seguimiento¹⁴⁻²⁸.

Las FA produce su efecto deletéreo a través de 3 mecanismos: el latido cardíaco rápido e irregular (produce incomodidad y ansiedad, y puede evolucionar a miocardiopatía), la pérdida de la contracción auricular (determina una caída del gasto cardíaco) y la estasis sanguínea auricular (riesgo de tromboembolismo). Cualquier tratamiento aplicado debería ser capaz de corregir estas 3 alteraciones para eliminar la morbimortalidad asociada a la arritmia. La cirugía a través de la técnica de *Cox-maze* y sus variantes actúa sobre los 3 mecanismos con unas tasas de éxito superiores al 90%, constituyéndose así en el patrón oro de los tratamientos de la FA²⁹. En general es más fácil de curar en sus primeros estadios (tanto en su variante aislada como en las formas asociadas a cardiopatía estructural) y las formas aisladas (frente a las asociadas a cardiopatía estructural).

1.2 El sistema de conducción. Sistema nervioso vegetativo cardíaco.

El sistema de conducción es un tejido muscular especializado responsable de la iniciación y diseminación del latido cardíaco. Sus componentes son el nodo sinusal, el nodo aurícula-ventricular, el haz de His y las fibras de Purkinje^{30,31} (Fig.3).

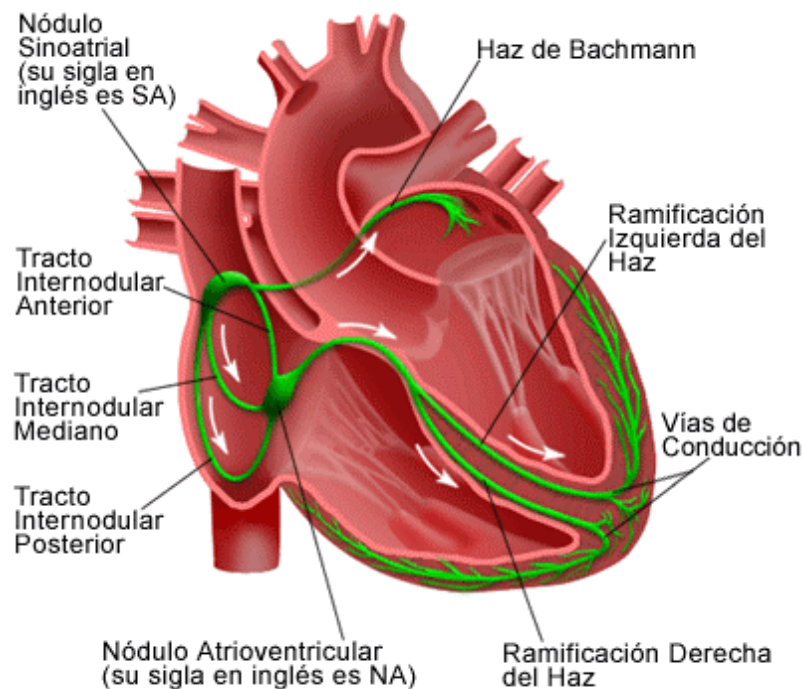


Figura 3. El sistema de conducción.

1.2.1 El nodo sinusal.

Descrito por *Keith* y *Flack* en 1907 es el inicio del sistema de conducción. Es el encargado en condiciones normales de generar el ritmo cardíaco. Se localiza en el subepicardio de la parte anterior y superior de la aurícula derecha (AD), en la unión entre la cava superior y la orejuela. Tiene un tamaño de unos 15 x 5 x 1.5 mm. Consta de miocitos especializados, que son algo más pequeños que los contráctiles, en haces entremezclados en una

matriz de tejido conectivo. En la periferia del nodo las células especializadas se mezclan con los miocitos contráctiles. Es irrigado por la arteria sinusal, que en el 60% de los casos es rama de la arteria coronaria derecha. La inervación es fundamentalmente por fibras parasimpáticas, siendo las simpáticas principalmente para los vasos sanguíneos.

La transmisión del impulso eléctrico hacia el nodo aurículoventricular se realiza de manera preferencial a través de 3 vías, sin que claramente se halla podido definir unos tractos especializados. Son el haz intermodal anterior (que da a su vez el haz de Bachmann para la aurícula izquierda), el haz intermedio o de Wenckebach y el haz posterior o de Thorel. Estas vías preferenciales estarían condicionadas más por la geometría o anatomía que por la histología.

1.2.2 El nodo aurículoventricular.

Es la vía de paso del impulso eléctrico desde las aurículas a los ventrículos, siendo su función retrasar el impulso eléctrico. Se localiza en el lado derecho del tabique interauricular (porción muscular del septo atrioventricular), en el vértice del llamado triángulo de Koch. Dicho triángulo está delimitado por la desembocadura del seno coronario, el tendón de Todaro y el anillo tricúspide. Tiene un tamaño de unos 1 x 3 x 6 mm y en el 90% de los casos recibe la irrigación desde la coronaria derecha. Desde un punto de vista histológico es muy similar al nodo sinusal.

1.2.3 El haz de His.

Es la continuación anatómica del nodo aurículoventricular cuando atraviesa el cuerpo fibroso del corazón a través del trígono derecho, actuando como el transmisor del impulso eléctrico hacia los ventrículos. A dicho nivel presenta un diámetro de aproximadamente 1 mm. Transcurre entre el borde posteroinferior del septo membranoso y la cresta del septo interventricular muscular, desplazado hacia el lado izquierdo en el 80% de los casos. Está aislado de las células contráctiles por una envoltura de tejido conectivo. Se bifurca muy cerca de la válvula aórtica (a 6-20mm), bajo la comisura entre el velo no coronario y el velo derecho, dando lugar a las ramas derecha e izquierda del haz de His, que transcurren por el subendocardio de la porción septal de los ventrículos derecho e izquierdo. La rama derecha transcurre bajo el papilar septal y se dirige por la banda moderadora hacia el papilar anterior, y desde ahí se ramifica para alcanzar la pared libre del ventrículo derecho. La rama izquierda se subdivide en 2 ó 3 ramas para distribuir el impulso en el ventrículo izquierdo.

1.2.4 Fibras de Purkinje.

Constituyen una red subendocárdica en ambos ventrículos de disposición elíptica, que interconectan las fibras terminales del haz de His, permitiendo la transmisión casi simultánea del impulso. Su concentración es menor en la base de los ventrículos y la punta de los papilares, y penetran sólo en el tercio interno de la pared ventricular. Están en íntimo contacto con las

células contráctiles, sin tejido aislante, de manera que permiten el paso del impulso eléctrico del sistema de conducción a los miocitos.

1.2.5 El sistema nervioso vegetativo cardiaco.

El corazón recibe inervación tanto del sistema nervioso vegetativo simpático como del parasimpático³². La inervación simpática se produce a través de los nervios cardiacos cervicales (superior, medio e inferior, provenientes de los ganglios cervicales superior, medio e inferior ó estrellado) y los nervios torácicos (provenientes de los 7 primeros ganglios torácicos). La inervación parasimpáticos proviene del nervio vago a través de sus ramas superior, media e inferior. Los nervios autonómicos alcanzan el corazón por la cara ventral y dorsal de los troncos supraaórticos y el cayado, aunque en el lado derecho predominan ventralmente. En el la superficie del corazón existen múltiples ganglios nerviosos interconectados entre sí a través de una complicada red de nervios, localizándose principalmente en cara superior y posterior de la AD, caras superior, posteromedial y posterolateral de la aurícula izquierda (AI), raíz aórtica, origen de arterias coronarias y sus principales ramificaciones. La activación tanto del sistema simpático como del parasimpático produce una serie de cambios en la electrofisiología auricular que facilitan la inducción de FA.

1.3 Mecanismos de la FA.

1.3.1 Conceptos básicos.

Como regla general para el establecimiento de la FA necesitaremos un evento promotor (*trigger*) y un sustrato favorecedor³³. Actuarían con *triggers* los extrasístoles auriculares, cambios en la tensión de la pared auricular izquierda, cambios en el tono autonómico...etc y como sustrato favorecedor inflamación y fibrosis de la pared auricular. Este sustrato favorecedor condiciona cierto grado de disfunción eléctrica auricular (velocidad de conducción lenta y dispersión de los periodos refractarios) que facilita la perpetuación de la arritmia. Existen además una serie de factores moduladores que facilitan o dificultan la puesta en marcha de los mecanismos. Estos factores moduladores incluyen la edad, factores genéticos, hormonales, estado proinflamatorio, obesidad...etc. En la FA paroxística dominan los eventos promotores, mientras que en la FA crónica probablemente los *triggers* pasan a un papel secundario dominando la alteración de la pared auricular (Fig. 4). De esta manera para “curar” la FA paroxística bastaría con aislar la región auricular que origina los *triggers*, que en el 90% de los casos se encuentra en el interior de las venas pulmonares. Por el contrario probablemente esto no sea suficiente para tratar la FA crónica, donde habrá que actuar además sobre el sustrato auricular.

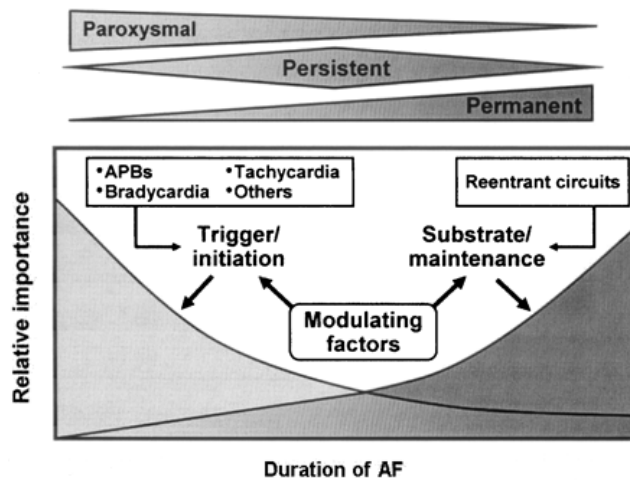


Figura 4. Tipo de FA y mecanismo (Wise GH, Gersh BJ²).

1.3.2 Mecanismo electrofisiológico.

A pesar de los avances en los últimos años todavía estamos lejos de comprender los mecanismos íntimos de esta arritmia^{1,33-38}. Los primeros estudios realizados en los años 50 defendían el **origen focal**, con posterior fragmentación del impulso al ser incapaz el miocardio auricular de conducir regularmente a frecuencias muy altas. *Moe* en los años 60 desarrolló la hipótesis de la **reentrada** de múltiples frentes de onda a partir de un modelo matemático³⁹, comprobada posteriormente de manera experimental por *Allessie*⁴⁰. En un contexto de cantidad suficiente de tejido, periodo refractario corto y desigual y velocidad de conducción lenta la FA era capaz de auto perpetuarse a través de varios circuitos de macro reentrada simultáneos. En los últimos años ha renacido la teoría focal a partir del trabajo de *Haïsaquirre*⁴¹, que mostraba la aparición de episodios de FA paroxística como consecuencia de la presencia de descargas rápidas provenientes principalmente de las venas pulmonares. Estos focos se localizan en lengüetas de miocardio auricular que penetran en la parte proximal de las venas pulmonares y de la cava superior

(Fig. 5). Estas evaginaciones aparecen en más del 90% de las venas pulmonares, penetrando hasta unos 35mm más allá del ostium de la vena.

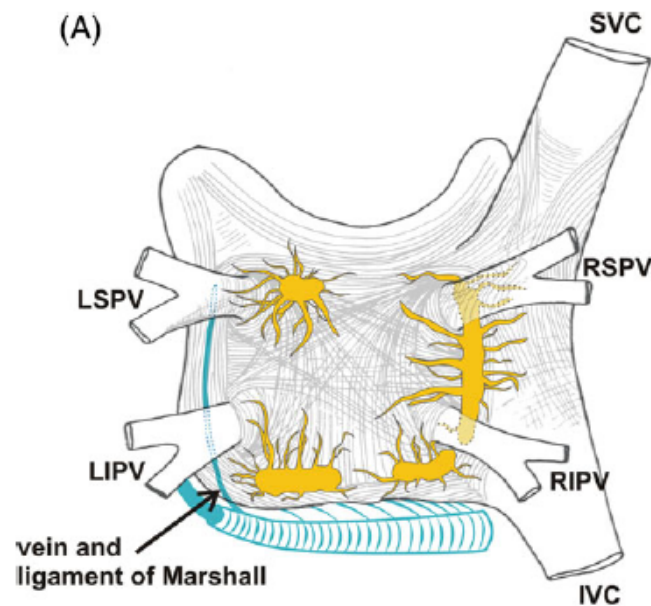


Figura 5. Relación entre las leguetas musculares de las venas pulmonares, ganglios nerviosos (amarillo) y ligamento de Marshall y seno coronario (azul) (Calkins et al⁶).

Un tercer mecanismo propuesto por *Jalifé* sería la presencia de un **rotor estable** en un punto del miocardio auricular, cuya conducción fibrilatoria produciría la arritmia⁴². Probablemente no exista un único mecanismo electrofisiológico que explique todas las FA e incluso pueden variar en el tiempo en un mismo paciente. La FA abarca un amplio espectro de substratos y mecanismos arrítmicos que van desde los puramente eléctricos (como por ejemplo la FA del Wolf-Parkinson-White) a los predominantemente estructurales (como la FA en la valvulopatía mitral) aunque en la mayoría de los casos no es posible identificar un mecanismo claro, estando casi siempre presenta un mayor o menor grado de remodelado estructural. En la mayoría de los pacientes diagnosticados de FA aislada concurren una serie de factores como la obesidad, la hipertensión arterial, la diabetes, entre otros, que son los

causantes de un remodelado estructural, siendo la FA la consecuencia tardía de ese proceso.

1.3.3 Remodelado auricular.

Los episodios de FA van produciendo un remodelado auricular no sólo anatómico, sino también funcional que determina la perpetuación de la arritmia convirtiéndola en crónica y no necesitando ya de los *triggers* para su mantenimiento⁴³ (Figura 6).

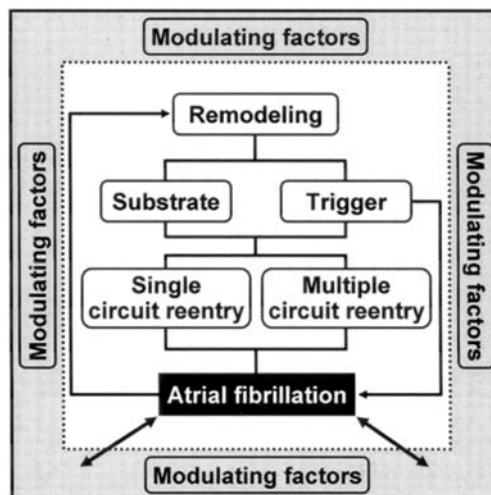


Figura 6. Mecanismos de la FA. Remodelado y factores moduladores (Wise GH, Gersh BJ²).

El remodelado no sólo es consecuencia de repetidos episodios de FA, sino que también actúa como intermediario en la cascada de eventos que llevan al desarrollo de la FA. Los principales inductores de la puesta en marcha de los mecanismos de remodelado son la taquicardia, la sobrecarga de volumen y la sobrecarga de presión. Estos producen una respuesta adaptativa del miocito en un intento de mantener la homeostasis frente a la “agresión”.

Esta respuesta adaptativa incluye:

1. Cambios estructurales:

- Dilatación auricular.
- Hipertrofia de miocitos.
- Fibrosis intersticial.
- Cambios degenerativos: edema, picnosis nuclear, pérdida celular...
- Cambios en proteínas estructurales: Paso del isómero α de la cadena pesada de la miosina (rápido) al isómero β (lento).
- En el remodelado inducido por taquicardia no aparecen signos de degeneración celular, y no se modifica el nº de miocitos ni la cantidad de tejido conectivo. Por el contrario se observa miolisis, depósitos de glucógeno y aumento en el número y tamaño de las mitocondrias.

2. Cambios en las propiedades electrofisiológicas: Son consecuencia de los cambios estructurales y también de alteraciones en los canales iónicos. La dilatación auricular produce inestabilidad eléctrica con acortamiento del periodo refractario y la fibrosis asociada favorece la reentrada, mientras que el aumento de presión intraauricular hace que los miocitos se despolaricen con más facilidad. En el remodelado inducido por taquicardia se produce un descenso en el nº de canales L del calcio, que determina una sobrecarga de calcio en el citosol, con acortamiento del periodo refractario y del potencial de acción. De esta manera se facilita la reentrada como mecanismo de la FA. En el remodelado inducido por sobrecarga de volumen o presión, apenas se

modifican los canales del calcio, y el periodo refractario no se acorta. Por el contrario disminuyen más las corrientes de potasio y las de sodio/calcio, sin modificarse la duración del potencial de acción.

3. Cambios en el metabolismo: Cambia la principal fuente de energía de los miocitos, pasando de la beta oxidación de los ácidos grasos a la glicólisis. Determina una menor disponibilidad de energía y por ello una menor eficacia contráctil. Como consecuencia se produce el cambio antes descrito en la miosina.

4. Transtornos neurohormonales: Se produce un aumento de la secreción de péptido natriurético atrial (ANP) y de péptido natriurético cerebral (BNP) de origen cardiaco como respuesta adaptativa de la aurícula izquierda intentando corregir la alteración hemodinámica y la progresión del remodelado aunque su efecto se ve limitado por la fibrosis. También se elevan los niveles de angiotensina II, aldosterona y β -TGF, que contribuyen al remodelado por su efecto proliferativo, proinflamatorio, profibrosis y protrombótico.

El remodelado auricular es un proceso reversible, al menos en las primeras fases. El tamaño y la función auricular pueden mejorar con algunos fármacos (inhibidores de la enzima de conversión, bloqueantes de los receptores de angiotensina, bloqueantes de los receptores de aldosterona, simvastatina...), tras la restauración del ritmo sinusal (por cardioversión eléctrica, ablación percutánea o ablación quirúrgica) o tras la cirugía mitral. Parece lógico que actuando de manera precoz sobre los factores precipitantes del remodelado estructural se tendría un impacto mucho mayor sobre el pronóstico de estos pacientes que con el tratamiento dirigido exclusivamente a

actuar sobre los mecanismos eléctricos (fármacos antiarrítmicos, cardioversión eléctrica, ablación de focos ectópicos), que actúa mas bien como algo paliativo y con frecuencia transitorio.

1.4. Tratamiento médico. Control del ritmo *versus* control de la frecuencia.

Anticoagulación.

Distintos ensayos clínicos realizados en los últimos años no han encontrado diferencias en la morbimortalidad en el seguimiento entre pacientes asignados a control del ritmo (con fármacos y cardioversión eléctrica) frente a los asignados al control de la frecuencia⁴⁴⁻⁵⁷. Sólo con fármacos y/o con cardioversiones eléctricas es difícil mantener de manera eficaz el ritmo sinusal entre otras cosas porque no estamos actuando sobre la patología de base que muchas veces es la causa de la arritmia. Además los fármacos antiarrítmicos no están exentos de efectos secundarios tanto a nivel cardiaco (depresión de la función ventricular, efecto proarritmogénico) como extracardiaco (hepatotoxicidad, alteraciones tiroideas, fibrosis pulmonar...etc). Por el contrario los fármacos utilizados para el control de la frecuencia (digitálicos, betabloqueantes y calcioantagonistas) presentan un perfil de seguridad mucho mayor. Además aunque teóricamente los pacientes se mantengan en ritmo sinusal, los episodios de fibrilación auricular paroxística son muy frecuentes de manera que no podemos suspender la anticoagulación oral, pues el riesgo de tromboembolismo se mantiene similar al de los pacientes en fibrilación auricular.

El único tratamiento que disminuye el riesgo de accidente embólico es el tratamiento anticoagulante⁴⁶. Todos los pacientes con FA y 1 ó más factores de riesgo para eventos tromboembólicos (embolia previa, hipertensión arterial, edad > 75 años, disfunción ventricular izquierda, valvulopatía reumática, prótesis valvular) deben recibir tratamiento anticoagulante para un nivel de INR 2.0-3.0. A pesar de ello se estima que sólo el 50% de los pacientes con indicación la reciben. Además este tratamiento no está exento de riesgos, siendo el principal el de sangrado mayor, incluyendo el ictus hemorrágico (2.2/100 pacientes-año). El riesgo de embolia disminuye, pero no desaparece (2.4/100 pacientes-año). Además una cosa es el nivel de anticoagulación teórico y otra es el real. Incumplimiento del paciente, interacciones medicamentosas, transgresiones dietéticas...etc. hacen que un porcentaje importante de pacientes estén con frecuencia fuera del rango terapéutico.

1.5 Tratamiento percutáneo.

Cuando el origen de la FA se debe a la presencia de un foco ectópico en la AI las técnicas percutáneas consiguen la eliminación de la arritmia en un alto porcentaje de los pacientes. Los resultados van a venir condicionados por el grado de sintomatología (a mayor sintomatología, mayor beneficio), el peso del mecanismo focal en su génesis y mantenimiento, el tamaño auricular izquierdo, la ausencia de cardiopatía estructural y la experiencia del equipo de electrofisiología.

Aunque la mayoría de los grupos utilizan la radiofrecuencia como fuente de energía, hay más variabilidad en cuanto al patrón de lesiones realizado (Fig.

7). La técnica teóricamente más sencilla sería la de la **ablación del foco ectópico**⁴¹. El problema es que no siempre es fácil de identificar y con frecuencia son varios los focos. Además al aplicar radiofrecuencia dentro de las venas pulmonares existe el riesgo de producir estenosis de las mismas. Dado que la mayoría de los focos se encuentran dentro de las venas pulmonares la técnica más utilizada es el **aislamiento eléctrico de las venas pulmonares**⁵⁸ que aunque más segura y eficaz también es más compleja técnicamente. La tercera posibilidad es la **ablación anatómica de la AI**⁵⁹, en la que al aislamiento de las venas pulmonares se asocian una serie de líneas en la pared libre de la aurícula, buscando imitar al patrón de lesiones de la técnica de *Cox-maze*. Es probable que gran parte del éxito obtenido con esta técnica esté en relación con la gran destrucción de tejido auricular que produce y la lesión inducida sobre plexos nerviosos autonómicos de la pared posterior de la aurícula. Durante la FA las zonas de la AI con electrogramas auriculares complejos y fraccionados representan regiones con conducción lenta y puntos de giro de las ondas de reentrada, de manera que la **ablación de zonas con electrogramas fraccionados**⁶⁰ elimina áreas probablemente críticas para el mantenimiento de la arritmia. En general la tendencia es que a mayor complejidad de la arritmia (FA persistente, presencia de cardiopatía estructural,...etc.) más extensa es la ablación.

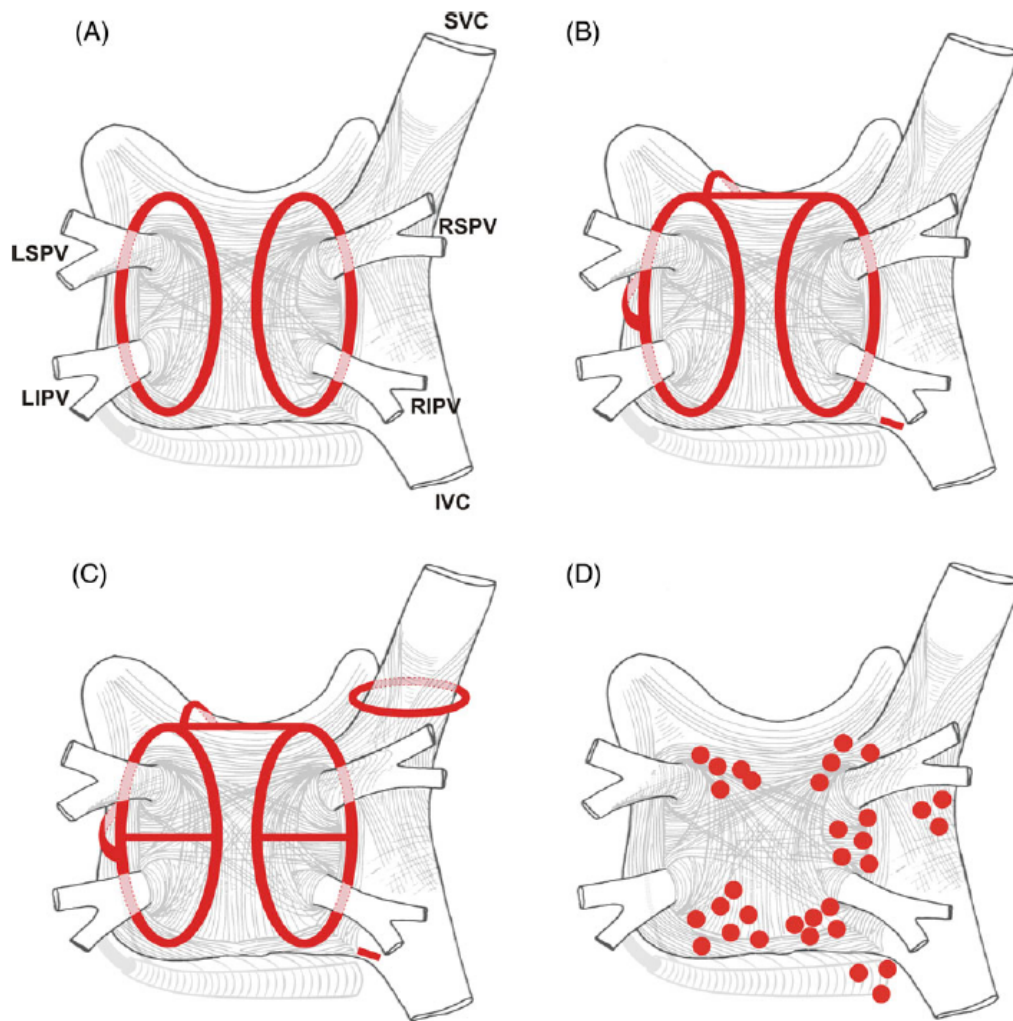


Figura 7. Distintos patrones de ablación percutánea. A: Aislamiento de venas pulmonares.

B y C: Ablación anatómica. D: Ablación de focos ectópicos (Calkins et al⁶).

La mayoría de los pacientes sometidos a ablación percutánea son pacientes muy sintomáticos con FA paroxística, siendo el principal beneficio de la técnica la mejoría de la clínica, con una disminución muy significativa de los episodios de palpitaciones. Curiosamente esa mejoría de la sintomatología no siempre va asociada a una disminución de la carga arrítmica, posiblemente debido al papel de la denervación cardíaca asociada y al efecto placebo. En la FA paroxística la tasa de éxito se sitúa en torno al 70-80%, siendo esta tasa menor cuando los episodios son persistentes y la FA es de larga duración. Es importante señalar que la mayoría de los pacientes no presentan cardiopatía

estructural, la FA es paroxística, la duración de la misma es corta y la aurícula no suele estar dilatada. Además no debe olvidarse que es un procedimiento largo, difícil, con tiempo de exposición a radiación prolongado y no exento de morbilidad. Todo ello hace que no esté justificada su aplicación a pacientes poco sintomáticos o con aceptable respuesta al tratamiento farmacológico. Las guías de la *AHA/ACC/ESC* consideran la ablación percutánea como el tratamiento de elección en pacientes con FA paroxística sintomática que no responden a los fármacos antiarrítmicos⁹.

1.6 Tratamiento quirúrgico.

1.6.1 Evolución histórica.

La primera técnica fue el *aislamiento de la AI*, descrita por Cox en 1980. Mediante una serie de incisiones quirúrgicas se aislaba eléctricamente la AI del resto del corazón. La AI por tanto seguía en FA, pero la AD recuperaba el ritmo sinusal, de manera que el gasto cardiaco mejoraba, y la frecuencia cardiaca era rítmica. Al continuar la aurícula izquierda en FA, persistía la estasis sanguínea y por lo tanto el riesgo de embolia.

Otra técnica de "aislamiento" es la ablación del nodo AV seguida del implante de un marcapasos VVI⁶². La fibrilación queda confinada en las aurículas, obteniéndose un ritmo cardiaco regular a través de la estimulación permanente del ventrículo derecho. La estasis sanguínea persiste así como la pérdida del latido auricular.

La técnica del *corredor ó pasillo* fue descrita por *Guiraudon* en 1985⁶³. Consistía en aislar una banda de miocardio auricular que conecta el nodo sinusal con el aurículo-ventricular a través del septo interauricular, de manera que el impulso eléctrico sinusal se transmite directamente al nodo AV sin pasar por las aurículas, que permanecen en FA pero eléctricamente aisladas del resto del corazón. De esta forma sólo se conseguía corregir el ritmo irregular, pero la ausencia del latido auricular y la estasis sanguínea continuaban.

Partiendo de la hipótesis de que la FA era consecuencia de macro reentradas alrededor de las venas pulmonares y de la orejuela izquierda el grupo de *James Cox* estudió distintas posibilidades técnicas con diversas incisiones en la AI en un modelo canino⁶⁴. La primera técnica desarrollada fue el aislamiento de las venas pulmonares, que curiosamente no tuvo ningún efecto en dicho modelo experimental. Diversas modificaciones del patrón de incisiones llevaron a la llamada *transección auricular*. Esta consistía en realizar una incisión por el techo de ambas aurículas desde el anillo mitral lateral hasta el anillo tricúspide por la pared lateral de la AD y con una prolongación a través del septo interauricular hasta el tendón de *Todaro*. Aunque los resultados fueron excelentes en el modelo animal no sucedió lo mismo en su aplicación clínica.

1.6.2 Técnica de Cox- maze.

Los estudios experimentales y clínicos con mapeo epicárdico biauricular del grupo de Cox mostraron que en todas las FAs y *flutters* subyacía un mecanismo de macro reentrada. En ninguno de los casos se encontraron micro

reentradas ni automatismo como mecanismos iniciadores ni perpetuadores de la arritmia. Además dichos circuitos de macro reentrada eran fugaces e imposibilitaban realizar la cirugía guiada con registros *on-line*, por lo que el objetivo de la técnica quirúrgica debía ser impedir el establecimiento de cualquiera de los teóricos circuitos. Esto se consiguió dividiendo la aurícula en pequeñas secciones, permitiendo además que el nodo sinusal tomara el ritmo del corazón y despolarizara ambas aurículas, recuperando la función de transporte de las mismas y evitando el éxtasis sanguíneo. Las aurículas se convertían en un auténtico laberinto (*maze*) para el impulso eléctrico, con una única salida que impedía el establecimiento de la arritmia.

Tras comprobar la eficacia de la técnica en el modelo canino para abolir tanto la FA como el *flutter*, se aplicó por primera vez a un paciente el 25 de septiembre de 1987⁶⁵. La técnica original se llamó el *maze I* pero hubo de modificarse al causar una disminución importante de la respuesta cronotropa y un retraso de la activación auricular izquierda con respecto a la derecha (llegaba a los 140ms cuando lo normal es 40) que la hacía coincidir prácticamente con la ventricular. Los estudios electrofisiológicos realizados mostraron la existencia de un área en torno al nodo sinusal anatómico llamada complejo de marcapasos auricular. Se trata de una porción de miocardio auricular de 2-5cm desde la que se origina el impulso auricular. En función de la frecuencia cardíaca y del estímulo el punto desde el que se origina el ritmo sinusal cambia, siendo cada vez mas alto según la frecuencia cardíaca va siendo mayor. La respuesta cronotropa anormal era consecuencia de que una de las incisiones pasaba por delante de la cava superior, a través de esta área.

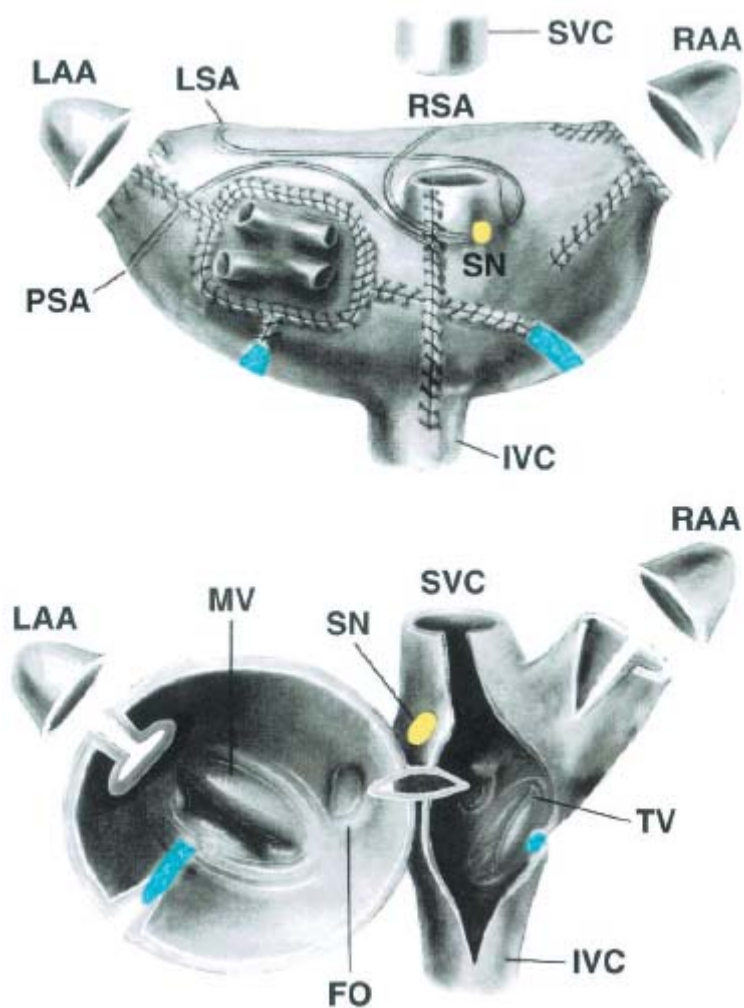


Figura 8. Maze III. LAA: orejuela izquierda. LSA: arteria sinusal izquierda. RSA: arteria sinusal derecha. SCV: vena cava superior. RAA: orejuela derecha. PSA: arteria sinusal posterior. SN: nodo sinusal. IVC: vena cava inferior. MV: válvula mitral. TV: válvula tricúspide. FO: fosa oval. En azul las lesiones de crioablación (Bando et al⁷⁴).

El retardo en la conducción interauricular se debía a que la incisión en el septo era muy anterior y afectaba al haz de *Bachmann*, vía de conducción interauricular preferencial. Las modificaciones realizadas dieron lugar al *maze II*. Aunque se resolvió el problema era bastante más compleja desde el punto de vista técnico (obligaba a seccionar completamente la cava superior) por lo que hubo de modificarse nuevamente dando lugar al *maze III* que es la técnica

actual de referencia en el tratamiento quirúrgico de la FA⁶⁶ (Figura 8). Se habla de *maze IV* para referirse al *maze III* en el que las lesiones se realizan con radiofrecuencia en vez de con incisiones.

1.6.3 Resultados.

El grupo de Cox sobre 308 pacientes operados tiene una mortalidad hospitalaria del 2.9% estando el 98% de los pacientes en RS a los 8 años⁶⁷. La complicación postoperatoria más frecuente son las arritmias supraventriculares, que sucedieron en el 37% de los pacientes. Probablemente en el postoperatorio inmediato la inflamación local y otros factores determinan que los periodos refractarios auriculares sean temporalmente más cortos de manera que los circuitos de macrorreentrada pueden ser más pequeños y caber así entre las incisiones del *maze*. Ésta es una de las razones por la que los resultados son peores en aurículas muy grandes, de manera que parece aconsejable en estos casos asociar alguna técnica de reducción auricular para que las incisiones estén lo suficientemente próximas como para impedir el establecimiento de los circuitos de macrorreentrada⁶⁸. Aunque en el 15% de los pacientes ha sido necesaria la implantación de un marcapasos la mayoría de ellos presentaban una enfermedad del seno de base.

Al comparar los resultados distinguiendo entre FA aislada y FA asociada a valvulopatía los resultados han sido similares con un 98% y 96% en RS a los 5 años. Además del mantenimiento del ritmo sinusal la incidencia de ACVA en el seguimiento es prácticamente nula, con un 0.1%/año⁶⁹. Los principales predictores de recurrencia de la FA son la duración de la misma y el tamaño

auricular izquierdo. Así los pacientes con FA de menos de 5 años tienen un 93% de RS a los 5 años frente a un 70% de los pacientes cuya FA preoperatorio era mayor de 20 años⁷⁰.

Una de las causas por las que prácticamente ningún grupo ha podido reproducir los espectaculares resultados del grupo de Cox posiblemente sea el que se trate de una serie muy seleccionada: durante un intervalo de tiempo algo mayor de 10 años se han valorado más de 3000 pacientes y la técnica sólo se ha aplicado a unos 300, son pacientes jóvenes, el 60% presentan FA paroxística y sólo el 40% presentan cardiopatía estructural. Además en general la mayoría de los grupos obtiene peores resultados en los pacientes con FA asociada a patología mitral (70-80% de RS) frente a los pacientes con FA aislada^{71,72}.

Los estudios de contracción auricular en el seguimiento realizados por el grupo de Cox han mostrado transporte auricular derecho en el 99% de los pacientes y transporte auricular izquierdo en el 93%⁶⁷. El resto de grupos, en los que la mayoría de los pacientes tienen algún procedimiento asociado, demuestran transporte biauricular en el 60-90% de los casos. Los principales predictores para la recuperación de la función auricular son el tamaño auricular, la duración de la FA y la función ventricular. Cuando el análisis es cuantitativo se encuentra que aunque la contracción auricular existe ésta es un 30-50% menor que en sujetos sanos (Figura 9).

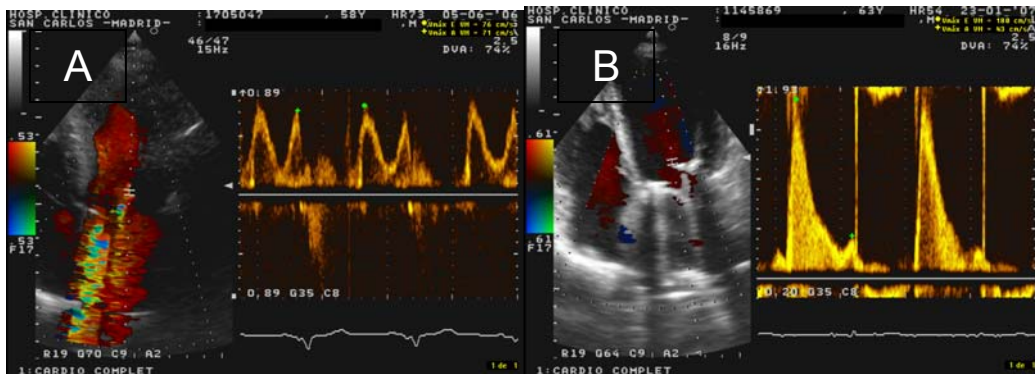


Figura 9. *Doppler* pulsado transmitral. Contracción auricular normal (A) y débil(B).

Esta contracción auricular más débil es consecuencia de que se aísla mecánicamente la pared auricular entre las venas pulmonares (supone aproximadamente un 30% de la pared auricular), las incisiones determinan una contracción discordante y a veces se seccionan arterias auriculares⁷³. Posiblemente la menor contractilidad auricular tras el *maze* juega su papel en la recurrencia de la FA en el seguimiento. El mantenimiento en el tiempo de una sobrecarga auricular (mayor tensión de la pared) como consecuencia de la menor contractilidad perpetúa los mecanismos de remodelado anatómico que facilitan la recidiva.

1.6.4 Impacto del tratamiento quirúrgico de la FA en el seguimiento.

Distintos estudios han demostrado el peor pronóstico a largo plazo de los pacientes sometidos a cirugía cardíaca en FA frente a los pacientes en RS. Tanto la supervivencia como la función ventricular izquierda y la incidencia de ACVA es significativamente mejor en los pacientes con RS postoperatorio⁷⁴⁻⁷⁷ (Fig. 10). Aunque un paciente en FA se mantenga correctamente anticoagulado la incidencia de ACVA es del 2-5% por año.

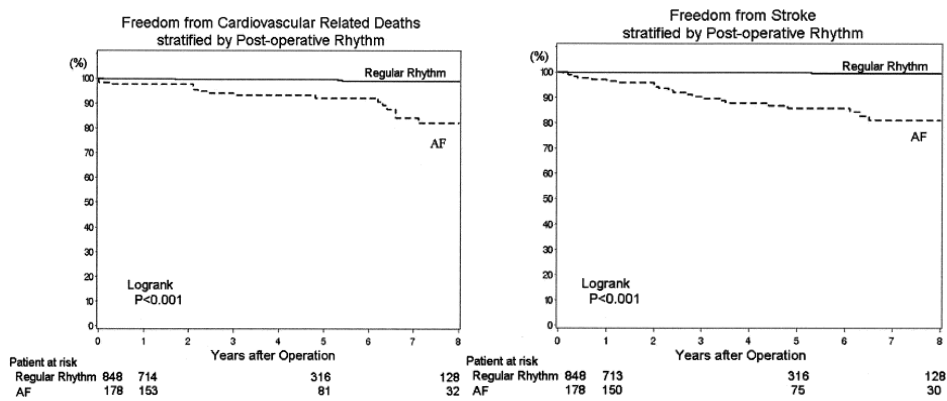


Figura 10. Mortalidad cardiovascular y ACVA en el seguimiento tras cirugía cardíaca en función de ritmo cardíaco (Bando et al⁷⁵).

Teóricamente el restablecimiento del RS tras la cirugía permitiría la recuperación del latido auricular, produciendo así la mejora del gasto cardíaco y la eliminación de la estasis sanguínea, teniendo como consecuencias a largo plazo mejor calidad de vida, mayor supervivencia y menor incidencia de ACVAs. Al revisar la evidencia científica disponible encontramos que no existen estudios aleatorizados que muestren dichos efectos beneficiosos a largo plazo. La mayoría de la información disponible se deriva fundamentalmente de estudios observacionales y de una sola institución. Está claro que los pacientes a los que se realiza cirugía de la FA tienen mayor incidencia de RS en el seguimiento y menor incidencia de ACVA, pero no existe información concluyente relativa al impacto de esta cirugía en la supervivencia. *Reston et al*⁷⁶ realizan un metanálisis que incluye 4 estudios aleatorizados (152 pacientes) y 6 retrospectivos controlados (905 pacientes), comparando cirugía mitral con cirugía mitral asociada a ablación de FA (*maze* clásico ó variantes). Por el sesgo potencial de los estudios retrospectivos, tanto la mortalidad como la incidencia de ACVA y de FA se analizaron utilizando sólo los estudios

aleatorizados. No hubo diferencias en la mortalidad en el seguimiento, presentando el grupo de ablación mayor incidencia de RS (80.7% vs 17.3%), menor incidencia de ACVA (0% vs 5.8%) y mayor necesidad de MP (3.9% vs 1.5%). Los pacientes con *maze* clásico presentaron mayor incidencia de reoperación por sangrado en el postoperatorio inmediato (4.3% vs 0%).

Bando et al, en Osaka, con su serie de 812 pacientes con cirugía mitral demuestran que el principal factor de riesgo para ACVA en el seguimiento a 5 años es la no realización del *maze*⁷⁷. El mecanismo por el que se consigue es doble: la recuperación de la contracción auricular y la ligadura o escisión de la orejuela izquierda. Este mismo grupo publica unos años después una serie de más de 1000 pacientes procedentes de 3 hospitales distintos con cirugía reparadora mitral (663 en RS y 363 en FA ó flutter)⁷⁵. Los pacientes que en el seguimiento continuaban en FA presentaron mayor incidencia de ACVA, mayor mortalidad cardiovascular y menor supervivencia. Los pacientes con FA preoperatoria a los que se asoció el *maze* presentaron menor incidencia de ACVA, mayor disminución del tamaño de la AI, menor diámetro telesistólico de VI y menor mortalidad cardiovascular a los 8 años, aunque esta última no alcanzó significación estadística. Cuando se analizan los pacientes en función del éxito de la ablación se observa que aquellos en los que el *maze* fue efectivo (RS a los 3 meses de la cirugía) la supervivencia es mayor y la incidencia de ACVA y mortalidad cardíaca son menores en el seguimiento a largo plazo⁷⁸.

1.7 Alternativas a la técnica de Cox- maze.

El *maze* es un procedimiento muy eficaz (cura más del 90% de las FA) pero técnicamente muy complejo que se ha extendido poco dentro de la comunidad cardioquirúrgica por lo que su repercusión sobre la enfermedad es muy pequeña. De su complejidad técnica se deriva una curva de aprendizaje que puede ser larga, un tiempo de isquemia y de bypass cardiopulmonar significativamente más prolongados y una morbilidad asociada mayor en manos poco expertas. Una técnica alternativa aunque igualmente compleja desde el punto de vista técnico es la denominada radial, desarrollada por *Takashi Nitta*⁷⁹. Basándose en los mismos principios que el *maze* realiza las incisiones desde el nodo sinusal al anillo aurículoventricular permitiendo una activación más fisiológica y respetando la irrigación auricular consiguiendo así una teórica mejor preservación de la contracción auricular.

El resurgimiento de la cirugía de la FA en los últimos años se debe fundamentalmente al desarrollo de dispositivos que utilizando distintas fuentes de energía permiten reproducir las lesiones del *maze* sin necesidad de realizar incisiones y suturas largas, a veces en zonas de acceso muy difícil. El objetivo final es encontrar una técnica quirúrgica más sencilla y con eficacia similar que permita su adopción por la mayoría de los grupos quirúrgicos.

1.7.1 El patrón de lesiones.

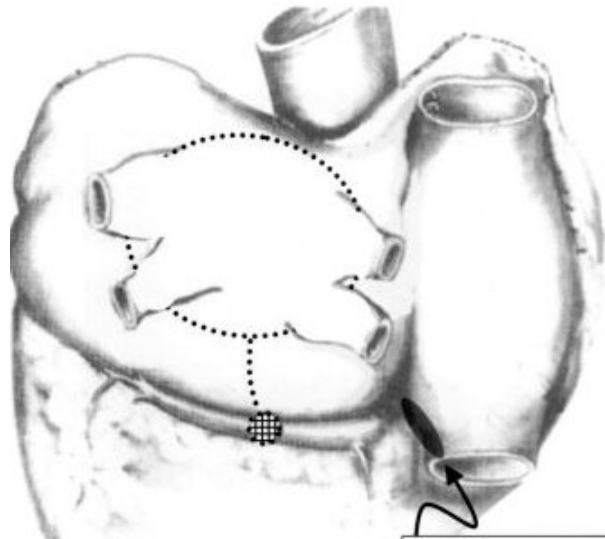


Figura 11. Vista posterior del corazón. Minimaze (aislamiento de venas pulmonares, conexión a la anillo mitral, ablación del seno coronario y ablación del istmo cavotricuspídeo) (Cox JL⁶⁷).

Aunque se han publicado múltiples patrones de lesiones, los que más se aproximan al *maze* son los que mejores resultados obtienen, independientemente del tipo de FA. Como norma general, a patrón de lesiones más extenso, mejor resultado⁸⁰⁻⁸¹. Aislado sólo las venas pulmonares podemos curar en torno al 80% de las FA paroxísticas y menos del 50% de las permanentes y persistentes. Podemos aceptar el aislamiento exclusivo de las venas pulmonares en aquellos casos con FA paroxística de corta duración, con AI no dilatada y que no es necesario o no queremos abrir la AI durante la cirugía. En el resto de pacientes el patrón de lesiones debe incluir al menos el aislamiento de las venas pulmonares (incluyendo la cara posterior de la AI), la conexión de estas con el anillo mitral y la ligadura/aislamiento de la orejuela izquierda (Fig.11).

El limitar el *maze* a la AI produce un aumento de la incidencia de *flutter* auricular derecho (hasta 10%, pero de manejo percutáneo sencillo) y parece que disminuye el éxito a largo plazo. En un metanálisis sobre 5885 pacientes *Barnett y Ad* comprueban que los pacientes con *maze* biauricular presentan a 3 meses y 3 años mayor libertad de FA que los pacientes con sólo lesiones en la aurícula izquierda (92% y 87% frente a 86% y 73%)⁸².

Si eliminamos la lesión de istmo izquierdo (porción de miocardio auricular comprendida entre las venas pulmonares y el anillo mitral, incluyendo el seno coronario) o bien realizamos esta u otras lesiones de manera incompleta aumenta la incidencia de *flutter* auricular izquierdo. Se trata de una arritmia mal tolerada y de manejo percutáneo complejo, que precisaría de abordaje transeptal muchas veces en presencia de una prótesis mitral. En una serie de 50 pacientes *Golovchiner et al* comunican que 6 pacientes (12.5%) presentaron en el seguimiento *flutter*, siendo 5 de ellos *flutter* atípico⁸³. En 5 pacientes se realizó estudio electrofisiológico (sólo registro auricular derecho), correspondiendo el patrón de activación en 4 de ellos a *flutter* izquierdo.

Algunos grupos discuten la necesidad de ligar/escindir la orejuela izquierda por su función endocrina y sobre todo por su contribución al latido auricular⁸⁴. Estudios fundamentalmente realizados en animales indican que su eliminación puede interferir con el mecanismo de la sed en situaciones de hipovolemia, disminuir la respuesta a las sobrecargas de volumen y de presión, disminuir el gasto cardiaco y aumentar la incidencia de insuficiencia cardiaca en el seguimiento. Los pacientes sometidos a *maze* tienen disminuidos los niveles de péptido natriurético atrial tanto en el postoperatorio inmediato como en el seguimiento. Aunque esto es cierto, no debemos olvidar que la principal

fuelle de émbolos en los pacientes en FA es la orejuela izquierda (sobre todo en los pacientes no reumáticos), de manera que aunque se fracasase en el mantenimiento del RS sí se consigue disminuir el riesgo de trombo embolismo en el seguimiento, por lo que la mayoría de los grupos son partidarios de su ligadura/escisión. Es importante señalar que la exclusión de la orejuela debe realizarse bien, pues la oclusión parcial aumenta su trombogenicidad y por lo tanto el riesgo embólico. El grupo de *Guillinov*⁸⁵ ha analizado con ETE 137 orejuelas excluidas durante la cirugía, observando que sólo en el 40% de los casos el procedimiento había sido efectivo. Casi el 80% de las orejuelas cerradas mediante sutura y el 100% de las ocluidas con dispositivos de sutura automática no estaban excluidas completamente. La técnica más eficaz fue la escisión quirúrgica, aunque en un 27% de los casos quedaba un remanente de orejuela mayor de 1cm de profundidad.

Otro aspecto que está cobrando importancia en los últimos años es el papel del sistema nervioso autónomo en la inducción/mantenimiento de la FA. El ligamento de *Marshall* es una estructura rica en fibras nerviosas⁸⁶ que corresponde a un resto embrionario de la vena cardinal común izquierda. Se localiza junto a la vena pulmonar superior izquierda, por encima de la orejuela. Consta de tejido fibroso, pequeños vasos, fibras nerviosas autonómicas y fibras musculares que conectan con el seno coronario y la pared de la aurícula izquierda. Durante la disección de las venas pulmonares se suele cortar dicho ligamento, y se diseña la grasa epicárdica, por lo que parte de la eficacia de la técnica podría venir derivada de la destrucción de tejido nervioso autónomo a dicho nivel.

1.7.2 Fuentes de energía alternativas a la incisión quirúrgica.

Se han estudiado distintas fuentes de energía con las que reproducir las lesiones del *maze* con el objeto de conseguir el bloqueo eléctrico de una manera más rápida y más segura que con las incisiones. Las más utilizadas han sido la radiofrecuencia, las microondas y el frío, existiendo menos experiencia con el láser y los ultrasonidos⁸⁷⁻⁹⁵. Las fuentes de energía que actúan por calor buscan como objetivo alcanzar al menos 50°C que es la temperatura a partir de la cual se produce el daño celular y el bloqueo eléctrico irreversible. No deberán alcanzarse los 100°C por el riesgo de producir perforación del tejido. Para producir el bloqueo eléctrico irreversible con el frío la temperatura deberá descender al menos hasta -55°C durante 2 minutos. Cualquiera que sea la fuente de energía utilizada los aspectos más importantes son: la transmuralidad y continuidad de la lesión (bloqueo efectivo del impulso eléctrico), la posibilidad de aplicación epicárdica (posibilidad de aplicación sin CEC), efecto rápido y directo (sin necesidad de disecar la grasa epicárdica), sin riesgo de lesiones colaterales y que sea aplicable en cualquier región anatómica del corazón. Recientemente se ha puesto en duda la necesidad de la transmuralidad como condición indispensable para el éxito de la técnica. Existen discrepancias entre los resultados electrofisiológicos e histológicos tanto en fase aguda como crónica, de manera que la eficacia de la técnica en algunos casos podría estar más mediada por la modificación del sustrato eléctrico y anatómico, la denervación, la sección del ligamento de *Marshall*...etc que por la transmuralidad de las lesiones.

La vía de aplicación endocárdica es más sencilla y probablemente la eficacia sea similar con las distintas fuentes. El corazón está parado y vacío, y la energía se aplica directamente. La vía epicárdica tiene 2 limitaciones: la grasa epicárdica y la sangre. La grasa epicárdica actúa como aislante y separa la fuente de energía del epicardio. Además la aplicación de la energía con el corazón latiendo hace que la sangre que circula por el interior del corazón amortigüe su efecto. Además existen algunas lesiones que difícilmente se pueden realizar desde el epicardio, como por ejemplo la conexión de las venas pulmonares con el anillo mitral.

La **radiofrecuencia** (RF) es una corriente alterna de unos 500 kHz establecida entre dos electrodos metálicos que produce necrosis por coagulación al calentar el tejido por encima de 50°C como consecuencia del calor liberado por la agitación iónica inducida. Los dos electrodos entre los que se establece la corriente son indiferentes, creándose la lesión térmica en los puntos donde se localiza la mayor densidad de corriente. Esto sucede en el tejido contiguo a los electrodos de pequeña área (<1 cm²), también llamados activos. En la RF unipolar uno de los electrodos es el activo, de pequeño tamaño, que se sitúa sobre la zona que se quiere lesionar, y el otro electrodo, de grandes dimensiones, es el dispersivo, y se sitúa generalmente en la espalda del paciente. El daño directo no alcanza una profundidad mayor de 1-2 mm (zona de mayor densidad de corriente), siendo el resto del daño consecuencia de la transmisión del calor al tejido adyacente. El grosor y composición de la pared auricular es muy variable, por lo que también lo serán sus propiedades eléctricas y por lo tanto la lesión inducida puede variar de un individuo a otro. La transmuralidad no está garantizada, sobre todo en la

aplicación epicárdica, al actuar la sangre circulante como refrigerante, y existe el riesgo de inducir lesiones colaterales. Los dispositivos irrigados disminuyen la impedancia y evitan el sobrecalentamiento del tejido contiguo al electrodo, consiguiendo mayor profundidad de la lesión con menos riesgo de lesiones a estructuras adyacentes. Los sistemas de RF bipolar (Fig. 12) funcionan a través de un sistema de clamp atraumático, donde los dos electrodos son del mismo tamaño y por lo tanto activos, liberando la energía entre las dos ramas del mismo, siendo el riesgo de lesiones asociadas mucho menor y estando la transmuralidad más garantizada. Son más rápidos y permiten el abordaje epicárdico y sin CEC. Algunos dispositivos son capaces de monitorizar la transmuralidad de la lesión a través de la medición de la impedancia durante la ablación. Su principal problema es que no permiten hacer todas las lesiones, como por ejemplo la de istmo izquierdo, de manera que obliga a combinarlo con otro tipo de energía ó a no hacerlas.

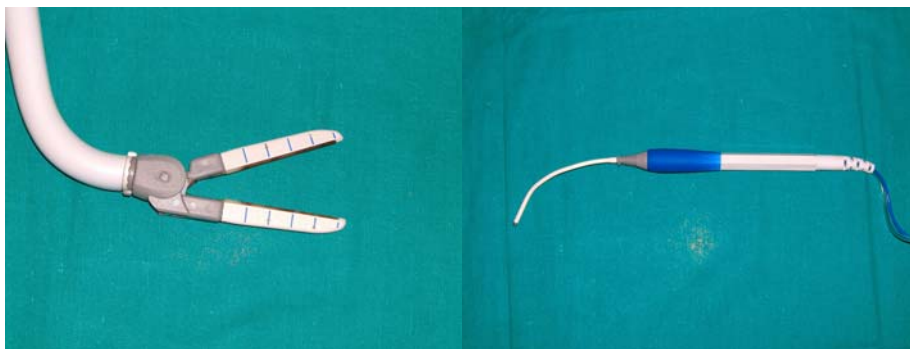


Figura 12. Dispositivos de ablación con radiofrecuencia irrigada bipolar y monopolar.

La **crioablación** induce la muerte celular a través del enfriamiento rápido del tejido mediante un catéter que libera freón, CO₂, nitrógeno ó argón comprimido. El agente es almacenado a muy alta presión y al liberarse por el

aplicador y disminuir la presión y pasa a fase gaseosa, proceso fuertemente endotérmico que extrae calor del tejido contiguo. La muerte celular sucede a los 50-60°C bajo cero, con la ventaja de que se preserva mejor la arquitectura tisular que con los sistemas de calor. Es más lento que los sistemas de RF y es muy difícil producir lesiones transmurales con la aplicación epicárdica. Como la lesión no es irreversible hasta los -50°C, permite comprobar el efecto electrofisiológico antes de crear una lesión definitiva. El desarrollo de sistemas tipo clamp posiblemente mejore su eficacia.

Las **microondas** son radiaciones electromagnéticas de alta frecuencia que actúan a través del calentamiento consecuencia de la oscilación inducida en las moléculas de agua de los tejidos. Crea lesiones más profundas que la RF, sin sobrecalentamiento y sin carbonización del endocardio, por lo que teóricamente el riesgo cardioembólico es menor. Las lesiones son transmurales sobre todo en la aplicación endocárdica, y la interferencia con la grasa en la aplicación epicárdica aunque existe es menor que con la RF.

El **láser** produce las lesiones por el calentamiento consecuencia de la inducción de oscilación armónica en las moléculas de agua. La longitud de onda utilizada se sitúa en el espectro del infrarrojo, que penetra de manera eficaz en el tejido cardíaco y produce ablación directa de hasta 4 mm de profundidad. En los estudios iniciales parece que la interferencia con la grasa epicárdica es escasa. Aunque se trata de la energía más direccional, el daño esofágico es posible.

Los **ultrasonidos** actúan a través del calentamiento consecuencia de la energía mecánica. Se aplican de manera que la energía se concentra en un

pequeño espacio, produciendo lesiones transmurales desde el epicardio sin interferir con la grasa y en pocos segundos.

Un aspecto importante a considerar es el riesgo de lesiones colaterales con las distintas fuentes de energía. La principal lesión colateral en el corazón es la lesión de una arteria coronaria. Salvo los ultrasonidos, el resto de energías pueden producirla, aunque el conocimiento preoperatorio de la anatomía coronaria nos permite modificar el patrón de lesiones de manera que ninguna lesión pase sobre una arteria importante⁹⁶. Otro problema es el riesgo de daño a estructuras vecinas, como el esófago, que pasa a escasos milímetros de la pared posterior de la AI. Son varios los casos publicados de perforación esofágica, cuya mortalidad es de al menos el 25%⁹⁷. La clínica suele tardar varios días en aparecer tras un posoperatorio inicialmente normal. Suele consistir en un cuadro séptico, con odinofagia y dolor torácico y a veces ACVA por embolismo aéreo. Aunque los casos publicados correspondían a ablaciones con radiofrecuencia monopolar, el resto de energías no están exentas del riesgo. *Aupperle et al* en un estudio experimental realizado en ovejas de compararon la afectación esofágica con RF monopolar, RF bipolar, crioblación, microondas y láser⁹⁸. Con todas las fuentes de energía hubo mayor ó menor grado de afectación esofágica, aunque las lesiones de gravedad (destrucción de la capa muscular con necrosis de miocitos) aparecieron en la RF monopolar endocárdica (3 de 6 ovejas), en las microondas aplicadas epicárdicamente (1 de 3 ovejas) y en las crioblación endocárdica (1 de 6 ovejas). Las fuentes de energía más seguras fueron la RF bipolar y las microondas aplicadas endocárdicamente, aunque en ellas también hubo afectación esofágica, aunque leve.

El uso de estereotomía media, *bypass* cardiopulmonar y clampaje aórtico se considera en general con un medio muy invasivo para tratar la fibrilación auricular aislada. Disponemos de sistemas (fundamentalmente microondas) que permiten hacer la técnica a través de toracoscopia, sin CEC, y con alta hospitalaria en 24-48h, aunque por ahora sólo es posible hacer el aislamiento de las venas pulmonares, por lo que su aplicación estaría reservada para la FA paroxística. En aquellos pacientes con FA asociada a cardiopatía estructural (fundamentalmente mitral) se está realizando también la ablación por métodos mininvasivos, combinando técnicas tipo *port-access* y robótica. La experiencia con estas técnicas todavía es escasa pero no hay duda que es un campo que crecerá de manera importante en los próximos años⁹⁹⁻¹⁰¹.

1.7.3 Los resultados.

Existe una gran cantidad de publicaciones en los últimos años sobre distintas alternativas al *maze* clásico, aunque pocas superan el centenar de pacientes y el año de seguimiento¹⁰²⁻¹⁰⁸. Además existe una gran heterogeneidad no sólo en cuanto a la fuente de energía y parámetros utilizados, sino también en cuanto al patrón de lesiones realizado. Otra causa que hace difícil la comparación es que no existen criterios bien definidos y universalmente aceptados en cuanto a por ejemplo qué se considera fracaso de la técnica o simplemente cómo se define el ritmo del paciente. En la mayoría de los casos se hace con un ECG aislado o incluso mediante contacto telefónico cuando lo apropiado debería ser el *Holter* de 24h ó incluso de 7 días,

señalando la carga de FA. A pesar de esa enorme heterogeneidad el porcentaje de pacientes en RS al año de seguimiento se sitúa en torno al 70-80%, siendo los principales factores de riesgo para el fracaso de la técnica el tamaño de la aurícula izquierda, la duración de la FA y la etiología reumática.

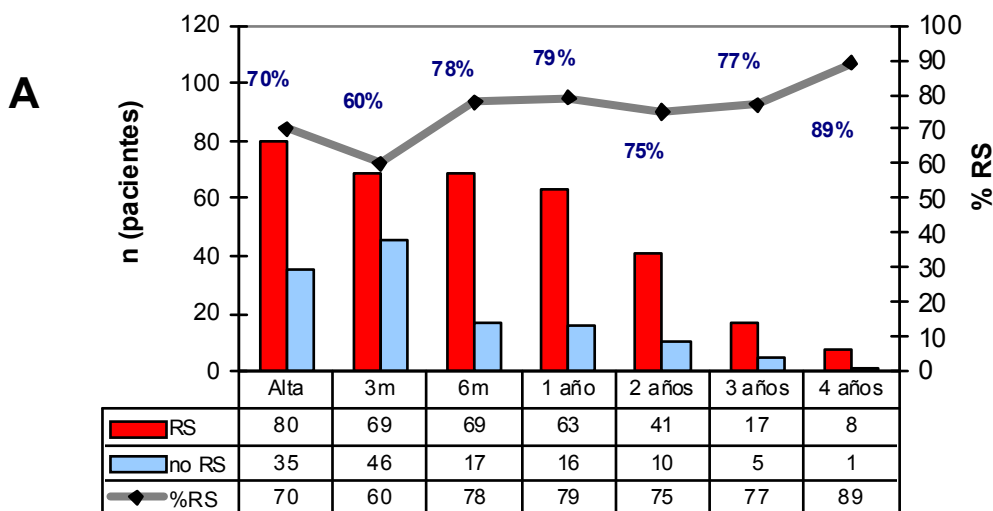
También empieza a estar claro que el analizar los datos durante los 6 primeros meses es poco significativo pues es precisamente a partir de ese momento cuando el ritmo se estabiliza y la aurícula cicatriza de manera que los 6 meses deberían ser realmente el punto cero del seguimiento. Los datos sobre el ritmo debería acompañarse del análisis de la función biauricular, del porcentaje de pacientes que precisan fármacos antiarrítmicos y de algún método de análisis de la calidad de vida y capacidad funcional.

Khargi et al revisan los trabajos más importantes sobre tratamiento quirúrgico de la FA publicados desde 1995¹⁰⁹. Reúnen 48 estudios que incluyen 3832 pacientes, 2279 pertenecen al grupo de fuentes de energía alternativas (RF, microondas y crioablación) y 1553 al grupo del *maze* clásico. Ningún estudio era aleatorizado y no había grupos control. En el seguimiento el 85% de los paciente con *maze* clásico y el 78% de los pacientes tratados con técnicas alternativas estaban en RS. Los pacientes a los que se hizo *maze* clásico eran pacientes más jóvenes y con más frecuencia presentaban FA paroxística (23% vs 8%) ó aislada (19% vs 1.6%). Una vez corregidas estas variables no había diferencias significativas entre ambas técnicas. Tampoco había diferencias en cuanto a mortalidad hospitalaria (4.2% vs 2.1%) ni morbilidad. El grupo del Barnes-Jewish Hospital, donde James Cox realizó la primera intervención del *maze*, ha estudiado su experiencia desde 1992 comparando la técnica clásica con la ablación biauricular con RF bipolar¹¹⁰.

Sobre 242 pacientes, utilizando análisis mediante escore de propensión, obtienen 58 pacientes de cada técnica ajustados para 7 variables: edad, sexo, función ventricular, NYHA, tipo de FA y tipo de cirugía (FA aislada, coronaria, valvular). No hubo diferencias en la morbimortalidad ni en la incidencia de RS al año de seguimiento.

1.8 Situación actual del tratamiento quirúrgico de la fibrilación auricular. Perspectivas futuras.

La aparición de dispositivos que permiten realizar las lesiones del *maze* de una manera rápida y segura sin necesidad de hacer incisiones ha producido un crecimiento muy importante de la cirugía de la FA, antes reservada para centros con mucha experiencia. Con un aumento del tiempo de cirugía de 20-30 minutos podemos tratar la FA asociada a cardiopatía estructural consiguiendo el RS en el 70-80% de los pacientes (en torno al 90% en la FA paroxística) sin aumentar la morbimortalidad (Fig. 13). Probablemente con el desarrollo de los dispositivos que permita asegurar la transmuralidad de las lesiones, la definición de los patrones de lesiones adecuados y la indicación más precoz de la cirugía podremos mejorar más aún los resultados.



B

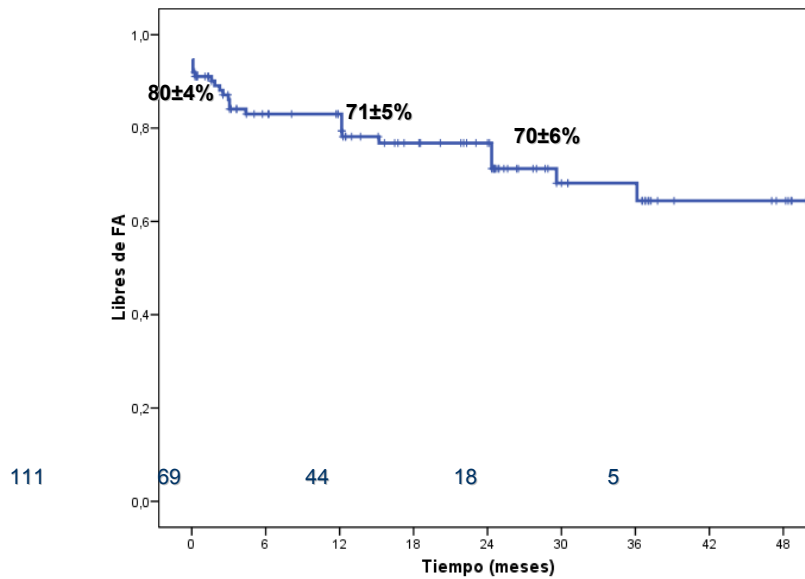


Figura 13. Resultados del tratamiento de la FA en el Hospital Clínico San Carlos. A) ritmo al seguimiento, B) curva actuarial.

La cirugía de la FA se ha convertido en los últimos años en una de las áreas de mayor interés dentro de la cirugía cardiaca. Aunque cada vez tenemos más información, y los progresos son muy rápidos, son muchas las preguntas que aún quedan por responder:

- ¿Cuál es el patrón de lesiones más idóneo? ¿Se adaptará según el tipo de paciente ó el mecanismo de la FA?
- ¿Debe la transmuralidad ser un objetivo?
- ¿Cuál es la fuente de energía más apropiada?
- ¿Cuál es el papel del sistema nervioso autónomo? ¿Cómo podemos actuar sobre él?
- ¿Cómo definimos el éxito ó fracaso de la técnica?

- ¿Cuáles son los beneficios reales a largo plazo en cuanto a reducción de la mortalidad, morbilidad, gasto sanitario y mejora de la calidad de vida? ¿Justifican su extensión a todos los pacientes en FA?

1.9 Guías clínicas para el tratamiento quirúrgico de la FA.

Distintas sociedades científicas y algún organismo público ha publicado guías clínicas para el manejo de la FA, incluyendo en todas un apartado dedicado al tratamiento invasivo, tanto percutáneo como quirúrgico.

Las guías de la ACC/AHA/ESC⁹ recomiendan la ablación percutánea con catéter como tratamiento de segunda línea tras los fármacos en los pacientes con FA recurrente sintomática, y aurícula izquierda normal o levemente dilatada (recomendación IIa, con nivel de evidencia C). Con respecto a la cirugía considera que son pocos los pacientes subsidiarios con FA aislada, mientras que aconsejan la ablación quirúrgica en todos los pacientes con cardiopatía asociada, siempre ligando o escindiendo la orejuela izquierda. No definen de manera concreta ningún tipo de recomendación ni nivel de evidencia al respecto.

Las principales sociedades europeas y americanas de arritmología publican en 2007 una declaración de expertos sobre la ablación con catéter y quirúrgica de la FA⁶. Participan en su elaboración varios cirujanos que redactan las recomendaciones relativas a la cirugía. Indican la ablación de la FA en todo paciente sometido a cirugía cardíaca si el riesgo de asociar el procedimiento es bajo, las posibilidades de éxito son razonables y la cirugía la realiza un cirujano

con experiencia. Se aconseja asociar al aislamiento de las venas pulmonares la conexión con el anillo mitral, ablación biauricular en FA de larga evolución y la ligadura/escisión de la orejuela izquierda en todos los pacientes si no implica riesgo asociado. En caso de la FA aislada, se considerará la cirugía en el caso de pacientes sintomáticos que prefieren el abordaje quirúrgico, tienen uno o más intentos fallidos de ablación con catéter o no son candidatos para la misma.

En Gran Bretaña, el *National Collaborating Centre for Chronic Conditions* (NCC-CC) a través del *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE)⁵ publica en 2006 las guías clínicas para el manejo de la FA. Tras una revisión exhaustiva de la evidencia disponible, incluyendo estudios de coste-efectividad, aconseja el tratamiento quirúrgico en los casos de pacientes con FA que requieren cirugía cardiaca por patología concomitante y en aquellos pacientes con FA aislada en los que los fármacos y la ablación con catéter han sido ineficaces. Las indicaciones se gradúan como A,B,C ó D, siendo la indicación para todos los tratamientos invasivos de manera conjunta como tipo B (A significa evidencia basada en estudios aleatorizados, meta-análisis ó revisiones sistemáticas de calidad, B evidencia derivada fundamentalmente de estudios de casos y controles o de cohortes, C evidencia derivada de estudios no analíticos y D significa recomendación basada exclusivamente en la opinión de expertos).

La gran variabilidad a la hora recoger y presentar los resultados de las distintas técnicas de ablación motivó que la *Society of Thoracic Surgeons* (STS) publicara en 2007 un documento de consenso con los estándares y guías para comunicar los resultados del tratamiento quirúrgico de la FA¹¹¹. La

aplicación de estas guías de forma generalizada permitiría comparar de manera más fiable los resultados y así poder mejorarlos.

1.10 Proteómica.

1.10.1 Concepto

La proteómica es uno de los métodos de separación proteica más potentes y útiles que existen hoy en día. Es una tecnología relativamente reciente, que comenzó a usarse a finales de los años 70 únicamente como herramienta analítica para la separación y caracterización proteica^{112,113}. El término proteómica fue acuñado en 1995 para describir la caracterización del conjunto de todas las proteínas presentes en una célula, fluido o tejido en un momento dado^{114,115}. Comenzó a ser popular a finales de los años 80, con la aparición de las membranas PVDF¹¹⁶ y la creación de la primera base de datos para geles bidimensionales. Posteriormente, con la aparición y mejora de diversos métodos de preparación y extracción proteica de la muestra, así como de las distintas herramientas de secuenciación (método de secuenciación EDMAN¹¹⁷), comenzó a tener una mayor importancia como método preparativo y de análisis de las proteínas. Fue sufriendo un progresivo auge durante los años 90 coincidiendo con el desarrollo de la espectrometría de masas, técnica de apoyo fundamental.

La proteómica permite realizar el análisis del conjunto de todas las proteínas presentes en una única muestra (célula, tejido, órgano o fluido y en definitiva cualquier muestra que contenga proteínas) en un momento dado; pero

no sólo aquellas proteínas procedentes de la expresión génica, sino también de todas aquellas proteínas generadas por las distintas modificaciones post-trasduccionales (Fig. 14).

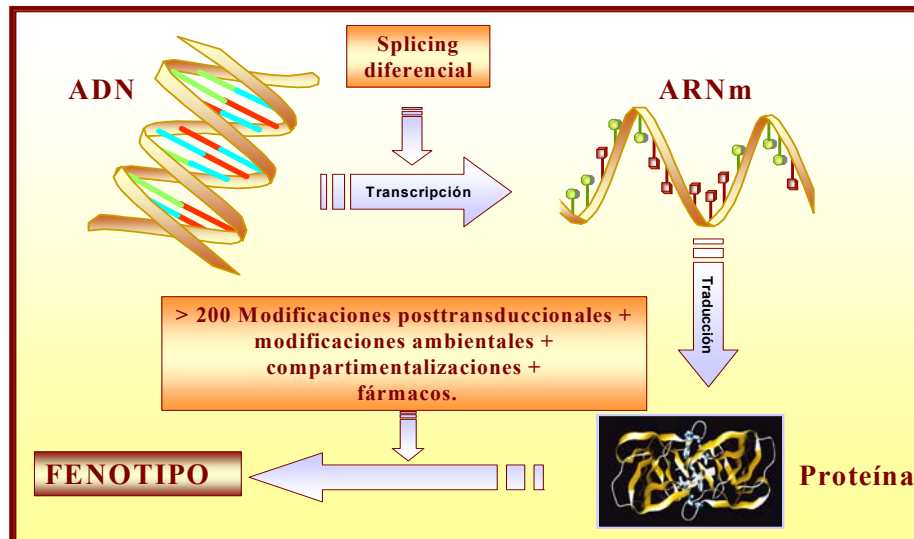


Figura 14. Modificaciones durante la expresión proteica.

El genoma humano contiene alrededor de unos 30.000-40.000 genes, de los cuales 10.000 pueden expresarse en una célula¹¹⁸. Es importante eliminar la idea de que un gen origina una única proteína. Un gen es capaz de originar múltiples productos proteicos^{119,120} debido a la gran variedad de modificaciones y procesos a los que puede verse sometido, como el *splicing* alternativo, modificaciones post-traduccionales y los efectos del medio ambiente que rodea a la célula (fármacos, variaciones en las condiciones ambientales como la temperatura, pH, etc..), condicionando lo que conocemos como fenotipo (Fig. 15). Mientras el genoma es algo *estático*, el proteoma es *dinámico* y cambiante. La aparición de nuevas herramientas informáticas que permitan la integración

genómica-proteómica podrá ayudar a entender mejor los mecanismos implicados en la aparición y desarrollo de una enfermedad.

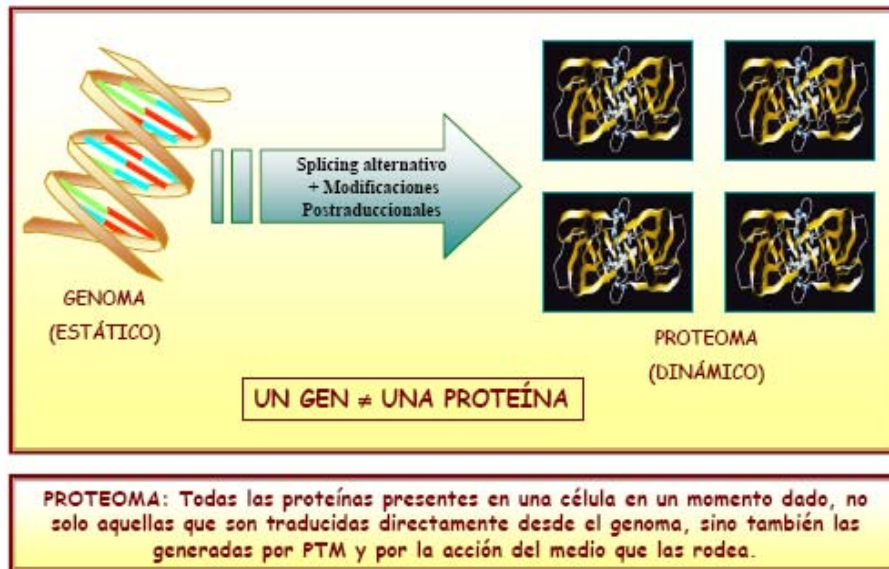


Figura 15. Síntesis y modificaciones post-traduccionales de las proteínas.

La proteómica combina electroforesis bidimensional, análisis de imagen, espectrometría de masas y bioinformática. El análisis es tanto cualitativo como cuantitativo, y además detecta variaciones en la expresión ante distintas situaciones como por ejemplo el tratamiento con algún fármaco, o compara entre una situación normal frente a una patológica (Fig. 16). También permite detectar la existencia de distintas isoformas de una proteína, y analizar las posibles variaciones en su expresión.

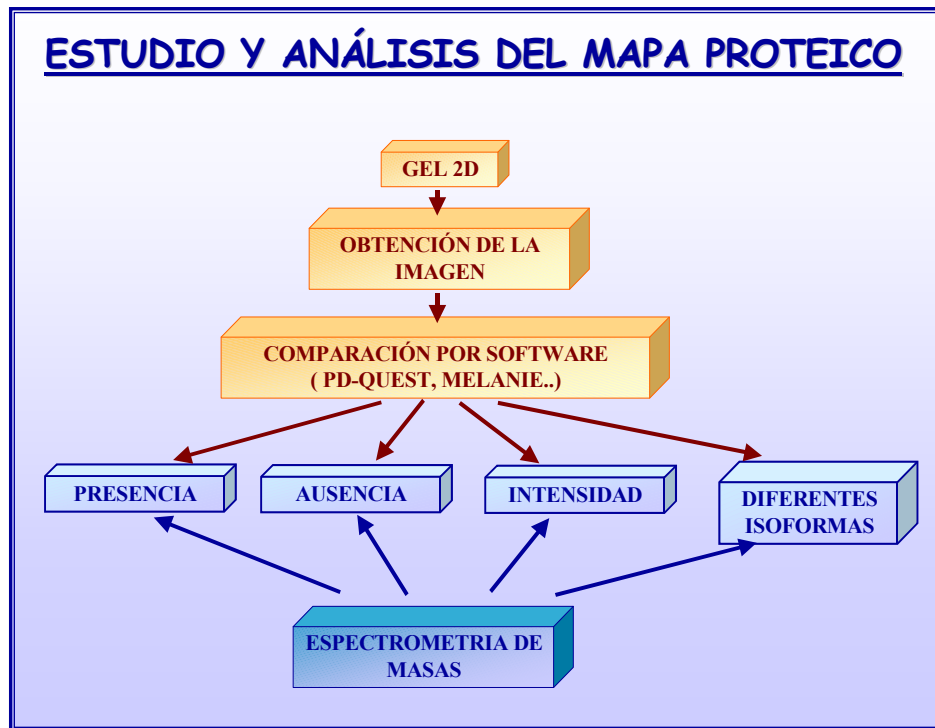


Figura 16. Esquema del análisis proteómico.

1.10.2 Tipos de proteómica

Atendiendo a su objetivo final existen 3 tipos de proteómica: proteómica de expresión, proteómica estructural y proteómica funcional.

La **proteómica de expresión** analiza la variación en la expresión proteica ante distintos estímulos (estudios cuantitativos de la expresión proteica) Se centra fundamentalmente en la identificación de nuevos biomarcadores y realiza estudios para la validación de nuevos fármacos...etc.. La **proteómica estructural** estudia las interacciones entre proteínas intentando averiguar la estructura de los distintos complejos proteicos¹²¹, llegando a crear diversos mapas de vías de señalización que ayuden a entender mejor los mecanismos celulares. Por último, **la proteómica funcional** estudia los mecanismos de compartimentalización y translocación proteicos para intentar averiguar las

distintas localizaciones subcelulares de las proteínas para entender mejor su función y así conocer cómo poder actuar frente a ellas.

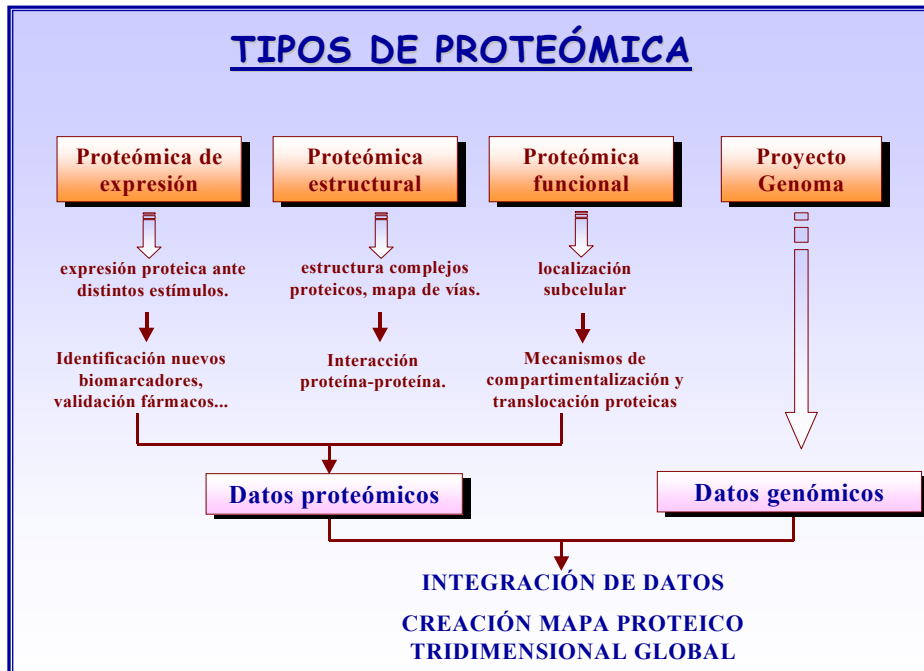


Figura 17. Tipos de proteómica.

El objetivo final de cualquier estudio proteómico va más allá del simple catalogado de las proteínas expresadas en un tipo celular en una situación normal frente a una patológica (Fig.17). Intenta llegar a comprender mejor los mecanismos metabólicos y vías de señalización y regulación implicados en la biología celular que puedan ayudar a entender los mecanismos por los que se desarrolla cualquier enfermedad y predecir en cierto modo cómo su función puede variar por la utilización tanto de fármacos como de manipulaciones genéticas. Permite la identificación de proteínas específicas implicadas en una determinada patología, detección de marcadores de eficacia tras el tratamiento con un determinado fármaco, detección de marcadores de toxicidad así como interpretar mejor los mecanismos de regulación implicados en la biología

celular. Intenta crear un completo mapa tridimensional celular indicando la localización de cada proteína, los procesos y cambios a los que estas se pueden ver sometidas bajo determinadas circunstancias (translocaciones, procesos de proteólisis, fosforilaciones, uniones entre distintas proteínas.....) y que ayuden a comprender mejor los mecanismos moleculares implicados en cualquier proceso fisiológico ó patológico.

1.10.3 Fundamentos de la imagen.

La electroforesis bidimensional permite la separación de las proteínas en dos dimensiones en función de dos de sus características más representativas, el peso molecular (tamaño) y punto isoeléctrico (pH en el cual la carga neta de la proteína es cero). Basándonos en estas dos características *únicas* y *exclusivas* de cada proteína vamos a poder definir un *mapa de expresión proteico* en el que cada proteína va a poder ser identificada según una coordenada de peso molecular y punto isoeléctrico¹²².

La primera dimensión se realiza sobre tiras de gel de poliacrilamida con un gradiente de pH inmovilizado que garantiza la reproducibilidad entre geles. Estos geles se denominan tiras IPG (Isoelectric Phocusing Gradient) y existen en distintos rangos de pH que facilita el estudio puesto que puede ayudar a focalizar y conseguir una mejor resolución de la separación proteica¹²². En la primera dimensión se aplica una corriente eléctrica que permite que las proteínas presentes en el extracto migren a lo largo de la tira IPG y se distribuyan por toda su longitud hasta alcanzar su punto isoeléctrico, es decir, el punto donde su carga neta sea cero, y en ese momento se detienen. La

segunda dimensión se realiza sobre geles SDS-PAGE mediante un proceso de electroforesis normal logrando la separación de las proteínas según su peso molecular (Fig. 18).

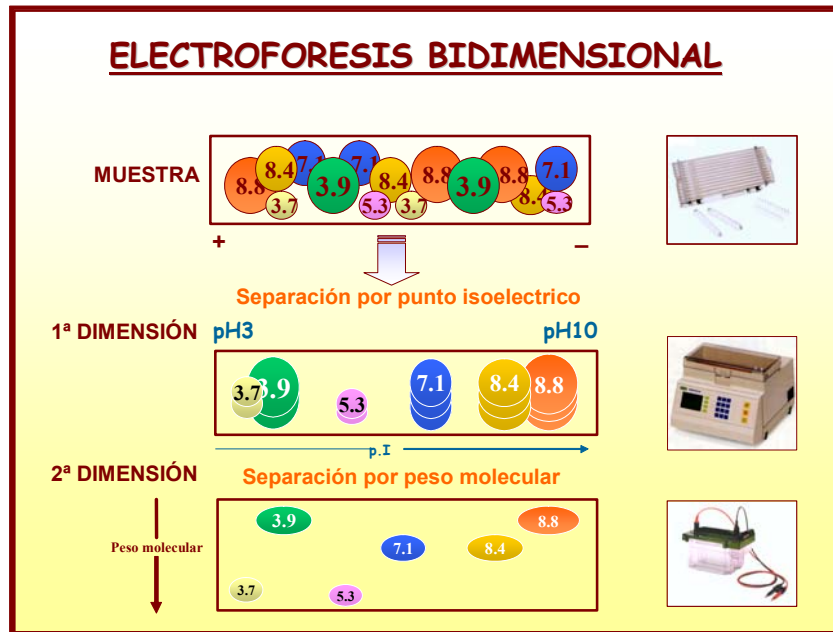


Figura 18. Pasos en la electroforesis bidimensional.

Así podemos detectar proteínas que hayan sufrido algún tipo de modificación post-traducciona ya que esta modificación suele conferirle un cambio tanto de carga como de peso molecular, que va a poder ser reflejado en el mapa proteico puesto que la proteína aparecerá en una localización distinta a la normal.

Una vez realizada la segunda dimensión las proteínas presentes en el gel deben ser visualizadas para poder realizar su valoración. Existen distintos tipos de tinción del gel que fundamentalmente se diferencian según la sensibilidad a la hora de detectar proteínas. Destacan la tinción con *Azul Coomassie*, tinción radiactiva, tinción fluorescente y la tinción con plata, que es la más empleada. Se trata de una de las tinciones más sensibles, perdura a lo largo del tiempo, y

se obtiene una muy buena calidad de la imagen. Además, este tipo de tinción puede ser compatible con estudios por espectrometría de masas¹²³.

1.10.4 Análisis de imagen.

Una vez obtenido el gel bidimensional o mapa de expresión proteico el siguiente paso es el análisis de la imagen. Hoy en día existen diversas herramientas informáticas (PD-QUEST, MELANIE etc.) que facilitan mucho el análisis. Además permite la comparación visual con mapas proteómicos existentes en bases de datos disponibles en la red, siendo la base de datos suiza SWISS-PROT (<http://www.expasy.ch>) una de las base de datos más conocida y empleada (Fig. 19).

También existen herramientas informáticas que permiten analizar cuantitativamente las variaciones de expresión de las distintas proteínas presentes en los mapas de expresión, como el QUANTITY-ONE (*Bio-Rad Laboratories*).

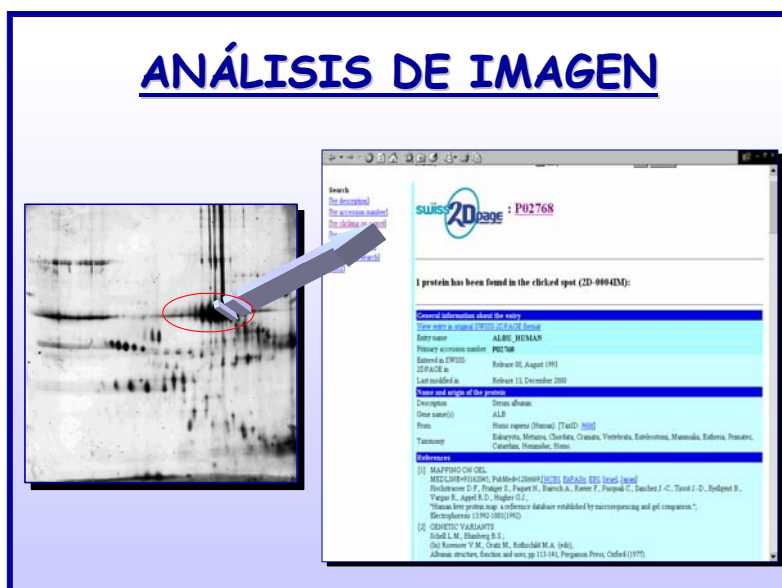


Figura 19. Comparación con bases de datos.

1.10.5 Espectrometría de masas.

Uno de los desarrollos más importantes en la identificación proteica ha sido la aparición y evolución de las técnicas de espectrometría de masas¹²³. Desde la década pasada, su sensibilidad y eficacia ha aumentado de manera que hoy en día se pueden detectar proteínas en geles bidimensionales en el rango femtomolar. Es muy sensible, permite o tolera el análisis de mezclas proteicas y permite también la realización de múltiples análisis, por lo que poco a poco ha reemplazado a la secuenciación por el método de EDMAN, convirtiéndose en la técnica de elección.

La espectrometría de masas proporciona información sobre la estructura proteica ya que da información sobre la masa peptídica y la secuencia de aminoácidos. Esta información puede ser utilizada para identificar proteínas mediante búsquedas en las bases de datos que existen hoy en día tanto de nucleótidos como de proteínas. Esto nos permite determinar el tipo y localización de modificación proteica que haya sufrido la proteína.

Se somete a la proteína a una digestión enzimática, normalmente con tripsina, que es capaz de romperla en puntos o localizaciones específicas, obteniéndose una serie de fragmentos peptídicos específicos cuya masa nos va a permitir identificarla mediante la comparación con las bases de datos peptídicas. Los fragmentos peptídicos obtenidos son ionizados tras el tratamiento con un láser que confiere carga y una vez conferida la carga son separados en el espectro según su ratio masa/carga y posteriormente son analizados por un detector, que es capaz de medir la intensidad de cada fragmento (Fig. 20).

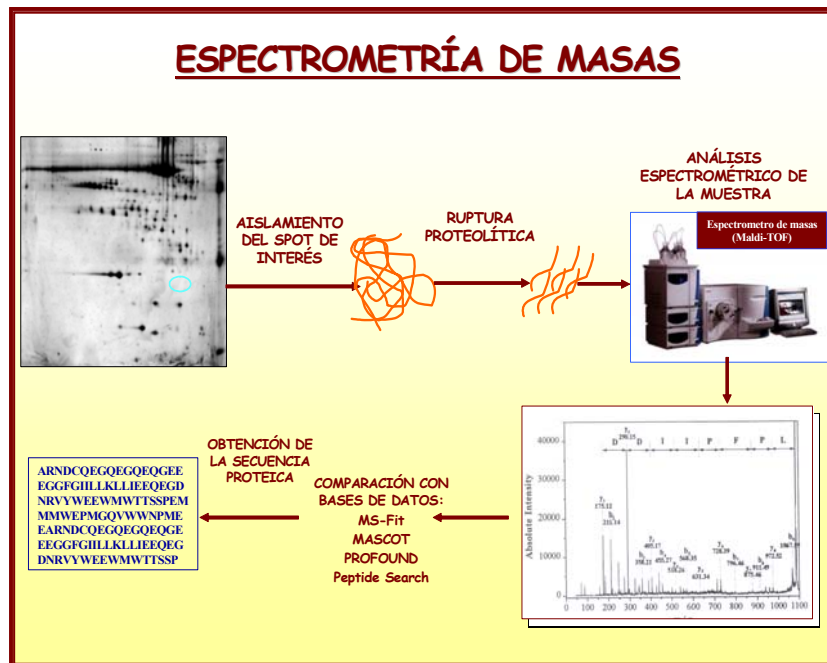


Figura 20. Identificación de proteínas por espectrometría de masas.

1.10.6 Objetivos futuros de la proteómica.

- Definir componentes críticos de las señales de transducción, contribuyendo al desarrollo de agentes terapéuticos más efectivos.
- Determinar mecanismos patológicos e identificar nuevos marcadores diagnósticos, de evolución y nuevas dianas terapéuticas.
- Predecir la respuesta de los pacientes a fármacos (farmacoproteómica).

1.10.7 Proteómica y enfermedad cardiovascular.

La mayor parte de los estudios proteómicos realizados hasta ahora se han centrado fundamentalmente en el estudio de patologías como el cáncer o enfermedades autoinmunes. En el área cardiovascular la proteómica está

comenzando, siendo la mayor parte estudios meramente descriptivos. Han comenzado a publicarse intentos de profundizar en los mecanismos celulares y moleculares asociados con diversos estados patológicos, como por ejemplo la hipertrofia inducida por fenilefrina¹²⁴ o la exposición a plomo¹²⁵. También se han empezado a analizar los cambios en determinadas vías de señalización celular como la respuesta al factor de crecimiento derivado de plaquetas¹²⁶.

El primer estudio proteómico de la fibrilación auricular ha sido publicado en 2008, centrándose fundamentalmente en los cambios metabólicos presentes en los miocitos auriculares de pacientes con FA persistente¹²⁷. Tomaron muestras de orejuelas derechas de 3 tipos de pacientes: en RS, con FA permanente y en RS que desarrollaron FA en el postoperatorio inmediato. El análisis proteómico sólo es una pequeña parte del estudio, realizándose además espectroscopia por resonancia magnética de alta resolución para el estudio de cambios metabólicos, Western blotting y determinación de niveles de distintas citoquinas (proteína C reactiva, interleucina 6 y TNF α). Los pacientes con FA permanente presentaron alteraciones en proteínas estructurales (fundamentalmente fragmentación de la actina, tubulina y desmina), depleción de la peroxiredoxina 1 (proteína antioxidante), disminución del precursor del ANP (péptido natriurético atrial) y sobre todo cambios en las proteínas relacionadas con el metabolismo. Así encontraron aumento de la expresión de varias enzimas relacionadas con la glicolisis (triosa fosfato isomerasa y gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa), de la cetoacetil-CoA-transferasa (enzima participante en la utilización extrahepática de cuerpos cetónicos) y de los complejos I y III de la cadena respiratoria (NADH deshidrogenasa y Ubiquinol citocromo C reductasa).

En pocos años el conocimiento en esta área va a aumentar de forma considerable y probablemente va a permitir la integración de los datos proteómicos y genómicos con los datos funcionales obtenidos previamente de estudios bioquímicos y fisiológicos, ayudando a una mejor comprensión de la enfermedad cardiovascular¹²⁸. Además, el continuo desarrollo tecnológico y la introducción de nuevos abordajes están permitiendo el rápido desarrollo de la proteómica.

La proteómica tiene o tendrá el potencial de revolucionar el modo de diagnosticar, determinar el riesgo y el pronóstico clínico así como las estrategias terapéuticas a seguir entre individuos con enfermedad cardiovascular. Nos ofrece la posibilidad de comprender en toda su complejidad la función del sistema cardiovascular, brindando la posibilidad de encontrar nuevas vías de actuación para corregir un estado patológico.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2.1 Hipótesis.

Todavía no se conocen los mecanismos íntimos de la FA. La identificación por proteómica de los cambios en la expresión de las diferentes isoformas proteicas podría ayudarnos a conocer dichos mecanismos.

2.2 Objetivos.

1. Determinar la posibilidad de realizar un análisis proteómico de las muestras de orejuelas obtenidas durante cirugía cardiaca.
2. Determinar si existen diferencias en el proteoma de la orejuela derecha e izquierda en pacientes en RS.
3. Determinar si existen diferencias en el proteoma de la orejuela derecha e izquierda en pacientes en FA.
4. Determinar si existen diferencias en el proteoma tanto de la orejuela derecha como izquierda en función de que el paciente esté en FA o en RS.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 Pacientes.

El estudio se realizó en pacientes intervenidos en el Servicio de Cirugía Cardíaca perteneciente al Instituto Cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos de Madrid entre Febrero de 2006 y Octubre de 2007. Se incluyeron de forma aleatoria pacientes que iban a ser intervenidos por patología mitral como indicación principal. Este estudio fue aprobado por la Comisión de Ensayos Clínicos del Hospital Clínico San Carlos. Los pacientes firmaron el consentimiento informado que autorizaba la toma de muestras de ambas orejuelas (Ver anexo I). Fueron excluidos aquellos pacientes que iban a ser intervenidos con carácter urgente, menores de edad y aquellos que se negaron a firmar el consentimiento informado.

Los datos preoperatorios, intraoperatorios y postoperatorios fueron registrados de forma prospectiva en la hoja de recogida de datos (Ver anexo II).

3.2 Técnica quirúrgica.

Todos los pacientes son intervenidos bajo anestesia general y a través de estereotomía media. Tras la heparinización (3 mgrs/kgr) y antes de iniciar el bypass cardiopulmonar se toma la muestra de las orejuelas, que inmediatamente se transfieren en seco a la Unidad de Investigación Cardiovascular para su procesamiento.

3.3 Técnica de análisis proteómico.

El análisis proteico se realizó en el laboratorio de la Unidad de Investigación Cardiovascular perteneciente al Instituto Cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos. Dicho análisis se realizó según la técnica de electroforesis 2D en tiras de poliacrilamida (geles IPG) para la movilización en función del pH. La segunda dimensión para la separación de proteínas se realizó en función de su peso molecular sobre geles SDS-PAGE. Dichos geles fueron teñidos posteriormente con plata según la técnica descrita anteriormente.

Para realizar la electroforesis en gel, 500 µg de tejido se diluyen en una solución *buffer* compuesta por 8mol/l de uréa, 2% CHAPS, 40 mmol de diotritol, 0,2% de *Biolite amfolite* (*Bio-Rad Labs, Hércules, California*) y 0,01% de azul de bromofenol. Las muestras son cargadas en geles por gradiente de pH (4-7) y sometidos a una corriente isoeléctrica. En la segunda dimensión las proteínas son resuspendidas en un gel de electroforesis con el sistema *Protean II XL* (*Bio-Rad Labs*). Posteriormente los geles son fijados y teñidos con plata con el sistema *Silver Stain Plus Kit* (*Bio-Rad Labs*).

El análisis de la imagen de los geles se realizó, tras ser escaneados con el sistema *Umax Powerlook III*, mediante la identificación de los diferentes puntos utilizando la base de datos disponible en la red *SWISS-PROT*(<http://www.expasy.ch>). Esta base permite identificar las diferentes isoformas proteicas así como medir la cantidad de proteínas mediante una forma semicuantitativa en Unidades Arbitrarias (UA).

Por otra parte, se realizó espectrometría de masas como método analítico coadyuvante, expresándose su valor en kDa/pl para confirmar las proteínas identificadas. Los puntos de interés fueron recortados y extraídos manualmente de los geles mediante el empleo de un bisturí estéril. Para realizar la identificación de los puntos de interés mediante espectrometría de masas cada uno de los puntos se sometió a un proceso de reducción en el gel, alquilación, y por último digestión con tripsina. A continuación, cada punto se lavó un par de veces con agua, se trataron con acetonitrilo al 100 % y fueron secados en un *SAVANT SPEEDVAC*. Posteriormente, las muestras se redujeron con ditioneitol disuelto en bicarbonato amónico. Finalmente, las muestras se digirieron con 12.5 ng/ μ l de tripsina para secuenciación (*Roche Molecular Biochemicals, Barcelona, Spain*) en bicarbonato amónico 25 mM (pH 8.5). Tras el proceso de digestión, el sobrenadante se recogió y 1 μ l se cargó en un espectrómetro de masas (*MALDI-TOF MS*). Los análisis llevados a cabo mediante *MALDI-TOF MS* se desarrollaron en un aparato *Voyager-DE STR* (*perSeptives Biosystems, Framingham, Massachussets*), modelo que utiliza un laser de nitrógeno a 337 nm y opera en modo reflector, con un acelerador de voltaje de 20,000 V. Todas las masas de los espectros obtenidos fueron calibradas externamente mediante una mezcla de péptidos estándar (*Sigma-Aldrich, Madrid, España*). Los péptidos procedentes de la autodigestión con tripsina se usaron para la realización de un calibrado interno. El análisis mediante *MALDI-TOF MS* produjo una huella péptidica característica, y los péptidos observados fueron analizados y presentados en una lista de pesos moleculares monoisotópicos.

Se llevó a cabo espectrometría de masas en tandem (MS/MS) cuando: 1) el *ion score* individual de la huella peptídica (cada score es $-10\log[P]$ donde P es la probabilidad de que el *match* observado sea un evento randomizado) no encontró identidad u homología suficiente con las proteínas contenidas en la base de datos *MASCOT DATABASE* (Mascot database.<http://www.matrixscience.com>.) o 2) cuando péptidos con *ion score* similares *matchearon* para diferentes proteínas. En algunos casos, MS/MS se llevó a cabo mediante el empleo del espectrómetro *MALDI-tandem 4700 Proteomics Analyzer* (Applied Biosystems, Framingham, Massachusset).

3.3 Análisis Estadístico.

Las variables cualitativas fueron expresadas como porcentajes, mientras las cuantitativas y semicuantitativas (determinación de las isoformas proteicas en unidades arbitrarias) con la media \pm error estándar cuando seguían una distribución normal o con la mediana y amplitud intercuartil cuando no seguían dicha distribución. Se realizó un test de Kolmogorov-Smirnov para estudiar el ajuste a la distribución normal. Las variables categóricas fueron comparadas mediante el test de chi cuadrado y las variables cuantitativas mediante la *t de student* si seguían una distribución normal y mediante test no paramétricos de *Mann-Whitney* y *Wilcoxon* si no la seguían. La comparación de la expresión de las distintas proteínas se realizó mediante test no paramétricos de *Mann-Whitney* y *Wilcoxon* dado que se trata de una medida semicuantitativa y el tamaño de la muestra era limitado. Se analizó la asociación entre las variables

cuantitativas con el modelo de regresión lineal simple calculando el coeficiente de determinación (r^2). Se consideró la significación estadística para $p < 0,05$.

4. RESULTADOS.

4. RESULTADOS.

4.1 Pacientes.

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes.

	Pacientes
	(n=19)
Edad	64.1 ± 10
Hombre/mujer	7 (37%) / 12 (63%)
Ritmo	
<i>Ritmo sinusal</i>	7 (37%)
<i>FA permanente</i>	12 (63%)
Duración de la FA	87.5 ± 70 meses
Tamaño aurícula izquierda	
<i>RS</i>	44.1 ± 4.5 mm
<i>FA</i>	60.3 ± 7.6 mm
Patología asociada	
<i>Válvula aórtica</i>	8 (42.1%)
<i>Válvula tricúspide</i>	6 (31.6%)
<i>Enfermedad coronaria</i>	3 (15.8%)
Etiología de la valvulopatía	
<i>Reumática</i>	15 (79%)
<i>Otras</i>	4 (21%)
Fracción de eyección (FE)	57.3 ± 18 %
Presión sistólica en arteria pulmonar	53 ± 19 mmHg
Factores de riesgo cardiovascular	
<i>Hipertensión arterial</i>	10 (52.6%)
<i>Hipercolesterolemia</i>	7 (36.8%)
<i>Tabaquismo</i>	3(15.8%)
<i>Diabetes mellitus</i>	4 (21.1%)
<i>Enfermedad vascular periférica</i>	1 (5.3%)

Se incluyeron 19 pacientes intervenidos en el servicio de Cirugía Cardíaca del Hospital Clínico San Carlos con valvulopatía mitral como principal indicación para la cirugía. 12 mujeres y 7 varones, con una edad media de 64.1 ± 10 años (46-79). 12 estaban en FA permanente y 7 en ritmo sinusal. Se

analizan 19 orejuelas izquierdas y 19 derechas. La tabla 1 describe las características demográficas y clínicas de la población incluida.

4.2 Proteínas analizadas.

Tras realizar la electroforesis bidimensional, la tinción con plata y la búsqueda en la base de datos SWISS-PROT (<http://www.expasy.ch>) se analizaron un total de 56 proteínas del miocardio de la orejuela cardíaca. Hasta ahora hemos identificado 50 proteínas (Tabla 2), que constituyen el objeto de este estudio.

Tabla 2. Proteínas identificadas.

Metabolismo	Citoesqueleto	Inflamación
<i>Proteína reguladora de glucosa</i> (isoformas 1,2 y 3)	<i>Actina</i>	<i>HSP 60</i> (isoformas 1,2,3 y 4)
<i>Creatin quinasa</i> (isoformas 1 y 2)	<i>Cadena ligera de la miosina</i> (isoformas 1 y 2)	<i>HSP 27</i>
<i>Piruvato deshidrogenasa</i>	<i>Cadena α de la tropomiosina</i>	<i>α-1 antitripsina</i> (isoformas 1 y 2)
<i>Isocitrato deshidrogenasa</i>	<i>Cadena β de la tropomiosina</i>	<i>Apoproteína A-I</i>
<i>Succinil CoA sintetasa</i>	<i>α actina cardíaca</i> (isoformas 1,2 y 3)	<i>Peroxirredoxina</i>
<i>Serina-treonina fosfatasa</i> (isoformas 1,2 3 y 4)	<i>Desmina</i> (isoformas 1,2,3,4,5,6,7 y 8)	
<i>Cadena β ATPasa</i> (isoformas 1 y 2)		
<i>Ubiquinol citocromo C reductasa</i>	Otras	
<i>NADH ubiquinona oxidorreductasa</i>	<i>Precursor de la albúmina</i> (isoformas 1 y 2)	
<i>Enoil CoA hidratasa</i>	<i>Albúmina</i>	
<i>Glutation S transferasa</i>	<i>Complemento sérico amiloide</i> (isoformas 1 y 2)	

4.3 Pacientes en ritmo sinusal. Diferencias entre orejuela derecha e izquierda.

En la primera parte del estudio hemos seleccionado los pacientes en RS, considerándolos como los pacientes normales desde el punto de vista del ritmo cardiaco. Se ha encontrado mayor expresión en la orejuela izquierda de la ubiquinol citocromo C reductasa y de la isoforma 5 de la desmina. En las tablas 3,4 y 5 presentamos el resto de proteínas en las que se han encontrado diferencias aunque sin alcanzar significación estadística.

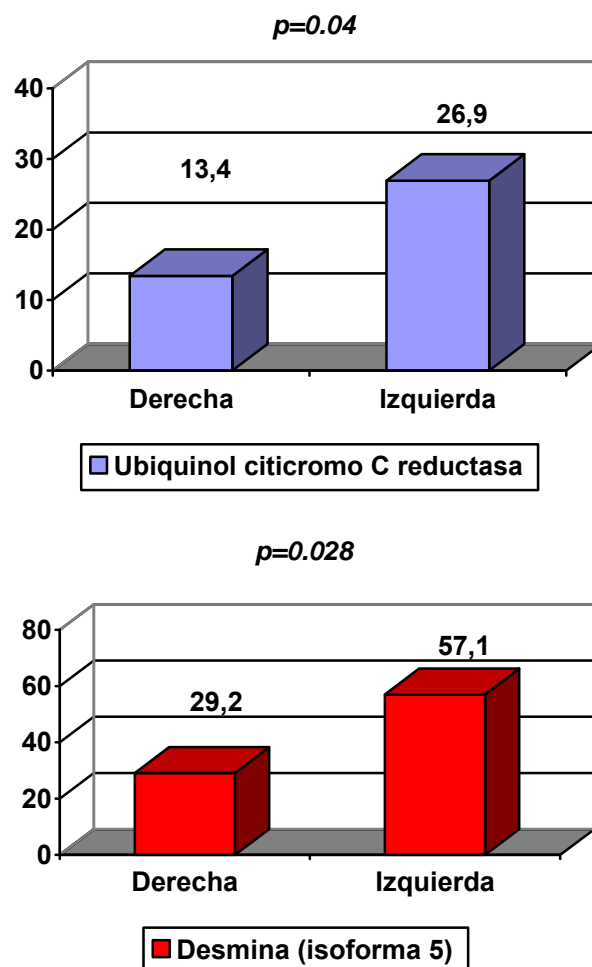


Figura 21. Valor medio de los niveles de ubiquinol citocromo C reductasa e isoforma 5 de la desmina en orejuela derecha e izquierda en pacientes en RS.

Tabla 3. Comparación orejuela derecha con izquierda. Proteínas del metabolismo.

PROTEÍNA	AURÍCULA	AURÍCULA	P
	DERECHA (media±DE)	IZQUIERDA (media±DE)	
Prot. Reguladora de glucosa			
<i>Isoforma 1</i>	2,78±1,5	6,76±3,3	ns
<i>Isoforma 2</i>	7,9±2,7	19,04±7,3	ns
<i>Isoforma 3</i>	17,49±6,15	31,21±7,2	ns
Cadena β ATPasa			
<i>Isoforma 1</i>	24,54±8,9	33,5±11	ns
<i>Isoforma 2</i>	135,37±39	149,19±29	ns
Succinil CoA sintetasa	58,8±21	44,79±18	ns
Ubiquinol citocromo C reductasa	13,41±5,2	26,96±12	0.04
Enoil CoA hidratasa	19,48±5,6	24,46±18,4	ns
NADH ubiquinona oxidoreductasa	23,99±8,9	38,24±14,1	ns

Tabla 4. Comparación orejuela derecha con izquierda. Proteínas del citoesqueleto.

PROTEÍNA	AURÍCULA	AURÍCULA	P
	DERECHA (media±DE)	IZQUIERDA (media±DE)	
α actina cardiaca			
<i>Isoforma 1</i>	717,9±257	970,4±399,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	65,6±22,2	57,1±15,9	ns
<i>Isoforma 3</i>	17,1±2,6	22,8±8,1	ns
Desmina			
<i>Isoforma 1</i>	22,35±7,2	15,37±9,1	ns
<i>Isoforma 2</i>	85,24±29,4	77,37±22,8	ns
<i>Isoforma 3</i>	71,37±25,2	95±24,4	ns
<i>Isoforma 4</i>	19,27±6,8	84,45±32	ns
<i>Isoforma 5</i>	29,22±19,2	57,16±25,6	0.028
<i>Isoforma 6</i>	8,39±2,2	37,76±25,6	ns
<i>Isoforma 7</i>	15,5±7,1	43,91±10,7	ns
<i>Isoforma 8</i>	48,18±19,6	36,43±8	ns
Cadena α tropomiosina	13,53±5,1	23,55±4,3	ns
Cadena ligera miosina			
<i>Isoforma 1</i>	11,92±7,2	12,57±8	ns
<i>Isoforma 2</i>	72,57±26,41	35±10,9	ns

Tabla 5. Comparación orejuela derecha con izquierda. Proteínas de la inflamación.

PROTEÍNA	AURÍCULA	AURÍCULA	P
	DERECHA (media±DE)	IZQUIERDA (media±DE)	
HSP 60 (isoforma 2)	22,29±7,3	40,21±18,5	ns
α antitripsina			
<i>Isoforma 1</i>	46,88±20,5	33,3±9,3	ns
<i>Isoforma 2</i>	100,32±38,2	48,89±4,8	ns
Apolipoproteína A1	18,47±11	6,24±1,5	ns
Peroxirredoxina	29,48±24,8	20,25±8,4	ns
HSP 27	36,56±16,5	27,29±13,3	ns

4.4 Pacientes en fibrilación auricular. Diferencias entre orejuela derecha e izquierda.

La expresión de proteínas es más homogénea en los pacientes en FA, encontrándose sólo diferencias en el nivel de la isoforma 7 de la desmina. Aunque las medias de los valores de la desmina 7 son muy parecidas, en el diagrama de caja (*box-plot*) se observa que las distribuciones de la variable en cada orejuela son distintas, lo que justifica que al compararlas el test no paramétrico resulte significativo.

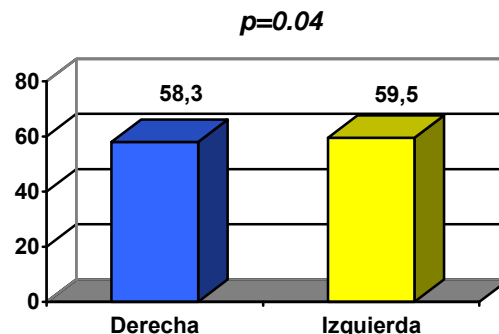


Figura 22. Niveles medios de la isoforma 7 de la desmina en la orejuela derecha e izquierda de los pacientes en FA.

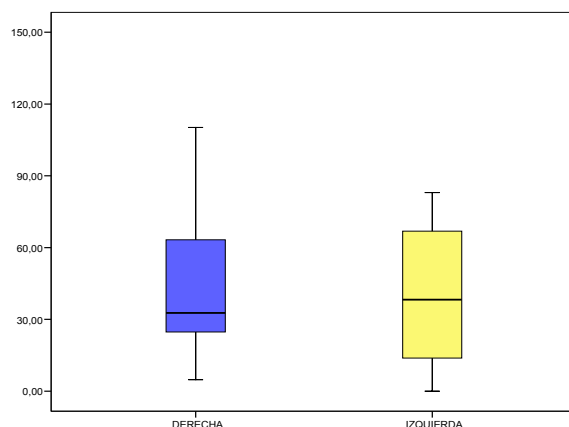


Figura 23. Diagrama de caja mostrando la distribución de los valores de la isoforma 7 de la Desmina en orejuela derecha e izquierda en pacientes en FA.

En la tabla 6 mostramos algunas proteínas en las que hubo diferencias en la expresión pero que no alcanzó significación estadística.

Tabla 6. Pacientes en FA. Comparación orejuela derecha con orejuela izquierda.

PROTEÍNA	AURÍCULA DERECHA (media±DE)	AURÍCULA IZQUIERDA (media±DE)	P
METABOLISMO			
P. reguladora de glucosa (isof. 2)	30,3±10,6	56,8±24,4	ns
Cadena β de la ATPasa (Isoforma 1)	44,3±8,8	77,4±41,4	ns
Creatin quinasa			
Isoforma 1	162,2±54,1	57,1±16,9	ns
Isoforma 2	88,5±32,2	113,5±46,8	ns
Serina-treonina fosfatasa			
Isoforma 1	40±14,9	22,3±8,8	ns
Isoforma 2	89,5±44,8	29,9±13,8	ns
Isoforma 3	79,2±39,2	35,9±11,7	ns
CITOESQUELETO			
α actina cardiaca (isoforma 1)	1309,6±440	1609,8±559	ns
Actina	141,7±43,5	104,5±29,4	ns
Desmina			
Isoforma 7	58,3±18,3	59,5±23	0.04
Isoforma 8	33,7±9,1	47,4±12,9	ns
Cadena β tropomiosina	247,1±83,4	328,8±95	ns
Cadena ligera miosina (isoforma 2)	140,8±33,9	227,5±142,3	ns

4.5 Perfil clínico de los pacientes en RS y en FA. Diferencias.

Los pacientes en ritmo sinusal son más jóvenes (57 años vs 68 años), tienen la aurícula izquierda más pequeña (44.1mm vs 60.3mm) y fuman más (42.9% vs 0%). Además tienden a tener menos hipertensión pulmonar (42.1 mmHg vs 68 mmHg), aunque sin alcanzar significación estadística (figuras 24-26 y tabla 7).

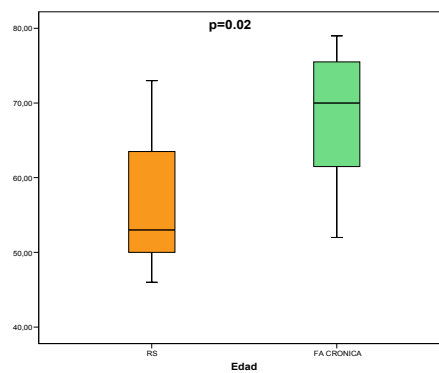


Figura 24. Edad en RS y FA.

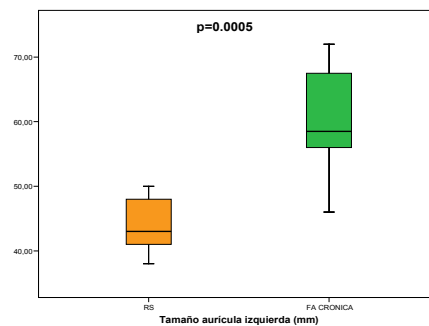


Figura 25. Tamaño AI en RS y FA.

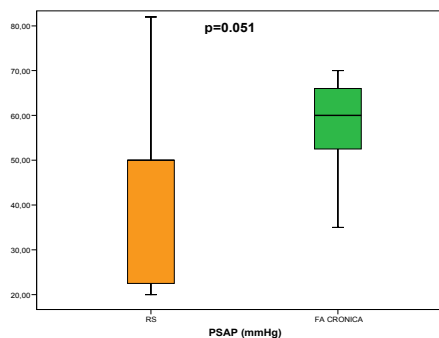


Figura 26. PSAP (mmHg) en RS y FA.

Tabla 7. Diferencias en perfil clínico.

	RS	FA	p
Sexo (varones)	57%(4)	25%(3)	ns
Edad	57 años	68.3 años	0.02
Tamaño aurícula izquierda	44.1mm	60.3mm	0.0005
Patología coronaria	28.6%	8.3%	ns
Valvulopatía tricúspide	14,3%	41,7%	ns
FE	59.8%	55.8%	ns
PSAP	42.1 mmHg	68 mmHg	0.051
HTA	42.9%	58.3%	ns
Hiperlipemia	57.1%	36.8%	ns
Tabaquismo	42.9%	0%	0.03
Diabetes	28.6%	16.7%	ns
Fármacos antilipémicos	14.3%	25%	ns
Inhibidores de la ECA	28.6%	25%	ns

4.6 Diferencias en la orejuela derecha entre pacientes en RS y FA.

Se han encontrado diferencias en la expresión de 5 proteínas. La isoforma 7 de la desmina, la cadena α de la tropomiosina y la isoforma 3 de la HSP 60 están sobreexpresadas en la orejuela derecha de los pacientes en FA, mientras que la isoforma 2 de la desmina y la isoforma 1 de la proteína 14 (pendiente de identificar) están disminuidas. Hemos encontrado sobreexpresión de la mayoría de las proteínas en las orejuelas derechas en FA, siendo probable que esa diferencia se haga significativa en algunas al aumentar la n (Figuras 27-31 y tablas 8-11).

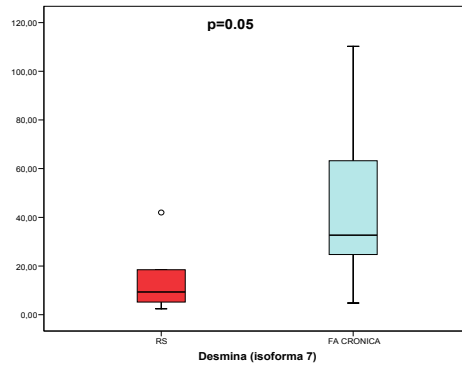


Figura 27. Desmina (isoforma 7) en orejuela derecha.

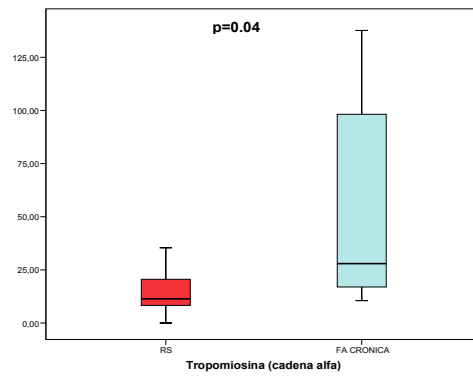


Figura 28. Cadena alfa de la tropmiosina en la orejuela derecha.

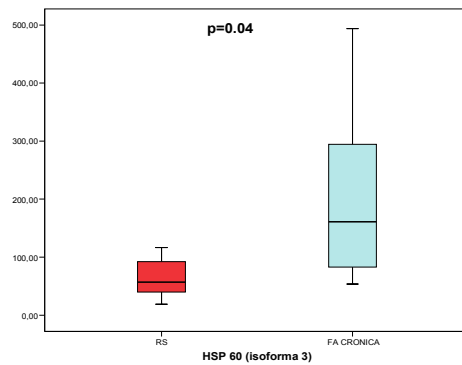


Figura 29. HSP 60 (isoforma 3) en la orejuela derecha.

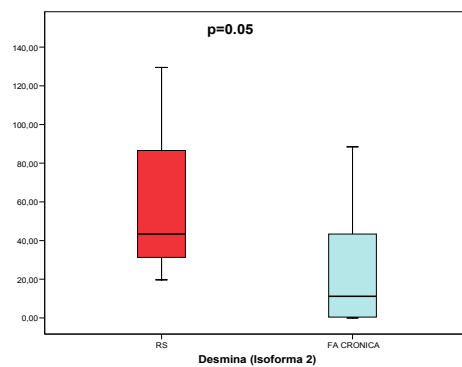


Figura 30. Desmina (isoforma 2) en la orejuela derecha.

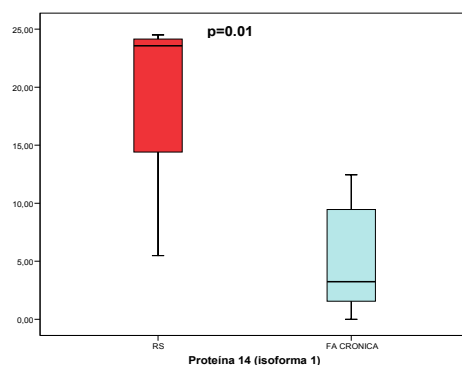


Figura 31. Proteína 14 (isoforma 1) en la orejuela derecha.

Tabla 8. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas del metabolismo.

	RS	FA	p
Proteína reguladora de glucosa			
<i>Isoforma 1</i>	2,78±1,5	12,54±7,3	ns
<i>Isoforma 2</i>	7,9±2,7	30,3±10,6	ns
<i>Isoforma 3</i>	17,5±6,1	25,4±8,6	ns
Cadena β ATPasa			
<i>Isoforma 1</i>	24,5±8,9	44,3±8,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	135,4±39,5	219,5±47,5	ns
Succinil CoA sintetasa	58,8±21,5	113,4±41,4	ns
Piruvato deshidrogenasa	31,05±3,4	114,1±39	ns
Creatin quinasa			
<i>Isoforma 1</i>	57,3±21,9	162,21±54,1	ns
<i>Isoforma 2</i>	51,4±24,6	88,5±32,2	ns
Ubiquinol citocromo C reductasa	13,41±5,2	13,4±6,3	ns
Enoil CoA hidratasa	18,5±5,6	50,9±17	ns
Glutation S transferasa	14,6±5,5	51,3±16,6	ns
NADH ubiquinona oxidorreductasa	23,9±8,9	21,4±4,9	ns
Isocitrato deshidrogenasa	20,6±4,1	40,7±11	ns
Serina-treonina fosfatasa			
<i>Isoforma 1</i>	7,4±4	40±14,9	ns
<i>Isoforma 2</i>	18,5±12,3	89,6±44,9	ns
<i>Isoforma 3</i>	14±5,5	79,2±39,2	ns
<i>Isoforma 4</i>	21,2±5,9	26,8±10,2	ns

Tabla 9. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas del citoesqueleto.

	RS	FA	p
α actina cardiaca			
<i>Isoforma 1</i>	717,9 \pm 257,9	1309,6 \pm 440	ns
<i>Isoforma 2</i>	65,6 \pm 22,2	167,8 \pm 55,9	ns
<i>Isoforma 3</i>	17,1 \pm 2,6	31,7 \pm 8,5	ns
Actina	66,9 \pm 19,4	141,7 \pm 43,5	ns
Desmina			
<i>Isoforma 1</i>	22,3 \pm 7,2	18,4 \pm 6,5	ns
<i>Isoforma 2</i>	85,2 \pm 29,4	40 \pm 19,9	0.05
<i>Isoforma 3</i>	71,4 \pm 25,2	118,5 \pm 29,5	ns
<i>Isoforma 4</i>	19,3 \pm 6,8	17,9 \pm 5	ns
<i>Isoforma 5</i>	29,2 \pm 19,2	24,6 \pm 7,6	ns
<i>Isoforma 6</i>	8,4 \pm 2,2	27 \pm 15	ns
<i>Isoforma 7</i>	15,5 \pm 7,1	58,3 \pm 18,3	0.05
<i>Isoforma 8</i>	48,2 \pm 19,6	33,7 \pm 9,1	ns
Cadena α tropomiosina	13,5 \pm 5,2	52,7 \pm 14,7	0.04
Cadena β tropomiosina	72,9 \pm 14,4	247,1 \pm 83,4	ns
Cadena ligera miosona			
<i>Isoforma 1</i>	11,9 \pm 7,2	22,7 \pm 11,4	ns
<i>Isoforma 2</i>	72,6 \pm 26,4	140,9 \pm 33,9	ns

Tabla 10. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas de la inflamación.

	RS	FA	p
HSP 60			
<i>Isoforma 1</i>	5,5 \pm 3,2	18,5 \pm 8,9	ns
<i>Isoforma 2</i>	22,3 \pm 7,3	67 \pm 18,8	0.06
<i>Isoforma 3</i>	84,1 \pm 23,9	218,9 \pm 44,7	0.04
<i>Isoforma 4</i>	9 \pm 2,2	44 \pm 17,8	0.06
α antitripsina			
<i>Isoforma 1</i>	46,8 \pm 20,6	75,7 \pm 29,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	100,3 \pm 38,2	73,4 \pm 17,7	ns
Apolipoproteína A1	18,5 \pm 11	24,5 \pm 8,2	ns
Peroxirredoxina	29,5 \pm 24,8	83,5 \pm 30,8	ns
HSP 27	36,6 \pm 16,5	72,9 \pm 10,4	ns

Tabla 11. Diferencias en la orejuela derecha. Otras proteínas.

	RS	FA	p
Albúmina	2353,4±544,8	4319,5±1715,4	ns
Proteína 14			
<i>Isoforma 1</i>	16,8±4,3	5±1,5	0.01
<i>Isoforma 2</i>	81,5±24,8	35,3±8,5	ns
Complemento sérico amiloide			
<i>Isoforma 1</i>	133,9±51,4	113,9±43,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	27,7±14,5	72,7±26,3	ns
Precursor albúmina			
<i>Isoforma 1</i>	137,8±39,7	215,9±39,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	92,9±22,1	108,1±35,9	ns

Si seleccionamos las orejuelas derechas de pacientes sin patología tricúspide estamos trabajando con aurículas sin o con escasa sobrecarga de presión y/o volumen, por lo que los cambios en la expresión pueden achacarse a la FA *per se*. Existe mayor expresión de la isoforma 2 de la HSP60 y menor de la isoforma 2 de la desmina. En la práctica totalidad del resto de las proteínas persiste la tendencia a una mayor expresión (tablas 12-15).

Tabla 12. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas del metabolismo.

	RS	FA	p
Proteína reguladora de glucosa			
<i>Isoforma 1</i>	2,78±3,7	17,51±29,3	ns
<i>Isoforma 2</i>	7,9±6,7	39,5±40,2	ns
<i>Isoforma 3</i>	13,1±12,6	28,2±28,5	ns
Cadena β ATPasa			
<i>Isoforma 1</i>	17,6±16,6	48,5±17,2	0.07
<i>Isoforma 2</i>	112,7±88,5	278,2±196	ns
Succinil CoA sintetasa	58,8±48	156,2±178	ns
Piruvato deshidrogenasa	31,05±7,5	154,4±165	ns
Creatin quinasa			
<i>Isoforma 1</i>	36,7±19,9	162±171	ns
<i>Isoforma 2</i>	51,4±55,1	122,1±101	ns
Ubiquinol citocromo C reductasa	8,7±6,7	8,3±15	ns
Enoil CoA hidratasa	19,5±11,3	73,1±60,3	0.06
Glutation S transferasa	9,9±7,2	31,5±29,5	ns
NADH ubiquinona oxidorreductasa	23,9±20	26,8±12	ns
Isocitrato deshidrogenasa	20,6±9,2	49,8±38	ns
Serina-treonina fosfatasa			
<i>Isoforma 1</i>	7,4±9,4	50,3±61,7	ns
<i>Isoforma 2</i>	18,5±30,2	135,4±171,4	ns
<i>Isoforma 3</i>	14±13,4	127,2±143,9	ns
<i>Isoforma 4</i>	21,2±14,3	38±37,9	ns

Tabla 13. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas del citoesqueleto.

	RS	FA	p
α actina cardiaca			
<i>Isoforma 1</i>	717,9 \pm 631	1818 \pm 440	ns
<i>Isoforma 2</i>	65,6 \pm 54	231,2 \pm 209	ns
<i>Isoforma 3</i>	17,1 \pm 5,8	41,1 \pm 31	ns
Actina	50,1 \pm 28,1	208,8 \pm 169	ns
Desmina			
<i>Isoforma 1</i>	18,1 \pm 17	11,7 \pm 19,6	ns
<i>Isoforma 2</i>	89,4 \pm 79	17,4 \pm 20	0.03
<i>Isoforma 3</i>	55,5 \pm 56	134,7 \pm 107	ns
<i>Isoforma 4</i>	13,6 \pm 10	21,4 \pm 17,2	ns
<i>Isoforma 5</i>	25,7 \pm 54,8	24,2 \pm 15,6	ns
<i>Isoforma 6</i>	8,4 \pm 5,4	12,5 \pm 7,8	ns
<i>Isoforma 7</i>	15,5 \pm 16	71,97 \pm 73	ns
<i>Isoforma 8</i>	31,2 \pm 28,7	41,7 \pm 37,1	ns
Cadena α tropomiosina	13,5 \pm 12,6	53,7 \pm 42,9	0.09
Cadena β tropomiosina	72,9 \pm 32,3	200,5 \pm 175	ns
Cadena ligera miosona			
<i>Isoforma 1</i>	11,9 \pm 12,5	41 \pm 38	ns
<i>Isoforma 2</i>	72,5 \pm 52,8	161,4 \pm 29,4	0.057

Tabla 14. Diferencias en la orejuela derecha. Proteínas de la inflamación.

	RS	FA	p
HSP 60			
<i>Isoforma 1</i>	5,5 \pm 7,9	15,5 \pm 11,5	ns
<i>Isoforma 2</i>	22,3 \pm 17,9	75,3 \pm 55,5	0.008
<i>Isoforma 3</i>	84,1 \pm 58,6	246,9 \pm 172	0.07
<i>Isoforma 4</i>	9 \pm 5,5	38,7 \pm 35,9	0.07
α antitripsina			
<i>Isoforma 1</i>	46,8 \pm 46	98,4 \pm 117	ns
<i>Isoforma 2</i>	65,8 \pm 45,4	81,5 \pm 71,3	ns
Apolipoproteína A1	18,5 \pm 19	24,7 \pm 17,7	ns
Peroxirredoxina	29,5 \pm 42,9	113,4 \pm 101,4	ns
HSP 27	36,6 \pm 33,1	68,7 \pm 16,8	ns

Tabla 15. Diferencias en la orejuela derecha. Otras proteínas.

	RS	FA	p
Albúmina	2572,6±1441	5958,5±7563	ns
Proteína 14			
<i>Isoforma 1</i>	16,8±9,6	5,5±4,5	ns
<i>Isoforma 2</i>	81,5±55,5	41,3±29,9	ns
Complemento sérico amiloide			
<i>Isoforma 1</i>	117,5±133,5	164,3±185,6	ns
<i>Isoforma 2</i>	27,7±28,9	90±98	ns
Precursor albúmina			
<i>Isoforma 1</i>	108,05±68,2	218,3±116,4	ns
<i>Isoforma 2</i>	92,9±49,6	133,9±138,5	ns

4.7 Diferencias en la orejuela izquierda entre pacientes en RS y FA.

Se han encontrado diferencias en la expresión de 4 proteínas. La cadena β de la tropomiosina y la isoforma 3 de la HSP 60 están sobreexpresadas en la orejuela izquierda de los pacientes en FA, mientras que la isoforma 4 de la desmina y la isoforma 2 de la proteína 14 están disminuidas. Al igual que en la aurícula derecha hemos encontrado tendencia a la sobreexpresión de la mayoría de las proteínas en la OI en FA, y en muchas de ellas es probable que esa diferencia sea significativa al aumentar la n (figuras 32-35 y tablas 16-19).

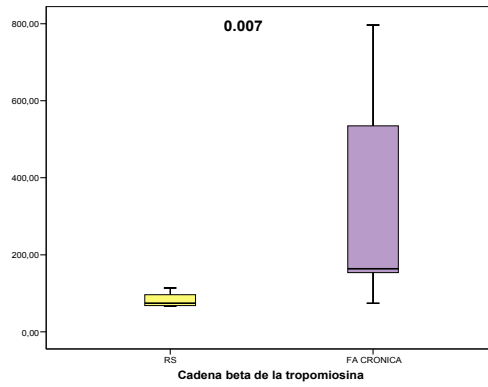


Figura 32. Cadena beta de la tropomiosina en la orejuela izquierda.

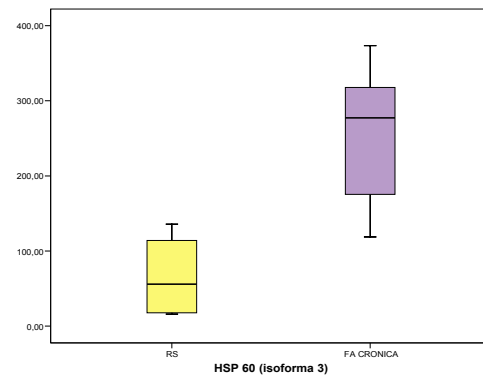


Figura 33. HSP 60 (isoforma 3) en la orejuela izquierda.

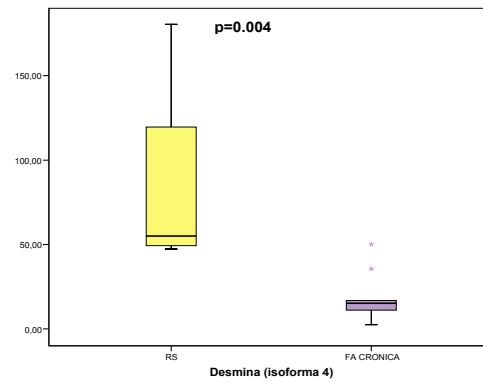


Figura 34. Desmina (isoforma 4) en la orejuela izquierda.

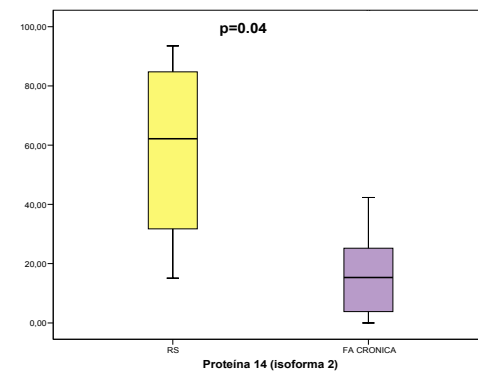


Figura 35. Proteína 14 (isoforma 2) en la orejuela izquierda.

Tabla 16. Diferencias en la orejuela izquierda. Proteínas del metabolismo.

	RS	FA	p
Proteína reguladora de glucosa			
<i>Isoforma 1</i>	6,7±3,3	11,3±6,7	ns
<i>Isoforma 2</i>	19±7,4	56,9±24,4	ns
<i>Isoforma 3</i>	31,2±7,2	38,4±7,2	ns
Cadena β ATPasa			
<i>Isoforma 1</i>	33,5±11	77,4±41,4	ns
<i>Isoforma 2</i>	146,2±29,2	205,1±35,5	ns
Succinil CoA sintetasa	44,8±18,5	98±28,3	ns
Piruvato deshidrogenasa	29,8±6,8	114,7±35,5	0.09
Creatin quinasa			
<i>Isoforma 1</i>	52,3±12,6	57,1±16,9	ns
<i>Isoforma 2</i>	52,6±20,1	113,5±46,8	ns
Ubiquinol citocromo C reductasa	26,9±12	8,3±3,6	0.08
Enoil CoA hidratasa	24,5±18,5	47,7±7,7	ns
Glutation S transferasa	11,8±3,6	35,4±14,4	ns
NADH ubiquinona oxidorreductasa	38,2±8,9	23,7±4,3	ns
Isocitrato deshidrogenasa	20,9±4	28,4±4,3	ns
Serina-treonina fosfatasa			
<i>Isoforma 1</i>	4,3±1	22,3±8,8	ns
<i>Isoforma 2</i>	10,9±3,4	29,9±13,9	ns
<i>Isoforma 3</i>	19,2±5,9	35,9±11,7	ns
<i>Isoforma 4</i>	35,9±7	37±11,5	ns

Tabla 17. Diferencias en la orejuela izquierda. Proteínas del citoesqueleto.

	RS	FA	p
α actina cardiaca			
<i>Isoforma 1</i>	970,4 \pm 399,8	1609,9 \pm 559,1	ns
<i>Isoforma 2</i>	57,2 \pm 15,9	150,7 \pm 51,7	ns
<i>Isoforma 3</i>	22,8 \pm 8,1	29,9 \pm 8,2	ns
Actina	51,4 \pm 7,9	104,5 \pm 29,4	ns
Desmina			
<i>Isoforma 1</i>	15,4 \pm 9,1	14,7 \pm 5,7	ns
<i>Isoforma 2</i>	77,4 \pm 22,8	54 \pm 20,8	ns
<i>Isoforma 3</i>	95 \pm 24,4	138 \pm 22,3	ns
<i>Isoforma 4</i>	84,4 \pm 32	18 \pm 4,5	0,004
<i>Isoforma 5</i>	57,2 \pm 25,6	36,2 \pm 14,9	ns
<i>Isoforma 6</i>	37,8 \pm 25,6	20,1 \pm 5,4	ns
<i>Isoforma 7</i>	43,9 \pm 10,8	59,5 \pm 23,7	ns
<i>Isoforma 8</i>	36,4 \pm 8	47,4 \pm 12,9	ns
Cadena α tropomiosina	23,5 \pm 4,3	48,3 \pm 14,1	ns
Cadena β tropomiosina	66,2 \pm 18,2	328,8 \pm 95	0.007
Cadena ligera miosona			
<i>Isoforma 1</i>	12,6 \pm 8	20,8 \pm 9,6	ns
<i>Isoforma 2</i>	35 \pm 11	227,5 \pm 142,3	ns

Tabla 18. Diferencias en la orejuela izquierda. Proteínas de la inflamación.

	RS	FA	p
HSP 60			
<i>Isoforma 1</i>	5,5 \pm 4	21,3 \pm 10,9	ns
<i>Isoforma 2</i>	40,2 \pm 18,5	59,9 \pm 16,9	ns
<i>Isoforma 3</i>	87,3 \pm 31,1	312,9 \pm 90	0.01
<i>Isoforma 4</i>	10,9 \pm 3,5	25,1 \pm 7,9	ns
α antitripsina			
<i>Isoforma 1</i>	33,3 \pm 9,4	91,3 \pm 21,7	0.07
<i>Isoforma 2</i>	48,9 \pm 4,8	11,9 \pm 43,5	ns
Apolipoproteína A1	6,2 \pm 1,5	12,7 \pm 5,6	ns
Peroxirredoxina	20,2 \pm 8,4	74,9 \pm 20,8	0.07
HSP 27	27,3 \pm 13,3	57,8 \pm 14	ns

Tabla 19. Diferencias en la orejuela izquierda. Otras proteínas.

	RS	FA	p
Albúmina	2767,4±460,4	3397,6±675,8	ns
Proteína 14			
<i>Isoforma 1</i>	19,7±10,2	8,1±5,9	0.07
<i>Isoforma 2</i>	57±11,1	24,2±9,9	0.04
Complemento sérico amiloide			
<i>Isoforma 1</i>	64,4±16,7	167,7±64,2	ns
<i>Isoforma 2</i>	18,9±4,2	41,8±13,7	ns
Precursor albúmina			
<i>Isoforma 1</i>	136,3±31,3	219,8±57,9	ns
<i>Isoforma 2</i>	66,8±23,6	86,9±24,2	ns

4.8 Relación entre el tamaño auricular izquierdo y expresión proteica.

Hemos analizado esta relación a través del modelo de regresión lineal simple, donde el tamaño auricular izquierdo es la variable independiente y el nivel de las distintas proteínas la variable dependiente (tabla 20). Existe correlación positiva entre el tamaño auricular y proteínas del metabolismo (isoforma 2 de la proteína reguladora de glucosa, succinil CoA sintetasa y glutatión transferasa), proteínas del citoesqueleto (isoforma 2 de la α actina cardiaca, beta tropomiosina y actina) e inflamatorias (isoformas 1,3 y 4 de la HSP 60). También existe correlación con la proteína 24, pendiente de identificar.

Tabla 20. Relación entre tamaño auricular u expresión proteica.

	r	r²	p
METABOLISMO			
P. reguladora de glucosa (isof. 2)	0.45	0.21	0.049
Succinil CoA sintetasa	0.55	0.30	0.027
Glutation transferasa	0.56	0.26	0.034
Piruvato deshidrogenasa	0.44	0.19	0.082
Ubiquinol citocromo C reductasa	- 0.44	0.2	0.08
Creatin quinasa (isoforma 2)	0.44	0.2	0.073
CITOESQUELETO			
β tropomiosina	0.74	0.55	0.002
Actina	0.55	0.31	0.02
α actina cardiaca (isoforma 2)	0.57	0.33	0.015
Desmina (isoforma 7)	0.43	0.18	0.093
Cadena ligera miosina (isoforma 2)	0.47	0.22	0.087
INFLAMACIÓN			
HSP60			
<i>Isoforma 1</i>	0.53	0.28	0.033
<i>Isoforma 2</i>	0.45	0.20	0.07
<i>Isoforma 3</i>	0.58	0.33	0.018
<i>Isoforma 4</i>	0.57	0.33	0.024
α antitripsina			
<i>Isoforma 1</i>	0.48	0.23	0.067
<i>Isoforma 2</i>	0.48	0.23	0.066
OTRAS			
Complemento sérico del amiloide (isoforma 1)	0.45	0.2	0.069
Proteína 24	0.58	0.33	0.018

Hemos analizado también la asociación entre la duración de la FA y la expresión de proteínas, encontrándose solo correlación positiva con los niveles de la isoforma 3 de la proteína reguladora de la glucosa en la orejuela derecha ($r=0.85$, $r^2=0,72$, $p=0.015$).

5. DISCUSIÓN.

5. DISCUSIÓN.

La FA es la taquiarritmia supraventricular más frecuente con una prevalencia en la población general de aproximadamente el 1%. Además su frecuencia aumenta con la edad, de manera que el 6% de los mayores de 65 años y el 10% de los mayores de 80 años la presentan¹⁻¹³. En los pacientes sometidos a cirugía cardiaca la incidencia de FA preoperatoria es aún mayor: 30-60% de los pacientes sometidos a cirugía mitral, 15-20% de los sometidos a cirugía valvular aórtica y 1-4% de los pacientes sometidos a cirugía coronaria. Se calcula que en el año 2020 más de 9 millones de estadounidenses tendrán FA, siendo el 50% de ellos mayores de 80 años. Se trata de una patología multifactorial, que la mayoría de las veces se inicia como una enfermedad paroxística o intermitente y que evoluciona con el tiempo a una forma crónica o permanente⁸.

Su presencia duplica la mortalidad cardiovascular y de cualquier causa y multiplica por 2-5 el riesgo de ACVA. Los ACVAs relacionados con la FA tienen mayor mortalidad, el déficit es más severo y la recurrencia más frecuente. Los pacientes sometidos a cirugía cardiaca con FA preoperatoria tienen mayor mortalidad hospitalaria y menor supervivencia en el seguimiento^{74,75}.

El mecanismo íntimo de la FA todavía no está claro y es probable que no exista un mecanismo único para todos los casos³³. En el caso de los pacientes con patología mitral el hecho fisiopatológico básico que lleva al desarrollo de la arritmia es la sobrecarga de presión y/o volumen de la AI. Esta sobrecarga determina la dilatación auricular, que constituye el substrato para el establecimiento de la arritmia. La dilatación no solo implica un aumento de

tamaño de la cavidad, también se produce hipertrofia de miocitos, fibrosis y una serie de cambios electrofisiológicos y metabólicos que favorecen el establecimiento de la arritmia (remodelado auricular). El remodelado que sufre la aurícula puede entenderse como una respuesta adaptativa del miocito en un intento de mantener la homeostasis frente a la “agresión”. La propia FA contribuye a ese remodelado auricular anatómico y funcional que determina la perpetuación de la arritmia convirtiéndola en crónica⁴³.

La inducción de FA produce en la aurícula un estado hipermetabólico, triplicando el flujo coronario y el consumo de oxígeno. Cambia la principal fuente de energía de los miocitos, pasando de la beta oxidación de los ácidos grasos a la glicolisis, y aumenta la producción de lactato^{43,127-130}. Esto determina una menor disponibilidad de energía y por ello una menor eficacia contráctil. Además se produce un aumento del estrés oxidativo, que causa una disminución de la actividad de la creatin quinasa miofibrilar (la proteína que aporta el ATP para la contracción) sin modificarse la creatin quinasa total. Al disminuir la disponibilidad de ATP para la miosina, se produce un cambio consistente en la sustitución del isómero α de la cadena pesada de la miosina (actividad ATPasa rápida, que supone el 80% de la miosina de las aurículas normales) por el isómero β (actividad ATPasa lenta)¹³⁰.

En el área cardiovascular la proteómica está comenzando, siendo la mayor parte estudios meramente descriptivos. El primer estudio proteómico de la fibrilación auricular ha sido publicado en 2008¹²⁷, centrándose fundamentalmente en los cambios metabólicos presentes en los miocitos auriculares de pacientes con FA persistente. Tomaron muestras de orejuelas derechas de 3 tipos de pacientes: en RS, con FA permanente y en RS que

desarrollaron FA en el postoperatorio inmediato. El análisis proteómico sólo es una pequeña parte del estudio, realizándose además espectroscopia por resonancia magnética de alta resolución para el estudio de cambios metabólicos, *Western blotting* y determinación de niveles de distintas citoquinas (proteína C reactiva, interleucina 6 y TNF α). Los pacientes con FA permanente presentaron alteraciones en proteínas estructurales (fundamentalmente fragmentación de la actina, tubulina y desmina), depleción de la peroxiredoxina 1 (proteína antioxidante), disminución del precursor del ANP (péptido natriurético atrial) y sobre todo cambios en las proteínas relacionadas con el metabolismo. Así encontraron aumento de la expresión de varias enzimas relacionadas con la glicolisis (triosa fosfato isomerasa y gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa), de la cetoacetil-CoA-transferasa (enzima participante en la utilización extrahepática de cuerpos cetónicos) y de los complejos I y III de la cadena respiratoria (NADH deshidrogenasa y Ubiquinol citocromo C reductasa).

En pocos años el conocimiento en esta área va a aumentar de forma considerable y probablemente va a permitir la integración de los datos proteómicos y genómicos con los datos funcionales obtenidos previamente de estudios bioquímicos y fisiológicos, ayudando a una mejor comprensión de la enfermedad cardiovascular. Además, el continuo desarrollo tecnológico y la introducción de nuevos abordajes están permitiendo el rápido desarrollo de la proteómica¹²¹⁻⁴.

5.1 Interpretación de los cambios encontrados en la expresión proteica.

Nuestros resultados muestran que la orejuela de los pacientes en FA hay un aumento de la expresión de diferentes isoformas proteicas relacionadas con el metabolismo, el citoesqueleto y la respuesta inflamatoria. Estos cambios se objetivaron tanto en la orejuela derecha como izquierda, y fueron cuantificados en unidades arbitrarias. Mediante espectrometría de masas se identificaron las diferentes isoformas proteicas.

El hecho fisiopatológico básico que determina el desarrollo de la FA en estos pacientes es la valvulopatía mitral, que a través de la sobrecarga de presión y/o volumen en la aurícula izquierda determina el remodelado anatómico (dilatación, hipertrofia, fibrosis) y eléctrico que facilita un entorno favorable para el establecimiento de la arritmia. Posteriormente tanto el mantenimiento en el tiempo del trastorno hemodinámico como la propia FA facilitan la perpetuación de la arritmia. Las diferencias en la expresión proteica en la AI son consecuencia de la FA aunque también puede jugar un papel el hecho de que se trate de una enfermedad valvular más evolucionada (de hecho los pacientes en RS son más jóvenes y tienen la AI menos dilatada), participando esas alteraciones en el mantenimiento de la arritmia. En el caso de la AD, al no existir sobrecarga hemodinámica, el más probable agente causal de los cambios sea la FA.

5.1.1 Comparación de la expresión proteica entre orejuela derecha e izquierda en los pacientes en ritmo sinusal.

Se ha detectado mayor expresión en la orejuela izquierda de la isoforma 5 de la desmina y de la ubiquinol citocromo C reductasa, y una tendencia a mayor expresión también de la proteína reguladora de la glucosa, la NADH ubiquinona oxidorreductasa, isoformas 3,4,6 y 7 de la desmina, alfa tropomiosina e isoforma 2 de la HSP. Sólo uno de los pacientes en ritmo sinusal presentaba valvulopatía tricúspide (sobrecarga de volumen en la aurícula derecha) pero todos presentaban valvulopatía mitral (sobrecarga de presión y/o volumen), por lo que dichas diferencias en la expresión podrían estar inducidas por la sobrecarga hemodinámica que determina que la AI sea mas patológica.

El aumento de las enzimas de la cadena respiratoria (NADH ubiquinona oxidorreductasa y ubiquinol citocromo C reductasa) y de la proteína reguladora de la glucosa manifiestan unos mayores requerimientos metabólicos de la AI probablemente en relación con la sobrecarga hemodinámica y la hipertrofia. Esta última determinaría la mayor expresión de la de la alfa tropomiosina, proteína del aparato contráctil celular, y de la desmina. La desmina es una proteína del citoesqueleto que forma parte de los desmosomas, áreas especializadas de la membrana plasmática que facilitan la conexión intercelular. Todo ello justifica también la mayor expresión de proteínas inflamatorias como la HSP60.

5.1.2 Comparación de la expresión proteica entre orejuela derecha e izquierda en los pacientes en fibrilación auricular.

Al contrario que en los pacientes en RS, en los pacientes en FA el patrón de expresión proteico de ambas orejuelas es muy parecido, con valores muy similares para todas las proteínas. De hecho la única proteína en la que se alcanza significación estadística, la isoforma 7 de la desmina, los niveles en orejuela derecha e izquierda son 58,3 U.A. y 59,5 U.A., por lo que la relevancia clínica de la diferencia es escasa. Probablemente los pacientes en RS representan un estadio menos evolucionado de la enfermedad, afectando los cambios solo a la AI. Los pacientes en FA son pacientes con enfermedad más evolucionada, por lo que los cambios en la expresión proteica son más difusos, afectando a ambas aurículas, y las diferencias entre ambas son menores. Si consiguiéramos definir el proteoma de las orejuelas de pacientes sin cardiopatía podríamos comprobar si la expresión de determinadas proteínas va aumentando desde los pacientes sanos hasta los pacientes con valvulopatía en FA.

5.1.3 Comparación de los cambios en la expresión proteica en la orejuela derecha de pacientes en RS y FA.

Se ha detectado en la orejuela derecha de pacientes en FA una mayor expresión de proteínas del citoesqueleto (isoformas 7 de la desmina y alfa tropomiosina) y de la inflamación (isoforma 3 de la HSP60) mientras que la isoforma 2 de la desmina y la isoforma 1 de la proteína 14 (pendiente de

identificar) están disminuidas. Aunque no alcanzan significación, el nivel de la práctica totalidad de las proteínas analizadas es mayor en la orejuela derecha de los pacientes en FA.

Estos hallazgos apoyarían los estudios previos que por otras técnicas muestran un remodelado anatómico y un estado hipermetabólico (con aumento del metabolismo de la glucosa) en las aurículas en FA. Existe tendencia a la sobreexpresión de enzimas del metabolismo de la glucosa (proteína reguladora de la glucosa, piruvato deshidrogenasa), del ciclo de Krebs (isocitrato deshidrogenasa, succinil CoA sintetasa), creatin quinasa, beta oxidación de los ácidos grasos (enoil CoA hidratasa) y de enzimas controladoras de la función de otras proteínas (serina-treonina fosfatasa). El remodelado anatómico se expresa por una mayor expresión de la alfa actina cardiaca, de fragmentos de actina, cadenas alfa y beta de la tropomiosina, cadena ligera de la miosina e isoformas 3 y 7 de la desmina. El mayor estrés celular se manifiesta a través de la sobreexpresión de las proteínas HSP 60 (las 4 isoformas), apolipoproteína A1, peroxirredoxina y HSP 27.

Si seleccionamos las orejuelas derechas de pacientes sin patología tricúspide estamos trabajando con aurículas sin o con escasa sobrecarga de presión y/o volumen, por lo que los cambios en la expresión pueden achacarse a la FA *per se*. Existe mayor expresión de la isoforma 2 de la HSP60 y menor de la isoforma 2 de la desmina. En la práctica totalidad del resto de las proteínas persiste la tendencia a una mayor expresión (tablas 17-20). Esto apoyaría que la FA por si misma induce tanto las alteraciones anatómicas como las metabólicas, sin necesidad de un trastorno hemodinámico de base.

Estudios recientes señalan que la inflamación podría jugar algún papel en el establecimiento y perpetuación de la FA¹³¹. Un ejemplo claro es la FA tras cirugía cardíaca, donde existe un estado proinflamatorio que participa en su establecimiento. De hecho, el uso de corticoides en el perioperatorio disminuye su incidencia¹³². La inflamación produce cierto grado de miocarditis, que determina a su vez los cambios tanto electrofisiológicos como estructurales que llevan al desarrollo de la arritmia. Varios trabajos han mostrado un aumento de interleucina 6 y proteína C reactiva en los pacientes con FA, e incluso el nivel elevado de esta última es factor de riesgo independiente para el desarrollo de FA en el seguimiento¹³³. Además, los pacientes con FA permanente tienen niveles más elevados de proteína C reactiva que los pacientes con FA paroxística, y a mayor nivel de la proteína, menores posibilidades de éxito de la cardioversión. Existe además asociación entre la duración de la arritmia y el tamaño de la AI con los niveles de estos dos marcadores¹³³, lo que sugiere el papel de la respuesta inflamatoria también en el remodelado auricular. Tanto los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina como las estatinas, han mostrado en distintos estudios su capacidad de disminuir la incidencia de FA en el seguimiento a través de su actividad antiinflamatoria¹³⁴⁻⁵.

Todas las proteínas relacionadas con la inflamación identificadas en nuestro estudio están sobreexpresadas en la orejuela derecha en FA al compararla con la orejuela derecha en RS. Aunque solo alcanza significación estadística la isoforma 2 de la HSP60, el resto de isoformas están al límite de la significación, que probablemente se alcanzará al aumentar el tamaño de la muestra. Las proteínas HSP (*heat shock proteins*) constituyen una familia de proteínas que participan en la defensa ante el estrés celular a través de la

inhibición de la agregación de proteínas¹³⁶. La sobreexpresión de las mismas en los pacientes en FA representaría una respuesta de la aurícula ante la agresión producida por la inflamación y la propia FA, actuando como inhibidoras del remodelado auricular. Estudios experimentales han mostrado su efecto protector frente a la inducción de FA, pudiendo incluso jugar un papel en la interrupción de la progresión de la FA paroxística a permanente. *Mandal et al*¹³⁷, al analizar el nivel de HSP en la aurícula de pacientes en RS sometidos a cirugía cardíaca, comprueban que los pacientes con mayor expresión de estas proteínas tienen menor incidencia de FA postoperatoria. Su efecto contra el remodelado eléctrico y anatómico de la aurícula se produce a través de al menos tres mecanismos: por protección directa de las proteínas contráctiles, preservando la función de los canales L del calcio e inhibiendo la calpaína, enzima que degrada las proteínas contráctiles y los canales de calcio y que se activa durante la FA como consecuencia de la sobrecarga de calcio intracelular.

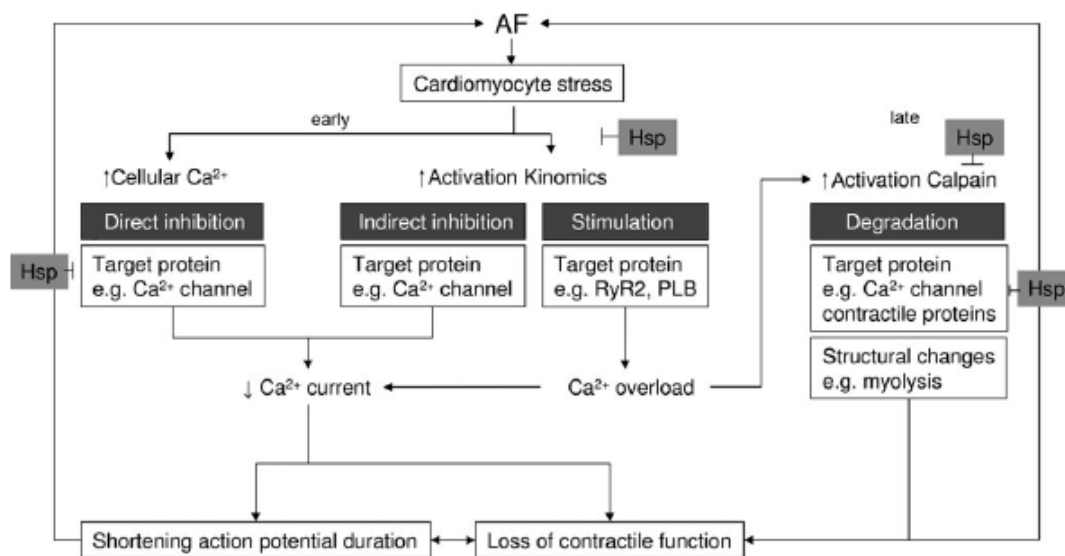


Figura 36. Remodelado auricular y papel de las HSP (*Brundel B*¹³⁶)

Todo ello está abriendo un campo de investigación en relación con la manipulación farmacológica de estas proteínas, buscando un efecto beneficioso sobre la evolución de la enfermedad y sobre la recuperación de la función contráctil auricular a través de la inducción de la sobreexpresión de las HSP. Un ejemplo es la geranil-geranil-acetona, un fármaco antiulceroso que induce la síntesis de HSP en distintos tejidos y cuyos resultados en el modelo animal están siendo esperanzadores.

5.1.4 Comparación de los cambios en la expresión proteica en la orejuela izquierda de pacientes en RS y FA.

Se ha detectado en la orejuela izquierda de los pacientes en FA una mayor expresión de proteínas del citoesqueleto (cadena beta de la tropomiosina), y relacionadas con la respuesta inflamatoria (isoforma 3 de la HSP 60), mientras que la isoforma 4 de la desmina y la isoforma 2 de la proteína 14 están disminuidas. Al igual que en la AD, existe sobreexpresión de otras muchas proteínas que aunque no alcanzan significación estadística sugieren el remodelado anatómico y funcional. Estas alteraciones tanto estructurales como funcionales más marcadas en la AI se pueden explicar no sólo por la presencia de FA. Es probable que las AIs en FA representen una enfermedad más evolucionada, con más sobrecarga de presión y/o volumen y/o mayor duración de dicha sobrecarga.

5.2 Correlación entre tamaño auricular izquierdo y expresión proteica.

Hemos encontrado correlación lineal positiva entre el tamaño auricular y la expresión de proteínas del metabolismo (piruvato deshidrogenasa, lactato deshidrogenasa, creatin kinasa) y proteínas del citoesqueleto (α actina cardiaca, isoforma 3 de la desmina y actina). Esto se puede explicar porque a mayor dilatación auricular mayor remodelado a nivel tanto estructural como metabólico.

Lo ideal sería poder separar la FA y el tamaño auricular izquierdo, pero eso es muy difícil en este subgrupo de pacientes. La dilatación auricular izquierda es el causante de la FA en ellos. Es excepcional que los pacientes con valvulopatía mitral significativa, y por lo tanto con indicación de cirugía mantengan el ritmo sinusal, por lo que la mayoría de pacientes en RS tendrán AI de tamaño normal y la mayoría de pacientes en FA la tendrán dilatada. En nuestra serie todos los pacientes en FA menos uno tenían la AI severamente dilatada (>55mm) y ningún paciente en RS tenía una aurícula mayor de 50mm.

5.3 Limitaciones del estudio.

Este trabajo debe ser considerado como un estudio piloto que muestra cómo la proteómica puede ser una técnica útil para identificar cambios en la expresión de diferentes proteínas y conocer más en profundidad sobre los cambios moleculares inducidos en la FA.

La principal limitación del estudio es el tamaño muestra. El grupo de pacientes sometidos a cirugía cardiaca en el que la FA es más prevalente es el

de los mitrales. Esto hace que sea fácil obtener pacientes con FA pero bastante más difícil en RS.

Además al ser la dilatación auricular la norma hace que sea muy difícil separar la variable FA de la variable tamaño auricular. Sería muy interesante disponer del análisis proteómico de orejuelas izquierdas sanas en RS y de orejuelas izquierdas en FA pero sin ninguna sobrecarga hemodinámica. Esto es imposible en nuestra muestra al presentar todos los pacientes valvulopatía mitral. Para obtener un número importante de pacientes en FA con aurícula normal tendríamos que estudiar otra patología, como por ejemplo la enfermedad coronaria y así poder estudiar las alteraciones en el proteoma producidas por la FA de manera más “aislada”.

Por otra parte el número reducido de enfermos, las características semicuantitativas de muchas variables y el uso de test no paramétricos que son más “robustos”, es decir, más exigentes a la hora de encontrar diferencias significativas, aumentan la posibilidad de cometer el error estadístico tipo II: que se acepte la hipótesis nula como verdadera, esto es, que no se encuentren diferencias estadísticamente significativas cuando en realidad si existen. Esto se podría solventar aumentando el tamaño de la muestra.

6. CONCLUSIONES.

6. CONCLUSIONES.

1. Es posible realizar un análisis proteómico de los cambios en la expresión proteica de la orejuela humana en pacientes sometidos a cirugía mitral.
2. En la orejuela de los pacientes en FA hay un aumento de la expresión de diferentes isoformas proteicas relacionadas con el citoesqueleto, metabolismo y la respuesta inflamatoria.
3. El aumento de las proteínas del citoesqueleto (desmina, alfa y beta tropmiosina) estaría en relación con el remodelado anatómico inducido por los trastornos hemodinámicos y por la propia FA.
4. El aumento de determinadas enzimas sugieren un estado hipermetabólico de las orejuelas en FA con aumento de la glucosa como sustrato a través de la glicolisis.
5. El aumento de la HSP 60 indica estrés celular en las orejuelas en FA.
6. La correlación positiva del tamaño auricular izquierdo con proteínas del metabolismo (proteína reguladora de la glucosa, succinil CoA sintetasa), del citoesqueleto (α actina cardiaca, beta tropomiosina y actina), y de la respuesta inflamatoria (Isoformas 1,3 y 4 de la HSP60) señalan que a mayor tamaño auricular mayor remodelado estructural y funcional.
7. Es preciso aumentar el número de pacientes estudiados para definir mejor las alteraciones tanto histológicas como funcionales que se producen en la FA.
8. Aunque existe una relación íntima entre la sobrecarga hemodinámica, el tamaño auricular y el desarrollo de la FA, la arritmia *per se* es capaz de inducir cambios en la expresión proteica como se deduce del análisis de las orejuelas derechas sin valvulopatía tricúspide, en las que la única diferencia es la presencia o ausencia de la FA.

8. El análisis proteómico de orejuelas de pacientes en RS y FA sin sobrecarga hemodinámica auricular, podría ayudarnos a diferenciar mejor las alteraciones inducidas exclusivamente por la FA de las inducidas por el trastorno hemodinámico.

7. BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. García-Cossío F. ¿Qué es y cómo se diagnostica la fibrilación auricular ?. Rev Esp Cardiol 2007;60(2) :93-96.
2. Wise GH, Gersh BJ. Atrial fibrillation: A perspective. Thinking inside and outside the box. Circulation 2004;109:3089-95.
3. Friberg J, Buch P, Scharling H, Gadsbphioll N. Rising rates of hospital admissions for atrial fibrillation. Epidemiology 2003;14:666–72.
4. Wattigney WA, Mensah GA, Croft JB. Increasing trends in hospitalization for atrial fibrillation in the United States, 1985 through 1999: implications for primary prevention. Circulation 2003;108:711– 6.
5. Rudolf M, Lip G, Backhshi L. Atrial fibrillation. National clinical guideline for management in primary and secondary care. NICE guidelines. National Health Service. <http://www.nice.org.uk/Guidance/CG36>.
6. Calkins H, Brugada J, Packer DL. HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation:Recommendations for Personnel, Policy, Procedures and Follow-Up. Europace 2007;9:335-79.

7. Go AS, Hylek EM, Philips KA, Chang YC, Renault LE, Selby JV, Singer DE. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults. National implications for rhythm management and stroke prevention: The anticoagulation and risk factors in atrial fibrillation (ATRIA) study. *JAMA* 2001;285:2370-5.
8. Miyasaka Y, Barnes ME, Gersh BJ et al. Secular trends in incidence of atrial fibrillation in Olmsted County, Minnesota, 1980 to 2000, and implications on the projections for future prevalence. *Circulation* 2006;114:119-25.
9. Fuster V, Rydén LE, Cannom DS. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:854-906.
10. Ruo B, Capra AM, Jensvold NG. Racial variation in the prevalence of atrial fibrillation among patients with heart failure: the Epidemiology, Practice, Outcomes, and Costs of Heart Failure (EPOCH) study. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:429–35.
11. Evans W, Swann P. Lone auricular fibrillation. *Br Heart J* 1954;16:194.
12. Brand FN, Abbott RD, Kannel WB. Characteristics and prognosis of lone atrial fibrillation. 30-year follow-up in the Framingham Study. *JAMA* 1985;254:3449–53.

13. Levy S, Maarek M, Coumel P. Characterization of different subsets of atrial fibrillation in general practice in France: the ALFA study. The College of French Cardiologists. *Circulation* 1999;99:3028–35.
14. Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB. Impact of atrial fibrillation on the risk of death. The Framingham heart study. *Circulation* 1998;98:946-52.
15. Wolf PA, Abbot RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham study. *Stroke* 1991;22:983-8.
16. Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Arch Intern Med* 1995;155:469–73.
17. Flegel KM, Shipley MJ, Rose G. Risk of stroke in non-rheumatic atrial fibrillation [published erratum appears in *Lancet* 1987;1:878]. *Lancet* 1987;1:526–9.
18. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 1991;22:983–8.
19. Hart RG, Halperin JL. Atrial fibrillation and thromboembolism: a decade of progress in stroke prevention. *Ann Intern Med* 1999;131: 688–95.

20. Feinberg WM, Seeger JF, Carmody RF. Epidemiologic features of asymptomatic cerebral infarction in patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Arch Intern Med* 1990;150:2340–4.
21. Kempster PA, Gerraty RP, Gates PC. Asymptomatic cerebral Infarction in patients with chronic atrial fibrillation. *Stroke* 1988;19:955–7.
22. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Study. Final results. *Circulation* 1991;84:527–39.
23. Petersen P, Madsen EB, Brun B. Silent cerebral infarction in chronic atrial fibrillation. *Stroke* 1987;18:1098 –100.
24. Wolf PA, Dawber TR, Thomas HE Jr. Epidemiologic assessment of chronic atrial fibrillation and risk of stroke: the Framingham study. *Neurology* 1978;28:973–7.
25. Kopecky SL, Gersh BJ, McGoon MD. The natural history of lone atrial fibrillation. A population-based study over three decades. *N Engl J Med* 1987;317:669 –74.
26. Feinberg WM, Cornell ES, Nightingale SD. Relationship between prothrombin activation fragment F1.2 and international normalized ratio in patients with atrial fibrillation. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. *Stroke* 1997;28:1101– 6.

27. Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH. Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. *Circulation* 1997;96:2455– 61.
28. Hart RG, Benavente O, McBride R, Pearce LA. Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients with atrial fibrillation: a meta analysis. *Ann Intern Med* 1999;31:492-501.
29. Prasad SM, Maniar HS, Camillo CJ, Schuessler RB, Boineau JP, Sundt TM, Cox JL, Damiano RJ. The Cox maze procedure for atrial fibrillation: Long-term efficacy in patients undergoing lone versus concomitant procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126:1822-8.
30. Sánchez-Quintana D, Yen Ho S. Anatomía de los nodos cardiacos y del sistema de conducción específico auriculoventricular. *Rev Esp Cardiol* 2003;56(11):1085-92.
31. Armour JA, Murphy DA, Yuan BX, McDonald S, Hopkins DA. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *The Anatomical Record* 1997;247:289-98.
32. Chen PS, Tan AY. Autonomic nerve activity and atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2007;4 (3 Suppl):61-4.
33. Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* 2002;415:219-26.

34. Bharti S, Lev M. Histology of the normal and diseased atrium. In: Fall RH, Podrid PJ, editors. *Atrial Fibrillation: Mechanism and Management*. New York: Raven Press, 1992:15–39.
35. Bailey GW, Braniff BA, Hancock EW. Relation of left atrial pathology to atrial fibrillation in mitral valvular disease. *Ann Intern Med* 1968;69:13–20.
36. Xu J, Cui G, Esmailian F. Atrial extracellular matrix remodelling and the maintenance of atrial fibrillation. *Circulation* 2004;109:363– 8.
37. Aime-Sempe C, Folliguet T, Rucker-Martin C. Myocardial cell death in fibrillating and dilated human right atria. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:1577– 86.
38. Polontchouk L, Haefliger JA, Ebel B. Effects of chronic atrial fibrillation on gap junction distribution in human and rat atria. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:883– 91.
39. Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer of atrial fibrillation. *Am Heart J* 1964;67:200-220.
40. Allesie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen J. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J, editors. *Cardiac electrophysiology and arrhythmias*. New York: Grune & Stratton;1985.p. 265-275.

41. Haissaguerre M, Jais P, Shah DC. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998;339:659-66.

42. Mandapati R, Skanes A, Chen J, Berenfeld O, Jalife J. Stable microreentrant sources as a mechanism of atrial fibrillation in the isolated sheep heart. *Circulation* 2000;101:194-9.

43. Casaclang-Verzosa G, Gersh BJ, Tsang TSM. Structural and functional remodeling of the left atrium. *J Am Coll Cardiol* 2008;51(1):1-11.

44. Sherman DG. Stroke prevention in atrial fibrillation: pharmacological rate versus rhythm control. *Stroke* 2007;38:197-202.

45. Corley SD, Epstein AE, DiMarco JP. Relationships between sinus rhythm, treatment, and survival in the Atrial Fibrillation Follow-up Investigation of Rhythm Management (AFFIRM) study. *Circulation* 2004;110:1509-13.

46. Cristal E, Connolly SJ. Role of oral anticoagulation in management of atrial fibrillation. *Heart* 2004;90:813-7.

47. Mary-Rabine L, Albert A, Pham TD. The relationship of human atrial cellular electrophysiology to clinical function and ultrastructure. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart

failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. N Engl J Med 1992;327:685–91.

48. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. N Engl J Med 1991;325:293–302.

49. Massie BM, Fisher SG, Deedwania PC, for the CHF-STAT Investigators. Effect of amiodarone on clinical status and left ventricular function in patients with congestive heart failure. Circulation 1996;93: 2128–34.

50. MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). Lancet 1999;353:2001–7.

51. Vermes E, Tardif JC, Bourassa MG. Enalapril decreases the incidence of atrial fibrillation in patients with left ventricular dysfunction: insight from the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trials. Circulation 2003;107:2926–31.

52. Madrid AH, Bueno MG, Rebollo JM. Use of irbesartan to maintain sinus rhythm in patients with long-lasting persistent atrial fibrillation: a prospective and randomized study. Circulation 2002;106:331–6.

53. Maggioni AP, Latini R, Carson PE. Valsartan reduces the incidence of atrial fibrillation in patients with heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Am Heart J* 2005;149: 548–57.

54. L'Allier PL, Ducharme A, Keller PF. Angiotensin-converting enzyme inhibition in hypertensive patients is associated with a reduction in the occurrence of atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2004;44: 159–64.

55. Healey JS, Baranchuk A, Crystal E. Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1832–9.

56. Hansson L, Lindholm LH, Ekblom T. Randomised trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity the Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. *Lancet* 1999;354:1751– 6.

57. Hansson L, Lindholm LH, Niskanen L. Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomised trial. *Lancet* 1999;353:611– 6.

58. Marchlinsky FE, Callans D, Dixit S. Efficacy and safety of targeted focal ablation versus PV isolation assisted by magnetic electroanatomic mappings. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003-14:358-65

59. Pappone C, Rosanio S, Oreto G. Circunferencial radiofrequency ablation of pulmonary vein ostia: A new anatomic approach for curing atrial fibrillation. *Circulation* 2000;102:2619-28.

60. Nademanee K, McKenzie J, Kosar E. A new approach for catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:2044-53.

61. Williams JM, Ungerleider RM, Lofland GK, Cox JL. Left atrial isolation: new technique for the treatment of supraventricular arrhythmias. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980;80:373.

62. Gallagher JJ, Svenson RH, Kasell JH. Catheter technique for closed chest ablation of the atrioventricular conduction system. *N Engl J Med* 1982;306:194.

63. Guiraudon GM, Campbell CS, Jones DL. Combined sino-atrial node atrioventricular node isolation: a surgical alternative to His bundle ablation in patients with atrial fibrillation. *Circulation* 1985;72(suppl 3):22.

64. Smith PK, Holman WL, Cox JL. Surgical treatment of supraventricular tachyarrhythmias. *Surg Clin North Am* 1985;65:553.

65. Cox JL, Canavan TE, Schuessler RB. The surgical treatment of atrial fibrillation, II: intraoperative electrophysiologic mapping and description of the

electrophysiologic basis of atrial flutter and atrial fibrillation. J Thorac Cardiovasc Surg 1991;101:406.

66. Cox JL, Jaquiss RD, Schuessler RB, Boineau JP. Modification of the Maze procedure for atrial flutter and atrial fibrillation, II: surgical technique of the maze III procedure. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:485.

67. Cox JL. Surgical treatment of supraventricular tachyarrhythmias. In Cardiac Surgery in the Adult. Eds Lawrence H Cohn & Henry Edmunds Jr. McGraw-Hill 2003.

68. Hornero F, Rodríguez I, Buendía J. Atrial remodelling alter mitral valve surgery in patients with permanent atrial fibrillation. J Card Surg 2004;19:376-82.

69. Prasad SM, Maniar HS, Camillo CJ. The Cox-Maze procedure for atrial fibrillation: Long-term efficacy in patients undergoing lone versus concomitant procedures. J Thorac Cardiovasc Surg 2003;126:1822-8.

70. Gaynor SL, Schessler RB, Bailey LS. Surgical treatment of atrial fibrillation: Predictors of late recurrence. J Thorac Cardiovasc Surg 2005;129:104-11.

71. McCarthy PM, Guillinov MA, Castle L, Chung M, Cosgrove D. The Cox-Maze procedure: the Cleveland Clinic experience. Sem Thorac Cardiovasc Surg 2000;12:25-9.

72.Schaff HV, Dearani JA, Daly RC, Orszulak TA, Danielson GK. Cox-Maze procedure for atrial fibrillation: Mayo Clinic Experience. *Sem Thorac Cardiovasc Surg* 200;12:30-7.

73.Yashima N, Nasu M, Kawazoe K, Hiramori K. Serial evaluation of atrial function by Doppler echocardiography after the maze procedure for chronic atrial fibrillation. *Eur Heart J* 1997;18:496-502.

74. Bando K, Kobayashi J, Kosakai Y, Hirata M, Sasako Y, Nakatani S. Impact of Cox maze procedure on outcome in patients with atrial fibrillation and mitral valve disease.. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:575-83.

75. Bando K, Kasegawa H, Okada Y. Impact of preoperative and postoperative atrial fibrillation on outcome after mitral valvuloplasty for non-ischemic mitral regurgitation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:1032-40.

76. Reston JT, Shuihaiber JH. Meta-analysis of clinical outcomes of maze-related surgical procedures for medically refractory atrial fibrillation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;28:724-30.

77. Bando K, Kobayashi J, Hirata M. Early and late stroke after mitral valve replacement with a mechanical prótesis: risk factor análisis of a 24-year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:358-64.

78. Itoh A, Bando K, Niwaya K, Tagusari O, Nakajima H, Komori S. The impact of mitral valve surgery combined with maze procedure. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;29:1030-35.

79. Nitta T, Lee R, Schuessler RB, Boineau JP, Cox JL. Radial approach :A new concept in surgical treatment of atrial fibrillation I. Concept, anatomic and physiologic bases and development of a procedure. *Ann Thorac Surg* 1999;67:27-35.

80. Guillinov AM. Choice of surgical lesion set: Answers from the data. *Ann Thorac Surg* 2007;84:1786-92.

81. Cox JL. Atrial fibrillation: Rationale for surgical treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1693-9.

82. Barnett SD, Ad N. Surgical ablation as treatment for the elimination of atrial fibrillation: A meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:1029-35.

83. Golovchiner G, Mazur A, Kogan A, Strasberg B, Shaphira Y, Fridman M. Atrial flutter after surgical radiofrequency ablation of the left atrium for atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2005;79:108-12.

84. Stöllberger C, Schneider B, Finsterer J. Elimination of the left atrial appendage to prevent stroke or embolism. *Chest* 2003;124:2356-62.

85. Kanderian AS, Guillinov AM, Pettersson GB, Blackstone E, Klein AL. Successful of surgical left atrial appendage closure. J Am Coll Cardiol 2008;52:924-9.

86. Kim DT, Lai AC, Hwang Ch. The ligament of Marshall: A structural analysis in human hearts with implications for atrial arrhythmias. J Am Coll Cardiol 2000;36:1324-7.

87. Williams MR, Garrido M, Oz MC, Argenziano M. Alternative energy sources for surgical atrial ablation. J Card Surg 2004;19:201-6.

88. Gillinov AM, Blackstone EH, McCarthy PM. Atrial fibrillation: Current surgical options and their assessment. Ann Thorac Surg 2002;74:2210-7.

89. Santiago T, Melo J, Gouveia RH, Neves J, Martins AP. Intra-atrial temperatures in radiofrequency endocardial ablation: Histologic evaluation of lesions. Ann Thorac Surg 2003;75:1495-501.

90. Thomas S, Guy D, Boyd AC, Eipper VE, Ross DL, Chard RB. Comparison of epicardial and endocardial linear ablation using hand held probes. Ann Thorac Surg 2003;75:543-8.

91. Shimoike E, Kaji Y, Ueda N, Maruyama T, Kanaya S, Niho Y. In vivo and in Vitro study of radiofrequency application with a new long linear probe: implication for the maze operation. J Thorac Cardiovasc Surg 2000;120:164-72.

92. Prasad SM, Maniar HS, Schuessler RB, Damiano RJ. Chronic transmural atrial ablation by using bipolar radiofrequency energy on the beating heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:708-13.
93. Bonanomi G, Schwarzmann D, Francischelli D, Hebsgaard K, Zenati MA. A new device for beating heart bipolar radiofrequency atrial ablation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1859-66.
94. Lustgarten DL, Kean D, Ruskin J. Cryothermal ablation: Mechanism of tissue injury and current experience in the treatment of tachyarrhythmias. *Progress in Cardiovascular Disease* 1999;41:481-98.
95. Manasse E, Colombo PG, Barbone A, Braidotti P, Bulfamante G, Roncalli M, Gallotti R. Clinical histopathology and ultra structural analysis of myocardium following microwave energy ablation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23:573-7.
96. Benussi S, Nascimbene S, Calvi S. A tailored approach to prevent complications during left atrial ablation. *Ann Thorac Surg* 2003;75:1979-81.
97. Gillinov M, Peterson G, Rice TH. Esophageal injury during radiofrequency ablation for atrial fibrillation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:1239-40.

98. Aupperle H, Doll N, Walther Th, Kornherr P, Ullmann C, Schoon HA. Ablation of atrial fibrillation end esophageal injury: Effects of energy source and ablation technique. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:1549-54.
99. Garrido MJ, Williams M, Argenziano M. Minimally invasive surgery for atrial fibrillation. *J Card Surg* 2004;19:216-20.
100. Pruitt JC, Lazzara RR, Dworkin GH. Totally endoscopic ablation of lone atrial fibrillation: Initial clinical experience. *Ann Thorac Surg* 2006;81:1325-31.
101. Wolf RK, Schneeberger EW, Osterday R. Video-assisted bilateral pulmonary vein isolation and left atrial appendage exclusion for atrial fibrillation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:797-802.
102. Sie HT, Beukema WP, Elvan A, Misier ARR. Long-term results of irrigated radiofrequency modified maze procedure in 200 patients with concomitant cardiac surgery: six years experience. *Ann Thorac Surg* 2004;77:512-7.
103. Hornero F, Montero JA, Rodríguez I, Bueno M, Buendía J, Gil O. Ablación de la fibrilación auricular permanente en la cirugía cardiaca. Resultados a corto y medio plazo. *Rev Esp Cardiol* 2004;57:939-45.
104. Gillinov AM, McCarthy P, Blackstone EH, Rajeswaran J, Petterson G, Sabik JF. Surgical ablation of atrial fibrillation with bipolar radiofrequency as the primary modality. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:1322-9.

105. Benussi S, Nascimbene S, Calori G, Denti P, Ziskind Z, KAssem S. Surgical ablation of atrial fibrillation with a novel bipolar radiofrequency device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:491-7.
106. Knaut M, Tugtekin SM, Matschke K. Pulmonary vein isolation by microwave energy ablation in patients with permanent atrial fibrillation. *J Card Surg* 2004;19:211-5.
107. Mack ChA, Milla F, Ko W, Girardi LN, Lee LY, Tortolani AJ. Surgical treatment of atrial fibrillation using argon-based cryoablation during concomitant cardiac procedures. *Circulation* 2005;112(Suppl I):1-6.
108. Ninet J, Roques X, Seitelberger R, Deville C, Pomar JL, Robin J. Surgical ablation of atrial fibrillation with off-pump, epicardial, high-intensity focused ultrasound: Results of a multicenter trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:803-9.
109. Khargi K, Hutten BA, Lemke B, Deneke T. Surgical treatment of atrial fibrillation; a systematic review. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;27:258-65.
110. Lall SC, Melby SJ, Voeller RK et al. The effect of ablation technology on surgical outcomes after the Cox-maze procedure: A propensity analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133:389-96.

111. Shemin RJ, Cox JL, Guillinov AM, Blackstone EH, Bridges CR. Guidelines for reporting data and outcomes for the surgical treatment of atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2007;83:1225-30.

112. O'Farrell, P.H. Two dimensional electrophoresis. *J Biol Chem* 1975; 250,4007-21.

113. Bravo R, Celis JE (Eds), Two-Dimensional Gel Electrophoresis of Proteins, Academic Press, Orlando, FL, USA, 1984.

114. Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis*. 1995; 16(7): 1090-4.

115. Anderson NG, Anderson NL. Twenty years of two-dimensional electrophoresis: past, present and future. *Electrophoresis* 1996; 17: 443-53.

116. Bauw G, Van Damme J, Puype M. Protein-electroblotting and microsequencing strategies in generating protein data bases from two dimensional gels. *Proc Natl Acad Sci.USA*. 1989; 86: 7701-05.

117. Edman P. A method for the determination of the amino acid séquence of peptides. *Arch Biochem Biophys*. 1989; 22: 475-83.

118. Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 2000; 405: 837-46.
119. L Anderson, J Seilhamer. A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver. *Electrophoresis* (18); 1997: 533-7.
120. SP Gygi, Y Rochon, BR Franza, R Aebersold. Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. *Mol Cell Biol.* 1999; 19: 1720-30.
121. Blackstock WP, Weir MP. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends Biotechnol.* 1999; 17: 121-27.
122. Bjellqvist B, Pasquali C, Ravier F, Sánchez JC, Hochstrasser D. A nonlinear wide-range immobilized pH gradient for two dimensional electrophoresis and its definition in a relevant pH scale. *Electrophoresis.* 1993; 14: 1357-65.
123. Andersen JS, Mann M. Functional proteomics by mass spectrometry. *FEBS Lett.* 2000; 480: 25-31.
124. Arnott D, O'Connell KL, King KL. An integrated approach to proteome analysis: identification of proteins associated with cardiac hypertrophy. *Anal Biochem* 1998; 258: 1-18.

125. Toraason M, Moorman W, Mathias PI. Two-dimensional electrophoresis analysis proteins from lead-exposed rabbits. *Electrophoresis* 1997; 18: 2978-82.
126. Soskic V, Gorlach M, Poznanovic S. Functional proteomics analysis of signal transduction pathways of the platelet-derived growth factor beta receptor. *Biochemistry* 1999; 38:1757-64.
127. Mayr M, Yusuf S, Weir G. Combined metabolomic and proteomic analysis of human atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:585-94.
128. Doenst T, Bugger H, Schwarzer M. Three good reasons for heart surgeons to understand cardiac metabolism. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;33:862-71.
129. Smetnev AS, Bunin IA, Nargizian AB. Characteristics of lactate metabolism in the myocardium of patients with auricular fibrillation. *Kardiologia* 1983;23:70-73.
130. Mihm MJ, Yu F, Carnes CA. Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation* 2001;104:174-80.
131. Issac TT, Dokainish H, Lakkis NM. Role of inflammation in initiation and perpetuation of atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2021-8.
132. Halonen J, Halonen P, Järvinen O, Taskinen P, Auvinen T, Tarkka M, Hippeläinen M, Juvonen T, Hartikainen J, Hakala T. Corticosteroids for the

prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007;297:1562-7.

133. Psychari S, Apostolou T. Relation of elevated C-reactive protein and interleukin-6 levels to left atrial size and duration of episodes in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2005;95:764-7.

134. Dernellis J, Panaretou M. Effect of C-reactive protein reduction on paroxysmal atrial fibrillation. *Am Heart J* 2005;150:1064.

135. Ueng K, Tsai T, Yu W. Use of enalapril to facilitate sinus rhythm maintenance after external cardioversion of long-standing persistent atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2003;24:2090-8.

136. Brundel B, Dijkhuis AJ, Qi X, Shiroshita-Takeshita A, Nattel S, Henning RH, Kampinga HH. Heat shock proteins as molecular targets for intervention in atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2008;78:422-8.

137. Mandal K, Torsney E, Poloniecki J, Camm AJ, Xu Q, Jahangiri M. Association of high intracellular, but not serum, heat shock protein 70 with postoperative atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2005;79:865-71.

8. ANEXO

ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MUESTRAS QUIRÚRGICAS

Don/Doña.....da

su consentimiento para donar de forma voluntaria, con el fin de realizar investigación, al Banco de Muestras del Instituto Cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos, el excedente de tejido obtenido de la intervención quirúrgica a la que va a ser sometido. En todo momento, el personal del Banco de Muestras del Instituto Cardiovascular se compromete a salvaguardar la confidencialidad y anonimato de los datos, cumpliendo con lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal (artículo 7º). La información que se obtenga de sus investigaciones, solo tendrá acceso el personal del Banco de Muestras , además de sus médicos. La investigación que se realizará con sus muestras será la búsqueda de proteínas que puedan servir para el seguimiento de las patologías cardiovasculares y para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas. En los resultados de dichas investigaciones y sus publicaciones no aparecerá reflejado ningún dato que haga referencia a datos del paciente. En cualquier momento usted podrá pedir que se retiren sus muestras del Banco.

ANEXO II: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

PROTEÓMICA OREJUELAS

Filiación

nº Historia:

Nombre:

Edad:

Sexo:

Categoría

Patología de base:

Ritmo:

Tipo FA:

tiempo FA:

Factores de riesgo

HTA:

Hipercolest:

DM:

Patol.vascular:

Fumador:

EPOC:

Patología

Pat.mitral:

Pat.Aórtica:

Pat.Tricúspide:

Etiología:

nºvasos:

FE:

PSAP:

Cirugía previa:

Tamaño AI:

EuroScore:

Medicación:

Anticoags:

Antilipémicos:

InhECA:

Digoxina:

Betabloqs:

Diuréticos:

Antiarrítmicos:

Calcioantag: