



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

## **TESIS DOCTORAL**

# **INFLUENCIA DE LAS VARIANTES GENÉTICAS Y GENÓMICAS MITOCONDRIALES Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA HOMEOSTASIS DEL CALCIO: RELACIÓN CON LA FISIOPATOGENIA DE LA FIBRILACIÓN AURICULAR TRAS CIRUGÍA CARDIACA.**

Trabajo realizado para optar al grado de Doctor por:

Elena Roselló Díez

Barcelona, 2017

### **DIRECTORES**

Vicenç Artigas Raventós  
Josep María Padró Fernández  
Christian Muñoz-Guijosa

### **TUTOR**

Vicenç Artigas Raventós





Universitat Autònoma  
de Barcelona

## Departament de Cirurgia

**Vicenç Artigas Raventós**, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universitat Autònoma de Barcelona, profesor titular del Departamento de Cirugía, especialista en Cirugía General y Digestiva y Director de la Unidad de Cirugía Hepatobiliopancreática y Oncológica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

**Josep M<sup>a</sup> Padró Fernández**, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universitat Autònoma de Barcelona, profesor asociado del Departamento de Cirugía, Jefe de Cirugía Cardíaca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

**Christian Muñoz-Guijosa**, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universitat Autònoma de Barcelona, y especialista en Cirugía Cardíaca del Hospital 12 de Octubre, Madrid

### CERTIFICAN

Que la tesis titulada "**INFLUENCIA DE LAS VARIANTES GENÉTICAS Y GENÓMICAS MITOCONDRIALES Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA HOMEOSTASIA DEL CALCIO. RELACIÓN CON LA FISIOPATOGENIA DE LA FIBRILACIÓN AURICULAR TRAS CIRUGÍA CARDIACA**", de la que es autora la licenciada Elena Roselló Díez, ha sido realizado bajo nuestra dirección y está en condiciones de ser presentada para su lectura y defensa delante del Tribunal correspondiente para la obtención del grado de Doctor.

Barcelona, 19 de Septiembre de 2017

**Vicenç Artigas Raventós**  
(Director y Tutor)

**Josep M<sup>a</sup> Padró Fernández**  
(Director)

**Christian Muñoz-Guijosa**  
(Director)







A mi familia y a Gabriel





## AGRADECIMIENTOS

---



Lo primero y más importante que quiero recalcar es mi gratitud a todos aquellos que de alguna manera han participado en esta tesis.

Quiere agradecer a todo el equipo de Cirugía Cardíaca del Hospital de Sant Pau su colaboración en la recogida de muestras. Los cirujanos: Josep María, Christian (cuando aún trabajaba en Sant Pau), Nino, Pepe, Manel y Sandra. El personal de enfermería de los Quirófanos 9 y 10: las veteranas (Pilar, Roser, Núria Poch, Mati); las nuevas, ya no tan novatas (Elma, Amalia, Cata, Núria Duran); y las “ex-cardíacas” (Lucía, Tere López, Anabel). También a los “perfus”: Cris, José, Mariona, Laura; y las que ya disfrutaban de la jubilación: Angels, Ana y Rosa (el formato de la “Hoja de recogida de datos”, ¡fue idea de Rosa!). Por supuesto, los “Resis”, tanto los antiguos que ya no están en Sant Pau (Ignasi, Óscar, Edu) y los nuevos (Pedro y Valentina); su participación en la recogida de datos en el “Paaaaaaaalex Data” ha sido muy importante para poder desarrollar esta tesis.

Mi más sincero agradecimiento a Leif, el Dr. Hove-Madsen, y su equipo del Grupo de ritmo y contracción cardíaca del CSIC-ICCC (Adela, Carmen), que fueron los responsables de acudir al quirófano para recoger las muestras extraídas, transportarlas al Laboratorio y prepararlas para su conservación en la Colección. Su trabajo fue imprescindible para este estudio.

Asimismo, quiero agradecer al equipo de mi tocaya en Logroño, la Dra. Elena Domínguez Garrido, y a su equipo de la Unidad de Diagnóstico Molecular de la Fundación Rioja Salud, por hacer posible los análisis mitocondriales. Sin su colaboración y ayuda, este proyecto no se podría haber llevado a cabo. Elena, tus aportaciones e ideas han sido básicas.

Gracias también a los directores de la tesis (Dr. Padró, Dr. Muñoz y Dr. Artigas), por su apoyo desde el inicio y que me han orientado en la escritura y formato.

Quiero dar las gracias también a mi familia. A mi madre, porque fuiste mi fuente de inspiración (sin saberlo) en el mundo de la mitocondria y me ayudaste a entender sus complejos mecanismos; tus consejos y contribuciones han sido de gran valor para mí. A mi padre, por tu apoyo incondicional a todas mis aspiraciones. Y a mi hermano, porque siempre has sido y serás mi ejemplo a seguir, por la persistencia y constancia para conseguir tus metas.

No me olvido de mis amigas de toda la vida, Bea, Patri y Blanca, que aun sin saber del tema (“¡¡La mito-... qué?!!) siempre me habéis apoyado en todo. Mis amigas de la carrera, Vicky, Jessi, Delia, Sandra y Vero, que me habéis escuchado y animado en las frustraciones. Mis “co-R” de Barcelona: Vicky la pediatra (tú repites de grupo); las cirujanas, Bea y Aurora; las otorrino, Paulina y María; hemos pasado juntas muchos

buenos momentos y hemos (sobre)vivido a la residencia y a la búsqueda de un trabajo “estable”. Algunas de vosotras ya sabéis qué “engorro” es esto del doctorado.

Y por último, quiero agradecer a Gabriel su paciencia y comprensión en los largos días de trabajo (en los que yo a veces era un “ente ausente”) que he invertido en esta tesis. Te doy las gracias por animarme a continuar hasta en los momentos más difíciles. Así, hemos conseguido llegar juntos al final de este proyecto; final feliz, por cierto, ya que ha venido acompañado con la alegría de saber que pronto seremos uno más.

Con todo mi corazón,

¡Gracias!

## ABREVIATURAS

---



**ABREVIATURAS**

<b>AAS</b>	Ácido acetil salicílico		portein kinasa II
<b>ACas</b>	Antagonistas del calcio	<b>CCS</b>	<i>Canadian Cardiovascular Society</i>
<b>ACOs</b>	Anticoagulantes orales		
<b>ACV</b>	Accidente cerebrovascular	<b>CDF</b>	<i>Calcium-dependent facilitation</i>
<b>AD</b>	Aurícula derecha	<b>CEC</b>	Circulación extracorpórea
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico	<b>CIBIR</b>	Centro de Investigación Biomédica de La Rioja
<b>ADP</b>	Adenosín-difosfato	<b>Ct</b>	<i>Cycle threshold</i>
<b>AI</b>	Aurícula izquierda	<b>CSIC</b>	Centro Superior de Investigaciones Cardiovasculares
<b>AIT</b>	Accidente isquémico transitorio	<b>CyP-D</b>	Ciclofilina D
<b>AKIN</b>	<i>Acute Kidney Injury network</i>	<b>DAD</b>	<i>Delayed after-depolarisation</i>
<b>AMPc</b>	Adenosin monofosfato cíclico	<b>dAI</b>	Diámetro de aurícula izquierda
<b>ANT</b>	Adenine nucleotid transporter	<b>DS</b>	Desviación estándar
<b>ARA II</b>	Antagonistas del receptor II de angiotensina	<b>DTDVI</b>	Diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico	<b>EAD</b>	<i>Early after-depolarisation</i>
<b>ARNr</b>	ARN ribosomal	<b>EAP</b>	Edema agudo de pulmón
<b>ARNt</b>	ARN de transferencia	<b>ECG</b>	Electrocardiograma
<b>ATP</b>	Adenosin trifosfato	<b>EPOC</b>	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
<b>AUC</b>	<i>Area Under the Curve</i>	<b>ERC</b>	Enfermedad renal crónica
<b>AV</b>	Aurículo-ventricular	<b>FA</b>	Fibrilación auricular
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio	<b>FAD</b>	Flavín-adenosín-dinucleótido
<b>CaMKII</b>	Calcio-Calmodulina		



<b>FAPC</b>	Fibrilación auricular postoperatoria cardiaca		<i>Investigacions Cardiovasculars</i>
<b>FEVI</b>	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo	<b>IECAs</b>	Inhibidores de la enzima convertora de angiotensina
<b>FMN</b>	Flavín-mononucleótido		
<b>FRS</b>	Fundación Rioja Salud	<b>IL</b>	Interleuquina
<b>GAPDH</b>	Gliceraldehído 3P- Deshidrogenasa	<b>INCX</b>	Corriente de entrada a través del NCX
<b>GC</b>	Gasto cardiaco	<b>INR</b>	<i>International Normalized Ratio</i>
<b>GTP</b>	Guanosin trifosfato	<b>IOT</b>	Intubación orotraqueal
<b>GTPasa</b>	Guanosin trifosfatasa	<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol tri-fosfato
<b>H<sup>+</sup></b>	Ión hidrógeno, protón	<b>IP<sub>3</sub>R</b>	IReceptor del inositol tri-fosfato
<b>HDAC</b>	Histona-deacetilasa		
<b>HDFVVC</b>	Hemodiafiltración vena-vena continua	<b>IQR</b>	Interquartile range (rango intercuartílico)
<b>HH</b>	Haz de His	<b>IRA</b>	Insuficiencia renal aguda
<b>HSCSP</b>	<i>Hospital de la Santa Creu i Sant Pau</i>	<b>K<sup>+</sup></b>	Potasio
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial	<b>LF</b>	<i>Long fragment</i>
<b>HV</b>	<i>Hypervariable region</i>	<b>lpm</b>	Latidos por minuto
<b>IAM</b>	Infarto agudo de miocardio	<b>MCP</b>	Marcapasos
<b>IC</b>	Intervalo de confianza	<b>MEF2</b>	Factor estimulador del miocito 2
<b>InC</b>	Índice cardiaco	<b>MnSOD</b>	Manganeso Superóxido dismutasa
<b>I<sub>CaL</sub></b>	Corriente de entrada de calcio a través de los canales tipo-L	<b>mPTP</b>	Mitochondrial permeability transition pore
<b>I<sub>CaT</sub></b>	Corriente de entrada de calcio a través de los canales tipo-T	<b>MsrA</b>	Metionin-sulfóxido reductasa A
<b>ICCC</b>	<i>Institut Catalá de</i>	<b>mt</b>	Mitochondrial

<b>Na<sup>+</sup></b>	Sodio	<b>r</b>	<i>Coefficiente de correlación de Pearson</i>
<b>NCX</b>	Intercambiador Na <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup>		
<b>nm</b>	Nanómetro	<b>RFLP</b>	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
<b>NO</b>	<i>Nitric oxid</i>	<b>ROC</b>	<i>Receiving Operator Characteristics</i>
<b>NOX</b>	NADPH oxidasa		
<b>NYHA</b>	<i>New York Heart Association</i>	<b>ROS</b>	<i>Reactive Oxygen Species</i>
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>	<b>RS</b>	Ritmo sinusal
<b>pA</b>	PicoAmperio	<b>RtS</b>	Retículo sarcoplásmico
<b>PA</b>	Potencial de acción	<b>RyR</b>	Receptor de ryanodina
<b>PCP</b>	Presión capilar pulmonar	<b>SA</b>	Sino-auricular
<b>PCR</b>	<i>Polymerasa Chain Reaction</i>	<b>SBGC</b>	Síndrome de bajo gasto cardiaco
<b>pF</b>	PicoFarad	<b>SERCA</b>	<i>Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum calcium-ATPase</i>
<b>Pi</b>	Ión fosfato		
<b>PKA</b>	Protein kinasa A	<b>SF</b>	<i>Short fragment</i>
<b>PKC</b>	Protein kinasa C	<b>SNP</b>	<i>Single nucleotid polymorphism</i>
<b>PL</b>	Fosfolípidos		
<b>PLB</b>	Fosfolambán	<b>SIV</b>	Septo interventricular
<b>PP1</b>	Protein-fosfatasa 1	<b>T<sub>3</sub></b>	Tirotropina
<b>PRE</b>	Potencial refractario efectivo	<b>T-E</b>	Trombo-embólico
<b>PRR</b>	Potencial refractario relativo	<b>TnC</b>	Troponina C
<b>PRT</b>	Potencial de reposo transmembrana	<b>TNF</b>	<i>Tumoral necrotic factor</i>
<b>PUFA</b>	<i>Poly-unsaturated fatty acids</i>	<b>UCI</b>	Unidad de Cuidados Intensivos
<b>Q</b>	Coenzima Q = Ubiquinona	<b>VDAC</b>	Voltage-dependent anion channel
		<b>VIH</b>	Virus de la Inmunodeficiencia Human

<b>VS</b>	Volumen sistólico	<b>μm</b>	Micras
<b>VTDVI</b>	Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo		

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

---



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN/SUMMARY .....</b>	<b>17</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN: .....</b>	<b>21</b>
<b>I.1. Ritmo cardiaco normal .....</b>	<b>23</b>
I.1.a. Sistema de conducción del corazón .....	23
I.1.b. Fisiología de la actividad eléctrica cardiaca.....	24
I.1.c. Ritmo sinusal y Electrocardiograma.....	26
<b>I.2. Homeostasis intracelular del calcio y Contracción miocárdica .....</b>	<b>27</b>
I.2.a. La célula miocárdica.....	27
I.2.b. El papel del calcio en la contracción miocárdica .....	28
I.2.c. Homeostasis intracelular del calcio.....	30
<b>I.3. Fibrilación auricular: .....</b>	<b>33</b>
I.3.a. Concepto.....	33
I.3.b. Diagnóstico.....	33
I.3.c. Epidemiología .....	34
I.3.d. Tipos de Fibrilación auricular .....	34
I.3.e. Implicaciones clínico-sanitarias.....	35
I.3.f. Patologías asociadas.....	36
I.3.g. Fisiopatogenia.....	37
<b>I.4. Mitocondria y Fibrilación auricular: .....</b>	<b>41</b>
I.4.a. Descripción de la mitocondria .....	41
I.4.b. Sistema OXPHOS .....	42
I.4.c. Genoma mitocondrial .....	43
I.4.d. Haplogrupos y subhaplogrupos mitocondriales.....	43
I.4.e. Clasificación de las alteraciones del ADNmt.....	47
I.4.f. Alteraciones del ADNmt relacionadas con la Fibrilación auricular .....	47
<b>I.5. Estrés oxidativo y Fibrilación auricular: .....</b>	<b>48</b>
I.5.a. Radicales libres de oxígeno y Estrés oxidativo.....	48
I.5.b. Envejecimiento celular, muerte celular y apoptosis .....	49

I.5.c.	Trastornos de la cadena respiratoria.....	50
I.5.d.	Estrés oxidativo y Homeostasis del calcio .....	51
<b>I.6.</b>	<b>Fibrilación auricular postoperatoria tras cirugía cardiaca: .....</b>	<b>56</b>
I.6.a.	Introducción y conceptos básicos sobre la cirugía cardiaca.....	56
I.6.b.	Epidemiología .....	57
I.6.c.	Implicaciones clínico-sanitarias.....	58
I.6.d.	Fisiopatogenia.....	58
I.6.e.	Prevención de FAPC .....	66
<b>II.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>69</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>73</b>
<b>IV.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS: .....</b>	<b>77</b>
<b>IV.1.</b>	<b>Muestras.....</b>	<b>79</b>
IV.1.a.	Consideraciones éticas.....	79
<b>IV.2.</b>	<b>Sujetos de estudio .....</b>	<b>79</b>
IV.2.a.	Cohorte de Población de referencia de Cirugía cardiaca .....	79
IV.2.b.	Cohorte de Muestras auriculares .....	80
<b>IV.3.</b>	<b>Material .....</b>	<b>80</b>
<b>IV.4.</b>	<b>Métodos .....</b>	<b>81</b>
IV.4.a.	Tipo de estudio .....	81
IV.4.b.	Obtención y recogida de las muestras de tejido auricular .....	81
IV.4.c.	Procesamiento de las muestras de tejido auricular .....	82
	- Aislamiento	
	- Conservación	
<b>IV.5.</b>	<b>Variables .....</b>	<b>83</b>
IV.5.a.	Variables clínico-patológicas .....	83
IV.5.b.	Variables mitocondriales .....	84
IV.5.c.	Variables celulares y electrofisiológicas.....	84
<b>IV.6.</b>	<b>Técnicas de estudio .....</b>	<b>85</b>
IV.6.a.	Estudio mitocondrial .....	85

IV.6.b. Estudio celular y electrofisiológico .....	87
<b>IV.7. Análisis de resultados .....</b>	<b>88</b>
IV.7.a. Generalidades.....	88
IV.7.b. Valoración de factores predictores de FAPC en la cohorte de referencia.....	88
IV.7.c. Valoración de la confusión en la cohorte de muestras.....	89
IV.7.d. Valoración de la interacción gen-ambiente.....	90
IV.7.e. Modelo ajustado del efecto del Haplogrupo H sobre FAPC.....	91
IV.7.f. Algunas peculiaridades.....	91
<b>IV.8. Colaboradores .....</b>	<b>92</b>
IV.8.a. Centro de Investigación Cardiovascular .....	92
IV.8.b. Fundación Rioja Salud .....	92
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>93</b>
<b>V.1. Cohorte de población de referencia .....</b>	<b>95</b>
V.1.a. Características preoperatorias .....	95
V.1.b. Complicaciones postoperatorias .....	96
<b>V.2. Cohorte de muestras auriculares .....</b>	<b>100</b>
V.2.a. Variables clínicas .....	100
V.2.b. Factores mitocondriales.....	105
V.2.c. Factores celulares y electrofisiológicos .....	114
V.2.d. Correlación entre los factores mitocondriales, celulares y electrofisiológicos .....	118
V.2.e. Valoración de la confusión del efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de FA postoperatoria.....	126
V.2.f. Valoración de la interacción gen-ambiente.....	130
V.2.g. Valoración de los factores de confusión según el Haplogrupo H.....	131
V.2.h. Modelo de regresión predictivo del efecto del Haplogrupo H (fondo genético) y del Contenido de ADNmt (fondo genómico) sobre la incidencia de FA postoperatoria .....	134
V.2.i. Valoración de la relación de los factores mitocondriales, celulares y electrofisiológicos con los factores de confusión identificados .....	135



<b>VI. DISCUSIÓN</b> .....	<b>159</b>
<b>VI.1. Representatividad</b> .....	<b>162</b>
VI.1.a. De la población de referencia.....	162
VI.1.b. De la población de muestras.....	162
<b>VI.2. Análisis de las variables clínicas</b> .....	<b>162</b>
VI.2.a. Identificación de los factores de confusión.....	163
<b>VI.3. Análisis de los factores mitocondriales</b> .....	<b>164</b>
VI.3.a. Deleción común.....	164
VI.3.b. Daño oxidativo.....	164
VI.3.c. Contenido relativo de ADNmt.....	165
VI.3.d. Haplogrupo mitocondrial.....	167
<b>VI.4. Análisis de los factores celulares y electrofisiológicos</b> .....	<b>168</b>
VI.4.a. Tamaño celular .....	168
VI.4.b. Corriente de entrada de calcio.....	168
VI.4.c. Liberación espontánea de calcio.....	169
<b>VI.5. Recopilación de datos y elaboración del modelo ajustado</b> .....	<b>170</b>
<b>VI.6. Limitaciones del estudio</b> .....	<b>170</b>
<b>VII. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS</b> .....	<b>171</b>
<b>VIII. ANEXO: CONCEPTOS Y DEFINICIONES</b> .....	<b>177</b>
<b>VIII.1. Definiciones sobre variables</b> .....	<b>179</b>
<b>VIII.2. Conceptos sobre material y técnicas</b> .....	<b>185</b>
<b>VIII.3. Formulario de “Hoja de recogida de datos”</b> .....	<b>188</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>189</b>

# ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

---



**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Condiciones asociadas a la fibrilación auricular. ....	36
<b>Tabla 2.</b> Prevalencia de los haplogrupos mitocondriales. ....	46
<b>Tabla 3.</b> Cálculo de OR para la Interacción gen-ambiente. ....	91
<b>Tabla 4.</b> Factores predictores de FAPC en la cohorte de la población de referencia. ...	99
<b>Tabla 5.</b> Datos preoperatorios de la cohorte de muestras auriculares. ....	102
<b>Tabla 6.</b> Datos ecocardiográficos e intraoperatorios de la cohorte de muestras auriculares. ....	103
<b>Tabla 7.</b> Datos postoperatorios de la cohorte de muestras auriculares. ....	104
<b>Tabla 8.</b> Datos preoperatorios según el Haplogrupo mitocondrial. ....	106
<b>Tabla 9.</b> Datos ecocardiográficos e intraoperatorios según el Haplogrupo mitocondrial. ....	107
<b>Tabla 10.</b> Datos postoperatorios según el Haplogrupo mitocondrial. ....	108
<b>Tabla 11.</b> Factores mitocondriales según el grupo de ritmo cardiaco. ....	111
<b>Tabla 12.</b> Factores celulares y electrofisiológicos según el grupo de ritmo cardiaco. ....	117
<b>Tabla 13.</b> Variables asociadas con fibrilación auricular postoperatoria – Potenciales confundidores. ....	127
<b>Tabla 14.</b> Valoración de los criterios de confusión y de la importancia clínica de los potenciales confundidores. ....	129
<b>Tabla 15.</b> Cálculo de OR de los componentes genético y adquirido. ....	130
<b>Tabla 16.</b> Análisis multivariante mediante regresión logística del efecto del haplogrupo H y del contenido relativo de ADNmt mayor a la mediada sobre la incidencia de fibrilación auricular postoperatoria, ajustado por los factores de confusión. ....	134
<b>Tabla 17.</b> Comparación del Contenido relativo de ADNmt según el sexo. ....	136
<b>Tabla 18.</b> Comparación del Daño oxidativo según el sexo. ....	137
<b>Tabla 19.</b> Comparación del Tamaño celular según el sexo. ....	138
<b>Tabla 20.</b> Comparación de la Corriente de entrada de calcio según el sexo. ....	139
<b>Tabla 21.</b> Comparación de la Liberación espontánea de calcio según el sexo. ....	140

**Tabla 22.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según el grupo de edad ..... 142

**Tabla 23.** Comparación del Daño oxidativo según el grupo de edad..... 143

**Tabla 24.** Comparación del Tamaño celular según el grupo de edad..... 144

**Tabla 25.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según el grupo de edad ... 145

**Tabla 26.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según el grupo de edad. .... 146

**Tabla 27.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según la dilatación de la aurícula izquierda..... 148

**Tabla 28.** Comparación del Daño oxidativo según la dilatación de la aurícula izquierda ..... 149

**Tabla 29.** Comparación del Tamaño celular según la dilatación de la aurícula izquierda ..... 150

**Tabla 30.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según la dilatación de la aurícula izquierda..... 151

**Tabla 31.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según la dilatación de la aurícula izquierda..... 152

**Tabla 32.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según la presencia de IRA postoperatoria ..... 154

**Tabla 33.** Comparación del Daño oxidativo según la presencia de IRA postoperatoria ..... 155

**Tabla 34.** Comparación del Tamaño celular según la presencia de IRA postoperatoria ..... 156

**Tabla 35.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según la presencia de IRA postoperatoria ..... 157

**Tabla 36.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según la presencia de IRA postoperatoria..... 158

**Tabla 37.** Asociación entre los factores de confusión y la FAPC mediante análisis univariante ..... 163

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> El Nodo sinusal.....	23
<b>Figura 2.</b> El Nodo aurículo-ventricular.....	23
<b>Figura 3.</b> Potencial de acción de la célula miocárdica y corrientes iónicas.....	25
<b>Figura 4.</b> Potencial de acción del nodo SA .....	25
<b>Figura 5.</b> Ondas del ECG normal. ....	27
<b>Figura 6.</b> Miofilamentos de actina y miosina.....	27
<b>Figura 7.</b> Sarcómero en relajación. ....	28
<b>Figura 8.</b> Sarcómero en contracción. ....	29
<b>Figura 9.</b> Contracción y relajación miocárdica. ....	29
<b>Figura 10.</b> Paso del Ca <sup>2+</sup> a través del sarcolema y de las membranas de los orgánulos celulares.....	32
<b>Figura 11.</b> ECG de Fibrilación auricular.....	34
<b>Figura 12.</b> Tipos de FA según su presentación y duración.....	35
<b>Figura 13.</b> Papel de la CaMKII en la arritmogénesis. ....	39
<b>Figura 14.</b> Ciclo de Krebs. ....	41
<b>Figura 15.</b> Cadena respiratoria y proceso de fosforilación oxidativa.....	43
<b>Figura 16.</b> ADN mitocondrial. ....	44
<b>Figura 17.</b> Migraciones poblacionales según los haplogrupos mitocondriales.....	46
<b>Figura 18.</b> NADPH oxidasa. ....	51
<b>Figura 19.</b> Efectos de la CaMKII y mecanismos de activación sostenida .....	53
<b>Figura 20.</b> Estrés oxidativo. ....	53
<b>Figura 21.</b> Efectos de las ROS y la CaMKII en el Potencial de acción. ....	54
<b>Figura 22.</b> Esquema básico del circuito de CEC con oxigenador de membrana y bomba centrífuga .....	56
<b>Figura 23.</b> Diagrama del circuito típico de circulación extracorpórea con “vent”, aspiradores y circuito de cardioplejia. ....	57
<b>Figura 24.</b> Factores perioperatorios desencadenantes de la FAPC.....	58
<b>Figura 25.</b> Diagrama que muestra el efecto de la circulación extracorpórea y del daño isquemia-reperfusión en el remodelado cardiaco, que puede derivar a FAPC.....	64

<b>Figura 26.</b> Esquema de apertura de mPTP en daño isquemia-reperfusión.....	65
<b>Figura 27.</b> Profilaxis no farmacológica de FAPC.....	68
<b>Figura 28.</b> Incidencia de FAPC según procedimiento quirúrgico realizado en pacientes con RS preoperatorio .....	96
<b>Figura 29.</b> Estancia en UCI y postoperatoria total según incidencia de FAPC.....	97
<b>Figura 30.</b> Incidencia de complicaciones postoperatorias según el ritmo cardiaco ....	98
<b>Figura 31.</b> Distribución de Haplogrupos mitocondriales según el ritmo cardiaco....	105
<b>Figura 32.</b> Contenido relativo de ADNmt según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.....	109
<b>Figura 33.</b> Porcentaje de casos con Contenido relativo de ADNmt mayor a la mediana según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco .....	109
<b>Figura 34.</b> Daño oxidativo según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco .....	110
<b>Figura 35.</b> Porcentaje de casos con Contenido relativo de ADNmt mayor a la mediana según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco .....	110
<b>Figura 36.</b> Asociación entre Haplogrupo H y FA postoperatoria.....	112
<b>Figura 37.</b> Asociación entre Contenido de ADNmt mayor a la mediana y la FA postoperatoria .....	113
<b>Figura 38.</b> Asociación entre Contenido de ADNmt mayor a la mediana y la FA postoperatoria según haplogrupo mitocondrial.....	113
<b>Figura 39.</b> Tamaño celular según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco .....	114
<b>Figura 40.</b> Tamaño celular según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco .....	114
<b>Figura 41.</b> Corriente entrada de Ca <sup>2+</sup> según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco .....	115
<b>Figura 42.</b> Corriente entrada de Ca <sup>2+</sup> según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco.....	115
<b>Figura 43.</b> Liberación espontánea de Ca <sup>2+</sup> según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.....	116
<b>Figura 44.</b> Liberación espontánea de Ca <sup>2+</sup> según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco .....	116
<b>Figura 45.</b> Correlación entre Daño Oxidativo y Contenido relativo de ADNmt según el Haplogrupo y en el total de la muestra .....	118

<b>Figura 46.</b> Correlación entre Daño Oxidativo y Contenido relativo de ADNmt según el Haplogrupo y ritmo cardiaco.....	119
<b>Figura 47.</b> Correlación entre Tamaño celular y Contenido relativo de ADNmt según el haplogrupo .....	119
<b>Figura 48.</b> Correlación entre Tamaño celular y Contenido relativo de ADNmt según el haplogrupo y ritmo cardiaco .....	120
<b>Figura 49.</b> Correlación entre Tamaño celular y Daño oxidativo según el haplogrupo.....	120
<b>Figura 50.</b> Correlación entre Tamaño celular y Daño oxidativo según el haplogrupo y ritmo cardiaco .....	121
<b>Figura 51.</b> Correlación entre Corriente de entrada de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo.....	122
<b>Figura 52.</b> Correlación entre Corriente de entrada de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo y ritmo cardiaco.....	122
<b>Figura 53.</b> Correlación entre Corriente de entrada de calcio y el Daño oxidativo según haplogrupo .....	123
<b>Figura 54.</b> Correlación entre Corriente de entrada de calcio y el Daño oxidativo según haplogrupo y ritmo cardiaco .....	123
<b>Figura 55.</b> Correlación entre Liberación espontánea de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo.....	124
<b>Figura 56.</b> Correlación entre Liberación espontánea de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo y ritmo cardiaco .....	124
<b>Figura 57.</b> Correlación entre Liberación espontánea de calcio y el Daño oxidativo según haplogrupo.....	125
<b>Figura 58.</b> Correlación entre Liberación espontánea de calcio y el Daño oxidativo según haplogrupo y ritmo cardiaco .....	125
<b>Figura 59.</b> Análisis del segundo criterio de confusión para el Sexo femenino (a la izquierda) y la Edad avanzada (a la derecha): Asociación entre dichas variables y el Haplogrupo H en pacientes sin FAPC (Grupo 2) .....	129
<b>Figura 60.</b> Análisis del segundo criterio de confusión para la AI dilatada (a la izquierda) y la IRA postoperatoria (a la derecha): Asociación entre dichas variables y el Haplogrupo H en pacientes sin FAPC (Grupo 2) .....	130
<b>Figura 61.</b> Interacción H-IRA postoperatoria .....	131



<b>Figura 62.</b> Distribución sexo según Haplogrupo .....	131
<b>Figura 63.</b> Diferencia de distribución de edad según haplogrupo como variable continua (a la izquierda) o categórica (a la derecha) .....	132
<b>Figura 64.</b> Asociación entre la frecuencia de AI dilatada y el Haplogrupo H en la muestra total.....	132
<b>Figura 65.</b> Asociación entre la incidencia de IRA postoperatoria y el Haplogrupo H .....	132
<b>Figura 66.</b> Asociación entre IRA postoperatoria y Haplogrupo H según el ritmo postoperatorio .....	133
<b>Figura 67.</b> Efecto del Haplogrupo H sobre FAPC según la presencia o no de IRA postoperatoria .....	133
<b>Figura 68.</b> Curva ROC del modelo ajustado del efecto del Haplogrupo H y Contenido relativo de ADNmt sobre la incidencia de FA postoperatoria.....	134
<b>Figura 69.</b> Contenido de ADNmt según el sexo y haplogrupo.....	136
<b>Figura 70.</b> Contenido de ADNmt según el sexo y ritmo cardiaco .....	136
<b>Figura 71.</b> Daño Oxidativo según el sexo y haplogrupo .....	137
<b>Figura 72.</b> Daño Oxidativo según el sexo y ritmo cardiaco .....	137
<b>Figura 73.</b> Tamaño celular según el sexo y haplogrupo .....	138
<b>Figura 74.</b> Tamaño celular según el sexo y ritmo cardiaco.....	138
<b>Figura 75.</b> Corriente de entrada de calcio según el sexo y haplogrupo .....	139
<b>Figura 76.</b> Corriente de entrada de calcio según el sexo y ritmo cardiaco.....	139
<b>Figura 77.</b> Liberación espontánea de calcio según el sexo y halogrupo.....	140
<b>Figura 78.</b> Liberación espontánea de calcio según el sexo y ritmo cardiaco.....	140
<b>Figura 79.</b> Contenido de ADNmt según la edad y haplogrupo.....	142
<b>Figura 80.</b> Contenido de ADNmt según la edad y ritmo cardiaco .....	142
<b>Figura 81.</b> Daño Oxidativo según la edad y haplogrupo.....	143
<b>Figura 82.</b> Daño Oxidativo según la edad y ritmo cardiaco .....	143
<b>Figura 83.</b> Tamaño celular según la edad y haplogrupo .....	144
<b>Figura 84.</b> Tamaño celular según la edad y ritmo cardiaco .....	144
<b>Figura 85.</b> Corriente de entrada de calcio según la edad y haplogrupo .....	145

<b>Figura 86.</b> Corriente de entrada de calcio según la edad y ritmo cardiaco.....	145
<b>Figura 87.</b> Liberación espontánea de calcio según la edad y haplogrupo .....	146
<b>Figura 88.</b> Liberación espontánea de calcio según la edad y ritmo cardiaco.....	146
<b>Figura 89.</b> Contenido de ADNmt según la dilatación AI y haplogrupo.....	148
<b>Figura 90.</b> Contenido de ADNmt según la dilatación AI y ritmo cardiaco .....	148
<b>Figura 91.</b> Daño Oxidativo según la dilatación AI y haplogrupo.....	149
<b>Figura 92.</b> Daño Oxidativo según la dilatación AI y ritmo cardiaco .....	149
<b>Figura 93.</b> Tamaño celular según la dilatación AI y haplogrupo .....	150
<b>Figura 94.</b> Tamaño celular según la dilatación AI y ritmo cardiaco .....	150
<b>Figura 95.</b> Corriente de entrada de calcio según la dilatación AI y haplogrupo .....	151
<b>Figura 96.</b> Corriente de entrada de calcio según la dilatación AI y ritmo cardiaco...	151
<b>Figura 97.</b> Liberación espontánea de calcio según la dilatación AI y haplogrupo .....	152
<b>Figura 98.</b> Liberación espontánea de calcio según la dilatación AI y ritmo cardiaco.....	152
<b>Figura 99.</b> Contenido de ADNmt según IRA postoperatoria y haplogrupo .....	154
<b>Figura 100.</b> Contenido de ADNmt según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.....	154
<b>Figura 101.</b> Daño Oxidativo según IRA postoperatoria y haplogrupo .....	155
<b>Figura 102.</b> Daño Oxidativo según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.....	155
<b>Figura 103.</b> Tamaño celular según IRA postoperatoria y haplogrupo.....	156
<b>Figura 104.</b> Tamaño celular según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco .....	156
<b>Figura 105.</b> Corriente de entrada de calcio según IRA postoperatoria y haplogrupo.....	157
<b>Figura 106.</b> Corriente de entrada de calcio según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco .....	157
<b>Figura 107.</b> Liberación espontánea de calcio según IRA postoperatoria y haplogrupo .....	158
<b>Figura 108.</b> Liberación espontánea de calcio según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.....	158
<b>Figura 109.</b> Amplificador EPC 10 HEKA.....	186



## RESUMEN/SUMMARY

---



## RESUMEN

La fibrilación auricular postoperatoria es la complicación más frecuente tras cirugía cardiaca. La fisiopatogenia de esta arritmia no es totalmente conocida. Se han estudiado elementos auriculares y electrofisiológicos, y se han identificado ciertos factores postoperatorios como desencadenantes.

La mitocondria es la fuente de energía de la célula gracias a la cadena respiratoria, cuyas proteínas están codificadas por el ADN mitocondrial. El genoma mitocondrial presenta una alta tasa de mutación, por lo que las variantes de la normalidad o polimorfismos determinan los haplogrupos mitocondriales. El Haplogrupo H codifica proteínas más eficientes, generando mayor ATP y daño oxidativo. Estudios previos observaron que ciertas alteraciones en el ADNmt y el estrés oxidativo están implicados en la génesis de la fibrilación auricular; sin embargo, la influencia del haplogrupo sobre esta arritmia nunca ha sido estudiada. También se ha hallado asociación entre el número de copias de ADNmt y el envejecimiento y algunas enfermedades cardiacas; no obstante, su efecto sobre la fibrilación auricular tampoco ha sido estudiado.

Recogimos muestras de tejido auricular humano de 62 pacientes intervenidos de cirugía cardiaca en un hospital español. Se diseñó un estudio de casos y controles, de manera que las muestras se agruparon según el ritmo cardiaco: Grupo 1, fibrilación auricular preoperatoria (control positivo); Grupo 2, ritmo sinusal preoperatorio sin fibrilación auricular postoperatoria (control negativo); y Grupo 3, ritmo sinusal preoperatorio con fibrilación auricular postoperatoria (caso).

Se analizaron las siguientes variables mitocondriales: haplogrupos, contenido relativo de ADNmt, daño oxidativo y deleción común (deleción 4977pb). También se evaluaron los siguientes factores celulares y electrofisiológicos: tamaño celular, corriente de entrada de calcio a través de canales tipo L ( $I_{CaL}$ ) y liberación espontánea de calcio desde el retículo sarcoplasmático.

Se obtuvo un modelo de regresión multivariante para analizar el efecto del haplogrupo H y del contenido relativo de ADNmt sobre la incidencia de la fibrilación auricular postoperatoria, ajustando por los factores de confusión previamente identificados. Se observó que las variantes genéticas y genómicas mitocondriales influyen en la fisiopatogenia de la fibrilación auricular postoperatoria, ya que determinan una diferente eficiencia de la cadena respiratoria, y por tanto distinta producción de ATP y daño oxidativo. Estos factores mitocondriales también se asociaron con alteraciones en las corrientes de calcio de los cardiomiocitos auriculares.

Este estudio abre un camino para estudios de diseño prospectivo con mayor número de muestras que permitan confirmar, o rechazar, nuestros resultados iniciales.

## SUMMARY

Postoperative atrial fibrillation is the most common complication following cardiac surgery. The pathogenesis of this arrhythmia is not completely known. Atrial and electrophysiological elements have been studied, and postoperative factors have been identified as triggers.

Mitochondrion is the energy source of the cell thanks to respiratory chain complex, whose proteins are coded by mitochondrial DNA. With a high mutation rate, normality variants or polymorphisms determinate mitochondrial haplogroup classification. Haplogroup H leads to the most efficient proteins, thus generating more ATP and oxidative damage. Previous studies have found that mitochondrial DNA alterations and oxidative stress are also involved in atrial fibrillation, but haplogroup influence has never been studied. mtDNA copy number has been associated with ageing and some heart disease; however, nobody has studied its effect on atrial fibrillation.

We have collected samples of human atrial tissue from 62 patients who underwent cardiac surgery in a Spanish hospital. We designed a case-control study, so that the samples belonged to one of the following groups, depending on the heart rhythm: Group 1, preoperative atrial fibrillation (positive control); Group 2, preoperative sinus rhythm without postoperative atrial fibrillation (negative control); and Group 3, preoperative sinus rhythm with postoperative atrial fibrillation (case).

Mitochondrial variables were analyzed: haplogroups, relative mtDNA content, oxidative damage and common deletion (4977bp deletion). Cellular and electrophysiological factors were also determined: cellular size, calcium inflow current through type-L channels ( $I_{CaL}$ ) and calcium spontaneous liberation from sarcoplasmic reticulum.

A multivariant regression model was obtained for assessing the effect of haplogroup H and relative mtDNA content over the incidence of postoperative atrial fibrillation, adjusting by previously identified clinical confounding factors. We found that mitochondrial genetic and genomic variants were involved in postoperative atrial fibrillation pathogenesis, as they determinate different respiratory chain efficiency, and ATP and oxidative stress generation. These mitochondrial factors were also associated with alterations in calcium currents in atrial cardiomyocytes.

This study opens the way to prospective designs with larger number of samples in order to confirm, or dispel, our initial results.

# I. INTRODUCCIÓN

---





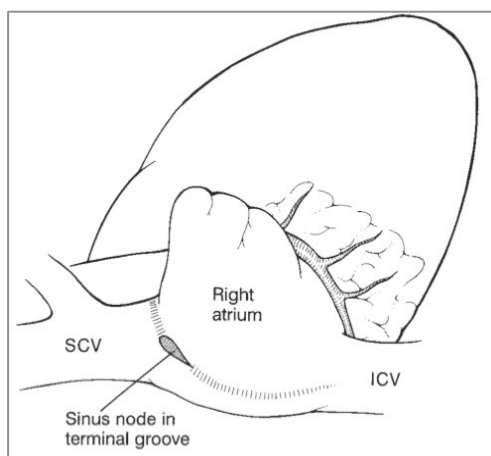
### I.3.RITMO CARDIACO NORMAL:

#### I.3.a. Sistema de conducción del corazón:

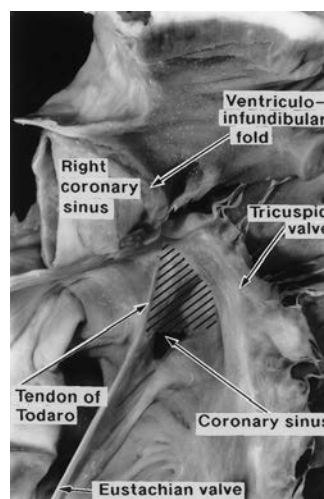
El corazón se contrae a una frecuencia variable, cuyo rango normal oscila entre 60 y 100 latidos por minuto (lpm). Las células musculares cardíacas – o células miocárdicas – no se contraen de manera espontánea, sino que su contracción depende de un estímulo externo proporcionado por el sistema de conducción cardíaco, constituido por diversos componentes con características estructurales y eléctricas determinadas: nodo sino-auricular, nodo aurículoventricular, fibras internodales, Haz de His y fibras de Purkinje.

El Nodo sino-auricular (SA) o de Keith-Flack es una estructura muy especializada cuyas células tienen **automatismo**, es decir, se **despolarizan** de manera **espontánea** a una frecuencia controlada variable (1). El estímulo cardíaco se origina aquí en condiciones normales, siendo conocido como el “marcapasos fisiológico” del corazón. Está localizado en la zona antero-lateral de la unión vena cava superior-aurícula derecha (AD), en el surco terminal (Figura 1). (2).

El Nodo aurículo-ventricular (AV) o de Aschoff-Tawara es otra zona cardíaca especializada que también posee automatismo. Está localizado en el triángulo derecho, en el vértice del Triángulo de Koch. (Figura 2) (2).



**Figura 1.** El Nodo sinusal (2).



**Figura 2.** El área rayada representa el Triángulo de Koch (2).

Las fibras internodales conectan el nodo SA con el nodo AV, pasando a través de los haces musculares delimitados por los orificios de la AD.

El Haz de His (HH) es el tejido de conducción que se origina del nodo AV y atraviesa el triángulo derecho hacia el septo interventricular (SIV) membranoso.

Posteriormente se ramifica: la mayor parte de sus fibras conforman la rama izquierda. El resto de fibras del HH da lugar a la rama derecha que se dirige hacia el ventrículo derecho. Dichas ramas dan lugar a múltiples fibras nerviosas de Purkinje que terminan en los miocitos ventriculares.

### I.3.b. Fisiología de la actividad eléctrica cardiaca (3, 4):

En reposo la célula cardiaca está polarizada, es decir, existe una diferencia de potencial entre los medios interno y externo de la membrana celular, que se denomina **potencial de reposo transmembrana** (PRT), cuyo valor en la célula miocárdica es de -90 mV. Dicho potencial es consecuencia de una concentración intracelular de  $K^+$  30 veces mayor a la del medio extracelular, gracias a la acción de la bomba intercambiadora de sodio-potasio ( $3Na^+/2K^+$ ) que expulsa tres cationes de  $Na^+$  al medio extracelular, mientras que introduce dos de  $K^+$  a través del sarcolema (membrana celular muscular).

El **potencial de acción transmembrana** (PA) es un conjunto de cambios iónicos que ocurren en el sarcolema y se divide en varias fases (Figura 3):

Fase 0 = **Despolarización celular**: como respuesta a un estímulo eléctrico, los canales rápidos de  $Na^+$  de la membrana se abren, permitiendo la entrada masiva de éste al medio intracelular, con lo que el potencial transmembrana pasa a +30 mV.

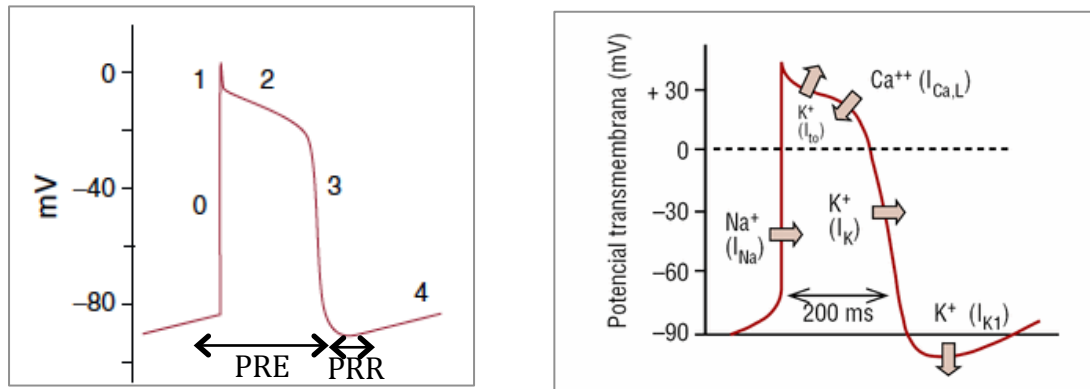
Las fases 1 a 3 constituyen la **Repolarización celular**.

Fase 1 = Repolarización temprana: la activación de los canales de  $K^+$  dependientes de voltaje permiten la salida del  $K^+$  al medio extracelular, y se cierran los canales de  $Na^+$ .

Fase 2 = Meseta: apertura de los canales de calcio tipo-L, que origina un flujo de entrada del calcio extracelular al citoplasma, que se opone a la corriente de  $K^+$  iniciada en la fase 1.

Fase 3 = Repolarización rápida: inactivación de los canales de calcio, y apertura de los canales de  $K^+$  rectificadores tardíos.

Fase 4 = Reposo: cierre de los canales de  $K^+$  y activación de la bomba intercambiadora  $Na^+-K^+$ . La célula recupera el equilibrio iónico del PRT.



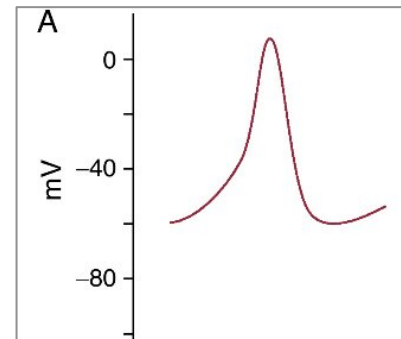
**Figura 3.** Potencial de acción de la célula miocárdica y corrientes iónicas (4, 5).

El **periodo refractario absoluto o efectivo (PRE)** tiene lugar en las fases 0, 1, 2 y parte de la 3, y durante el mismo la célula no es excitable, es decir, no puede despolarizarse. Coincide con la diástole y permite que el corazón se llene. Por el contrario, al final de la fase 3 la célula puede despolarizarse con estímulos superiores a un umbral, denominándose **periodo refractario relativo (PRR)**.

A diferencia de las células miocárdicas, las **células nodales** sinoauriculares y aurículo-ventriculares presentan unas características que explican su automatismo o capacidad de **despolarización espontánea** (Figura 4):

- PRT menor (- 60 mV).
- PA de menor amplitud.
- Pérdida progresiva del PRT durante la fase 4.

**Figura 4.** PA del nodo SA (4).



De esta manera, en la fase 4 del PA de las células nodales se producen las corrientes  $I_f$  (*funny currents*), que son unas corrientes iónicas de entrada que se activan en hiperpolarización, cuando el potencial transmembrana alcanza el valor de -60 mV. Esto interrumpe la repolarización y provoca el inicio de la despolarización diastólica mediante la entrada de  $\text{Na}^+$ . Posteriormente, cuando el potencial transmembrana es de -40 mV, se activan los canales de calcio tipo-L, originando un flujo de entrada de calcio, responsable final de la despolarización en las células nodales. Finalmente, la repolarización de dichas células marcapasos se produce por la salida de  $\text{K}^+$  y la inactivación de los canales de calcio, como ocurre en las células miocárdicas.

### I.3.c. Ritmo sinusal y Electrocardiograma:

El ritmo cardiaco normal es aquel en que la actividad eléctrica **se inicia en el nodo SA**, ya que es la zona con mayor automatismo, denominándose por ello **Ritmo Sinusal (RS)**. Luego el estímulo cardiaco continúa a través del resto del sistema de conducción hacia los ventrículos.

El electrocardiograma (ECG) es el registro gráfico de la actividad eléctrica del corazón. El ECG normal está formado por una serie de ondas que reflejan la despolarización y repolarización de las distintas zonas del corazón durante el ciclo cardiaco (Figura 5).

La **onda P** representa la **despolarización auricular** que comienza en el nodo sino-auricular y se dirige a través de la fibras internodales hacia el nodo aurículo-ventricular.

Posteriormente, durante la contracción auricular, el estímulo eléctrico es retenido en el Haz de His, visualizándose en el ECG como una línea recta.

A continuación las válvulas aurículo-ventriculares se cierran, y el estímulo pasa del HH a las fibras de Purkinje, dando lugar a tres ondas conocidas en su conjunto como complejo QRS:

- La **onda Q** es la primera onda del complejo, y expresa la **despolarización del septo interventricular**, de izquierda a derecha, por lo que es negativa.
- La **onda R** simboliza la **despolarización ventricular**; es una onda de alto voltaje debido al gran espesor de las paredes ventriculares.
- La **onda S** representa la **despolarización en las fibras de Purkinje**, y es la onda negativa que sigue a la onda R.

Al terminar la despolarización hay un breve lapso sin conducción, visualizado como una línea recta, que es denominada Segmento ST.

Finalmente comienza el proceso de repolarización de derecha a izquierda, siendo la **onda T** la onda positiva originada por la **repolarización ventricular** (6).

El ritmo sinusal se define por los siguientes hechos electrocardiográficos:

- Presencia de ondas P.
- Todas las ondas P van seguidas de complejo QRS.
- Todos los complejos QRS son precedidos por ondas P.

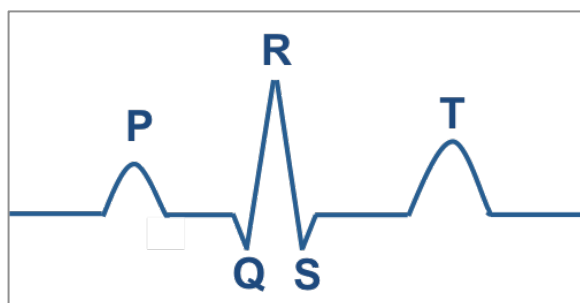


Figura 5. Ondas del ECG normal.

#### I.4.HOMEOSTASIS INTRACELULAR DEL CALCIO y CONTRACCIÓN MIOCÁRDICA:

##### I.4.a. Célula miocárdica:

Las células musculares cardiacas (miocardiocitos) contienen en su interior miofibrillas constituidas por miofilamentos finos y miofilamentos gruesos.

Los **miofilamentos finos** está formado por cadenas de *actina* dispuestas de forma alargada, cadenas de *troponina* y cadenas de *tropomiosina*, que se enrollan alrededor de la actina. La troponina tiene tres subunidades: la C (a la que se une el calcio), la T (que se acopla a la tropomiosina) y la I (capaz de inhibir la actividad de la miosina ATPasa y la unión de la actina con la miosina).

Los **miofilamentos gruesos** están compuestos por *miosina*, que es una proteína que consta a su vez de una cola  $\alpha$ -hélice y una cabeza globular denominada  $\beta$ -miosina (Figura 6).

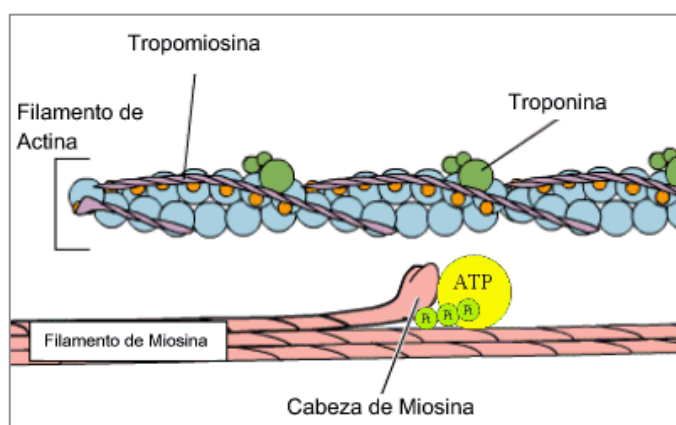
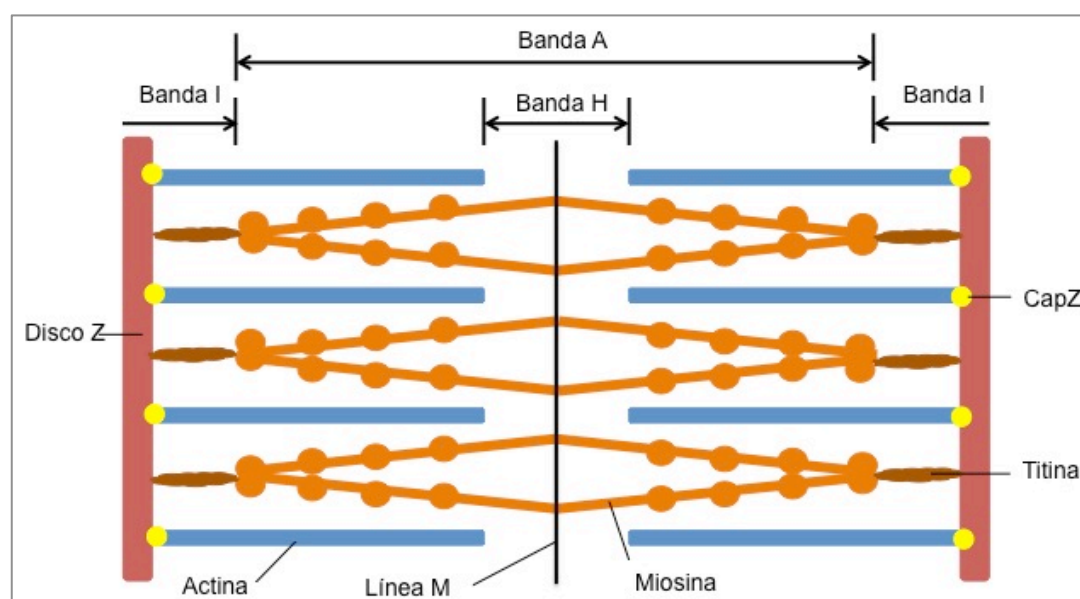


Figura 6. Miofilamentos de actina y miosina (7).

Los miofilamentos se imbrican e interaccionan entre sí configurando los sarcómeros (unidades anatómicas y funcionales del miocito). En el sarcómero se distinguen diversas zonas (Figura 7):



**Figura 7.** Sarcómero en relajación.

La banda A está constituida por los filamentos de miosina y los extremos de los filamentos de actina dispuestos a cada lado.

La banda H es una zona incluida en la banda A, donde sólo son visibles los filamentos de miosina que se encuentran entre los extremos de actina.

La línea M es el lugar donde se unen los filamentos de miosina adyacentes. Se encuentra en el medio de la banda H.

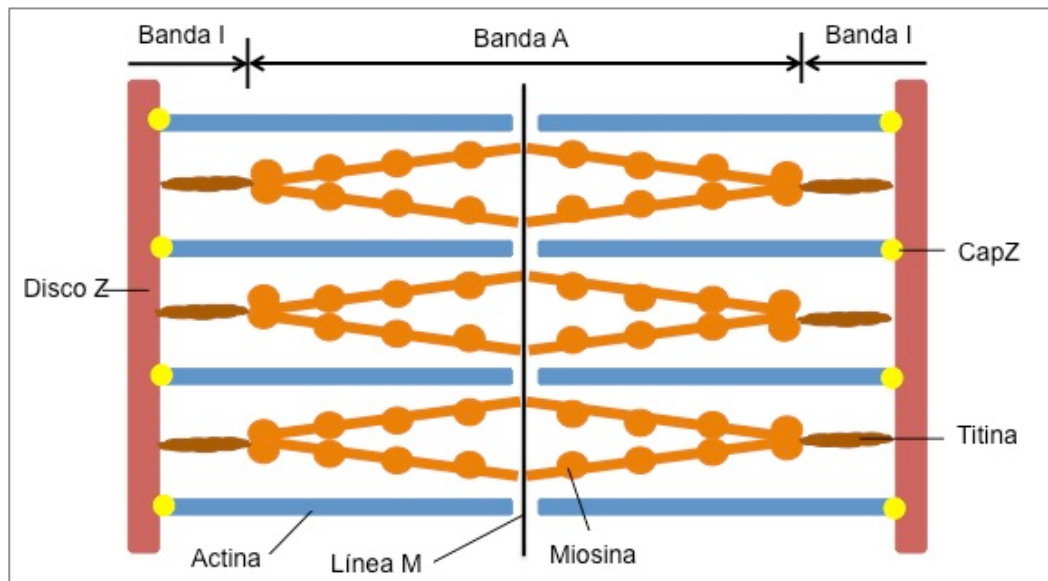
La banda I está formada por los segmentos de los filamentos de actina que se encuentran delimitados por los filamentos de miosina.

En el disco Z (en el medio de la banda I) se encuentra la proteína CapZ, y es la zona donde se unen los filamentos de actina adyacentes. Además, la miosina se conecta con el disco Z mediante la tinina.

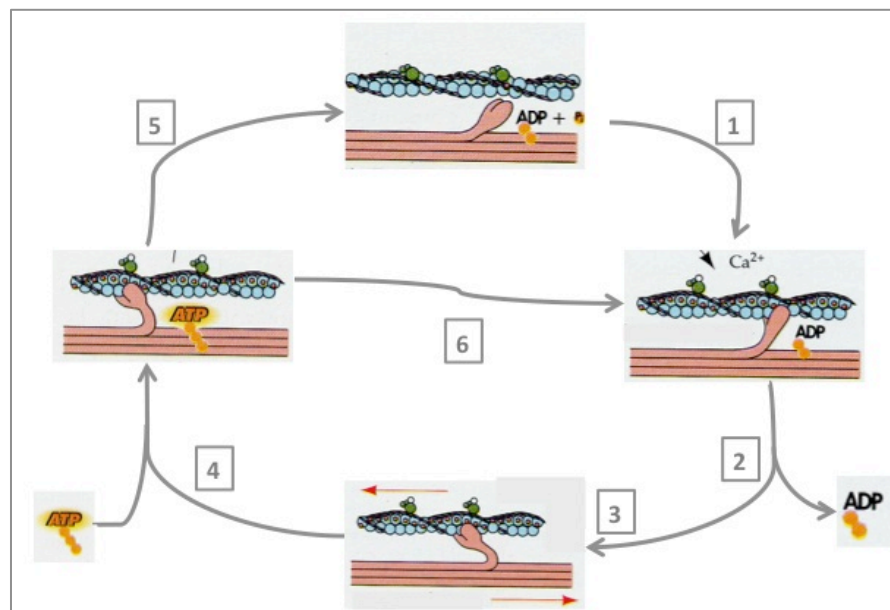
De esta manera, cada sarcómero está delimitado por dos líneas Z, y contiene una banda A y dos semi-bandas I.

#### I.4.b. El papel del calcio en la contracción miocárdica:

El calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular juega un papel muy importante en la contracción miocárdica. Para ello, se une a la Troponina C (TnC), lo que cambia la configuración de la molécula, desplazando a la tropomiosina. Este proceso deja libres los lugares de la actina que formarán puentes cruzados con la miosina. El  $\text{ADP} + \text{P}_i$ , que estaba en la cabeza de la miosina, se libera, permitiendo que ésta se desplace: se acercan los discos Z y los filamentos de actina se acercan entre sí hacia la línea M, desapareciendo casi por completo la zona H. Esto produce la disminución en la longitud del sarcómero, y la consiguiente contracción de la miofibrilla. El ATP se une a la cabeza de la miosina, liberando la actina. La hidrólisis del ATP en  $\text{ADP} + \text{P}_i$  devuelve la  $\beta$ -miosina a su posición original (8) (Figuras 8 y 9).



**Figura 8.** Sarcómero durante la contracción miocárdica.



**Figura 9.** Contracción y relajación miocárdica (9):

**Paso 1:** cuando un potencial de acción llega a la célula miocárdica, se produce una onda de despolarización en la membrana celular, que activa el aumento de calcio intracelular.

**Paso 2:** el calcio se une a la troponina C, ocasionando un cambio de la configuración de la molécula de troponina y provoca que la tropomiosina se desplace, dejando libre los lugares de la actina que formará puentes cruzados con las cabezas de la miosina. La unión del calcio provoca la salida del  $ADP + P_i$  que estaba unido a la cabeza de la miosina.

**Paso 3-Contracción:** la cabeza de la miosina se desplace, generando el deslizamiento del filamento fino sobre el grueso.

**Paso 4:** el ATP se une nuevamente a la miosina, y la actina se desconecta de la misma.

**Paso 5-Relajación:** la hidrólisis de ATP por la función ATPasa de la cabeza de la miosina da lugar a la disociación del calcio de la troponina C y la cabeza de la miosina vuelve a su posición original (quedando el  $ADP+P_i$  todavía unido a la cabeza de la miosina).

**Paso 6:** si no disminuye la concentración de calcio intracelular, persiste la contracción miocárdica.



#### I.4.c. Homeostasis intracelular del calcio:

El aumento de la concentración de calcio intracelular necesario para la contracción miocárdica se produce como consecuencia de dos procesos: entrada desde el medio extracelular y liberación desde los orgánulos celulares que lo almacenan (10) (Figura 10).

##### A. *Entrada de calcio desde el medio extracelular* (4, 11):

En la membrana celular se encuentran diversos tipos de canales iónicos, entre ellos, **canales de calcio tipo-L** (*large conductance*,  $I_{Ca,L}$ ) dependientes de voltaje, canales de calcio tipo-T (*tiny conductance*,  $I_{Ca,T}$ ) y el **intercambiador  $3Na^+-Ca^{2+}$**  (NCX).

Como se ha comentado en el apartado I.1.b, el potencial de acción de las células nodales es diferente del PA de las células miocárdicas. Dichas disimilitudes dependen de las corrientes iónicas activadas en cada fase en los dos tipos de célula.

En las células nodales, la activación de los canales de calcio tipo-L tiene lugar durante la fase 4, tras el inicio de la despolarización espontánea por las corrientes  $I_f$  y la posterior entrada de  $Na^+$ . No obstante, en las células miocárdicas, la apertura de los canales de calcio tipo-L ocurre en la fase meseta (fase 2).

Normalmente, el intercambiador NCX introduce tres cationes de  $Na^+$  al citosol y extrae uno de calcio ( $3Na^+/1Ca^{2+}$ ), resultando en una carga positiva final. Sin embargo, puede actuar de forma inversa durante la fase ascendente (fase 0) del PA, expulsando  $Na^+$  e introduciendo calcio, como consecuencia de la gran despolarización de membrana y del aumento de la concentración intracelular de  $Na^+$ . Posteriormente, tras la apertura de los canales de calcio tipo-L, el intercambiador NCX vuelve a funcionar de manera normal.

##### B. *Liberación de calcio desde orgánulos celulares:*

Existen diversos orgánulos celulares que almacenan calcio en su interior. Estos son el retículo sarcoplásmico (RtS) y la mitocondria.

La entrada del calcio extracelular durante el potencial de acción genera las denominadas “corrientes de calcio” debido a la liberación del calcio al citoplasma desde los diferentes orgánulos, por medio de la activación de la vía de la fosfolipasa C y del inositol trifosfato ( $IP_3$ ):

- La liberación del calcio desde el RtS se produce a través del receptor de ryanodina (RyR) y del receptor del  $IP_3$  ( $IP_3R$ ). La actividad del RyR cardiaco

(RyR2) depende del grado de fosforilación del mismo, que a su vez está regulada por la acción de la Calcio/Calmodulina protein kinasa II (CaMKII) y la protein kinasa A (PKA).

- El calcio es liberado desde la mitocondria mediante los intercambiadores sodio-calcio ( $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ) e hidrógeno-calcio ( $2\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ ), por el que entran dos cationes de  $\text{Na}^+$  o dos protones ( $\text{H}^+$ ) a la mitocondria y sale uno de calcio al citosol.

Por el contrario, para la relajación celular es necesario que disminuya la concentración del calcio intracelular, lo cual tiene lugar mediante tres procesos:

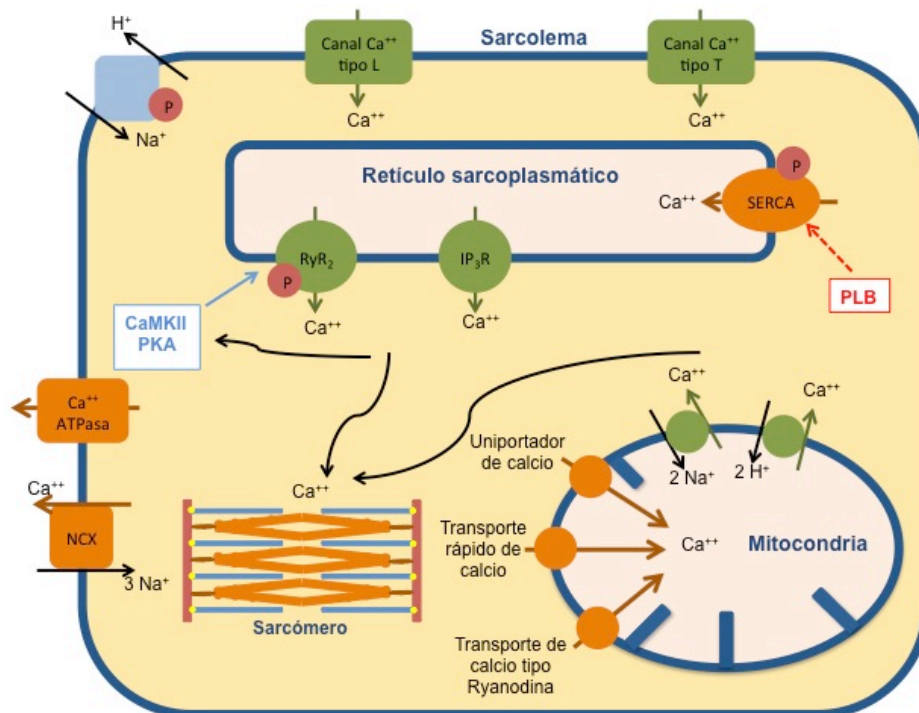
A. *Salida de calcio al medio extracelular* a través del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (NCX) y la  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa (transporte activo) que se encuentran en el sarcolema.

B. *Introducción del calcio a orgánulos celulares* por medio de:

- La  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa del retículo sarcoplásmico (SERCA, *Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium-ATPase*) y del aparato de Golgi. Esta bomba es inhibida por el fosfolambán (PLB).
- El canal unidireccional (uniportador) de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial (dependiente del potencial de membrana mitocondrial).
- El canal rápido de calcio de la mitocondria.
- El transportador de calcio tipo ryanodina de la membrana mitocondrial.

C. *Unión del calcio a proteínas citosólicas*:

- Calmodulina: cuando los niveles de calcio aumentan en el citoplasma, éste se puede unir a la calmodulina formando el complejo  $\text{Ca}^{2+}$ -Calmodulina, capaz de unirse a una protein kinasa dependiente de dicho complejo (ver más adelante).
- Troponina C y Parvalbúmina.
- Sinexinas. (12-14)



**Figura 10.** Paso del  $\text{Ca}^{2+}$  a través del sarcolema y de las membranas de los orgánulos celulares.

✓ *Protein quinasa II dependiente de Calcio/Calmodulina (CaMKII):*

La CaMKII es una proteína quinasa muy abundante en el miocardio (sobre todo las isoformas  $\delta$  y  $\gamma$ ) activada por el incremento de calcio intracelular principalmente, mediante la auto-fosforilación o por la acción de los radicales libres sobre ella. Está constituida por cuatro dominios: de auto-asociación, catalítico, autoinhibidor o regulador, y segmento variable.

El dominio de auto-asociación se encuentra en el terminal C de la proteína, y se ensambla al calcio y a la calmodulina. El dominio catalítico tiene un punto de enlace de ATP y otros de anclaje a diferentes sustratos (dianas), provocando la fosforilación de los mismos. El dominio autoinhibidor o regulador es capaz de unirse a la proteína catalizadora, inhibiendo la fosforilación de proteínas. Esta acción auto-inhibidora se debe al residuo de Treonina 286 (T286) (15) o 287 (T287) (16) (el número de residuo depende de la isoforma) (17). Cuando dicho residuo es fosforilado, pierde la capacidad de auto-inhibirse, por lo que la CaMKII permanece activada, incluso en ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  y calmodulina.

Cuando el complejo  $\text{Ca}^{2+}$ -Calmodulina se une al dominio regulador de la CaMKII, cambia la configuración de la enzima, exponiendo la región catalítica a las dianas, encontrándose entonces en estado activo. Cuando los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  disminuyen, la calmodulina se descalcifica y se disocia de la CaMKII, que recupera su configuración

espacial y por tanto se inactiva. Sin embargo, en presencia de suficiente cantidad de ATP en condiciones fisiológicas, la CaMKII es capaz de auto-fosforilarse a nivel de la T287 del dominio regulador, incluso cuando la concentración de calcio se normaliza, perpetuando el estado de actividad de la enzima (16).

Las dianas de la CaMKII son: canales iónicos, proteínas que intervienen en la homeostasis del calcio (fosfolambán y el RyR2) y factores de transcripción.

Entre los canales iónicos destacan los canales de calcio tipo-L; en condiciones fisiológicas, cuando la CaMKII fosforila dichos transportadores, se activa un proceso denominado *calcium-dependent facilitation* (CDF), por el cual hay un aumento transitorio del pico de entrada de calcio asociado a un enlentecimiento en la inactivación de dicha corriente  $I_{CaL}$ . La autofosforilación de la CaMKII en T287 contribuye al CDF, que es muy importante en la contractilidad miocárdica. No obstante, la activación por auto-fosforilación es transitoria a nivel del corazón gracias a la acción de las protein-fosfatasas 1 (PP1) y 2A que defosforilan la CaMKII y los canales iónicos, por lo que el CDF dura sólo unos segundos.

Por ello, esta enzima representa un papel muy importante en los procesos de excitación-contracción, muerte celular, y activación transcripcional de la hipertrofia e inflamación miocárdica (18).

## **I.5.FIBRILACIÓN AURICULAR**

### **I.5.a. Concepto:**

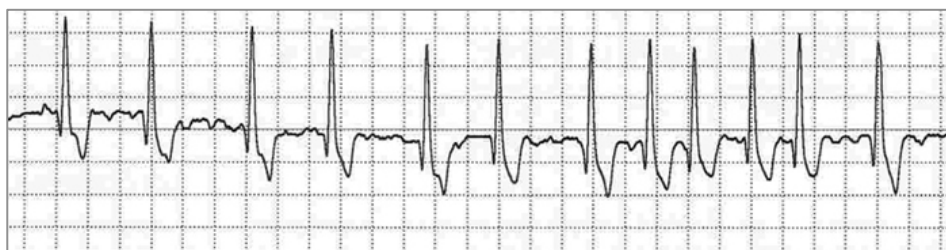
La Fibrilación auricular (FA) es una alteración del ritmo cardiaco caracterizada por una actividad auricular desordenada asociada a una conducción aurículo-ventricular irregular (19).

### **I.5.b. Diagnóstico:**

La sospecha clínica se basa en la detección de un pulso irregular, pero su diagnóstico debe confirmarse mediante electrocardiograma (Figura 11). En el registro electrocardiográfico destacan tres características:

- Intervalos RR irregulares, sin seguir un patrón repetitivo.
- Ausencia de ondas P, distinguiéndose a veces una actividad auricular aparentemente regular, que se observa sobre todo en la derivación V1.

- En el caso de que se distinga actividad auricular, el intervalo entre dos activaciones auriculares es menor a 200 mseg, correspondiendo a una frecuencia mayor a 300 latidos por minuto (lpm) (20).



**Figura 11.** ECG de Fibrilación auricular (21).

### I.5.c. Epidemiología:

La FA es la arritmia cardiaca más frecuente en la población general del mundo desarrollado (1,5-2%), con una edad media de presentación que ha ido aumentando con el paso del tiempo, siendo en la actualidad de 75 a 85 años (20, 22).

Es más prevalente en varones (23) y en individuos caucásicos mayores de 50 años (22). Su prevalencia aumenta con la edad, siendo menor al 0,5% en pacientes de 40 a 50 años, y de 5-15% en mayores de 80 años. Debido al envejecimiento progresivo de la población, se prevé que su incidencia aumente en los próximos 50 años hasta casi duplicar la actual (20, 22). Algunos grupos estiman que el riesgo de desarrollar FA a los 55 años es de 23,8% en hombres y 22,2% en mujeres (23).

### I.5.d. Tipos de Fibrilación auricular: (24)

Según la presentación y duración de la arritmia, la FA se clasifica en (Figura 12):

- Primer diagnóstico de FA: pacientes que se presentan por primera vez con FA.
- Paroxística: episodios autolimitados, que duran habitualmente menos de 48 h.
- Persistente: se denomina así cuando el episodio de FA se prolonga más de 7 días o requiere terminarse mediante cardioversión farmacológica o eléctrica.
- Persistente de larga duración: la arritmia dura más de un año y se decide instaurar una estrategia para el control del ritmo.
- Permanente: es aceptada por el paciente y el profesional. El tratamiento no irá dirigido a la reversión a ritmo sinusal, sino al control de la frecuencia cardiaca y prevención de eventos trombo-embólicos.

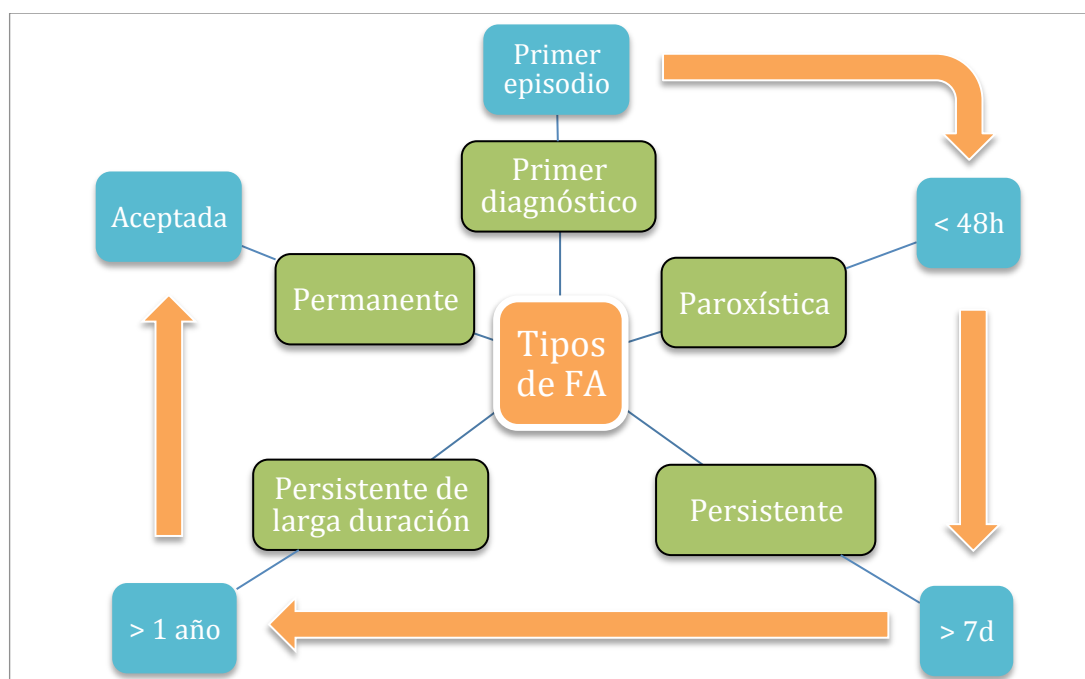


Figura 12. Tipos de FA según su presentación y duración

Además se distinguen las siguientes clases de FA:

- Silente: se diagnostica por la aparición de una complicación (ictus o taquimiocardiopatía) o como hallazgo casual en un electrocardiograma. Puede presentarse en cualquiera de las formas temporales previas.
- Postoperatoria: episodio de FA de nueva aparición tras cirugía cardiaca (FAPC) o no cardiaca.

#### I.5.e. Implicaciones clínico-sanitarias:

La fibrilación auricular condiciona una mayor incidencia de eventos cardiovasculares. Asimismo, aumenta el riesgo de eventos trombo-embólicos, ya que la actividad auricular desorganizada genera un flujo turbulento, así como estasis (estancamiento) de la sangre, pudiendo producirse trombos intracavitarios, sobre todo en la orejuela de la aurícula izquierda. Así, la presencia de FA multiplica por cinco el riesgo de accidente cerebrovascular (ACV) o ictus. De hecho, se ha visto que uno de cada 20 pacientes con ACV agudo presentan fibrilación auricular en el ECG, a veces no diagnosticada hasta el evento isquémico (FA silente). Además, el ictus secundario a FA es más severo que los ACV por otras causas, y en parte la mayor mortalidad de la FA (el doble que en la población con ritmo sinusal) puede ser atribuida al ictus y sus consecuencias (25).

En relación a otras repercusiones clínicas, la fibrilación auricular triplica el riesgo de insuficiencia cardiaca y puede producir disfunción ventricular secundaria a la frecuencia rápida e irregular, a la pérdida de contractilidad auricular y al aumento de presión telediastólica ventricular. Se ha visto que la FA se relaciona con mayor deterioro cognitivo, probablemente debido a múltiples eventos embólicos asintomáticos (26), así como disminución de la tolerancia al ejercicio y de la calidad de vida (27).

Este importante impacto clínico-patológico genera un mayor gasto sanitario por el aumento de los ingresos hospitalarios y de los recursos diagnóstico-terapéuticos. Las principales causas de hospitalización relacionadas con FA son la presentación de síndrome coronario agudo, empeoramiento de insuficiencia cardiaca, complicaciones trombo-embólicas y necesidad de manejo agudo de la arritmia. De esta manera, la fibrilación auricular supone la tercera parte de los ingresos por arritmias cardíacas (20, 24, 28).

#### I.5.f. Patologías asociadas:

Existen múltiples condiciones cardiovasculares y no cardiovasculares asociadas a esta prevalente arritmia, siendo algunas de ellas tanto causa como consecuencia de la misma (Tabla 1).

**Tabla 1.** Condiciones asociadas a la fibrilación auricular.

Condiciones asociadas a la fibrilación auricular	
Edad avanzada	Otras cardiopatías congénitas
Hipertensión arterial	Insuficiencia cardiaca sintomática
Diabetes mellitus	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
Cardiopatía estructural	Síndrome de apnea del sueño
Taquicardiomiopatía	Obesidad
Valvulopatías	Disfunción tiroidea
Enfermedad coronaria	Enfermedad renal crónica
Defectos septales atriales	

De las condiciones cardiovasculares, el 30% de los pacientes con FA presenta disnea en clase funcional II-IV de la NYHA (*New York Heart Association*), mientras que el 30-40% de los pacientes con insuficiencia cardiaca sintomática presentan FA.

Por otro lado, la FA puede ser la primera manifestación en pacientes con valvulopatía mitral como consecuencia de la dilatación auricular; sin embargo, aparece tardíamente en pacientes con enfermedad valvular aórtica.

Igualmente, más del 20% de la población en FA presenta enfermedad arterial coronaria. No obstante, se desconoce el modo en que la FA influye en el flujo coronario.

Otras comorbilidades asociadas son la obesidad – 25% de las personas en FA son obesas -, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y la enfermedad renal crónica (ERC), presentes estas últimas en el 10-15% de la población con FA.

### I.5.g. Fisiopatogenia:

Se conocen diversos mecanismos asociados a la fibrilación auricular (24): auriculares, electrofisiológicos y genéticos.

- *Factores auriculares*: algunos son predisponentes y otros derivados de la arritmia.
  - Predisponentes: cualquier cardiopatía estructural puede ocasionar **remodelado** ventricular y **auricular**, generando diferenciación de los fibroblastos en miofibroblastos, depósito de tejido conectivo y fibrosis. Esto **altera la transmisión** de la actividad eléctrica entre los miocitos y el tejido de conducción alterado, siendo el sustrato electroanatómico para el establecimiento de **circuitos de re-entrada** que inician y perpetúan la FA. Dentro de las alteraciones estructurales destacan los cambios en los miocitos, como la apoptosis, necrosis e hipertrofia, conceptos analizados en el apartado 5 de la Introducción.
  - Cambios como consecuencia de la FA:

Algunos estudios han evidenciado un **acortamiento del PRE** tras la FA y éste podría influir en la perpetuidad de la misma. Dicho acortamiento podría deberse a una infraexpresión de los canales de calcio tipo-L y a una mayor activación de las corrientes de K<sup>+</sup> rectificadoras que condicionaran una acumulación de K<sup>+</sup> de latido en latido. Estos cambios se han visto más en la FA permanente que en la paroxística (29-31).



Un PRE corto produce una disminución de la longitud de onda, que se define como la distancia del frente de onda despolarizante durante el periodo refractario y se calcula multiplicando la velocidad de conducción por el PRE. De esta manera, en los casos de FA con una longitud de onda corta como consecuencia de una conducción deprimida o por un PRE corto, se pueden generar múltiples frentes de onda despolarizantes a través de la aurícula, provocando la persistencia de la FA. De estos hechos se puede sugerir que una disminución en la longitud de onda puede aumentar la probabilidad de conversión a FA (29).

Otros grupos observaron en muestras auriculares humanas que la frecuencia de corrientes de entrada  $I_{CaL}$  estaba disminuida en los pacientes con FA permanente (32).

La FA produce disfunción de la contractilidad auricular por falta de entrada de calcio al citosol desde el medio extracelular o desde los orgánulos celulares, y por alteraciones en la energética miofibrilar.

En las muestras de aurícula derecha de pacientes con FA aislada no quirúrgica se han objetivado cambios inflamatorios y fibróticos auriculares, así como una mayor actividad de la NADPH oxidasa (33).

Además, una condición que impida la disminución del calcio intracelular puede generar alteraciones electrofisiológicas en los miocitos que conlleven la producción de arritmias. De hecho, se ha observado que en la génesis y la perpetuación de la fibrilación auricular pueden intervenir los siguientes fenómenos: post-despolarizaciones anormales y automatismo anormal.

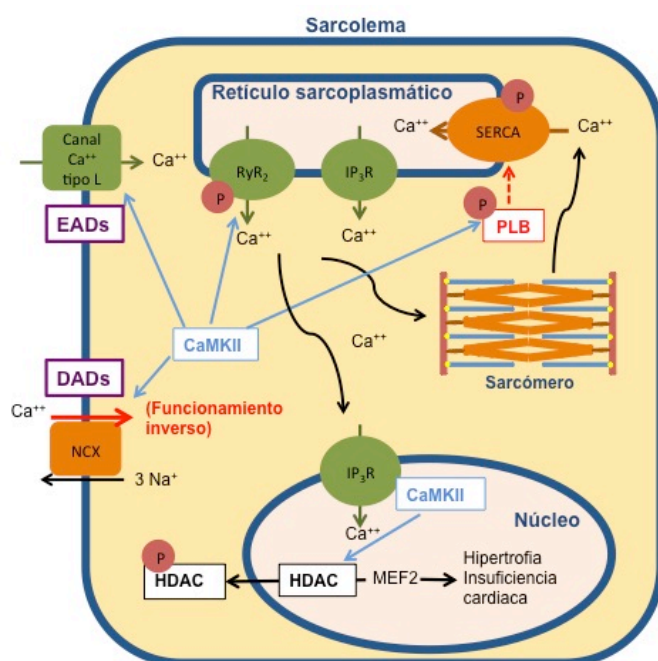
En las post-despolarizaciones anormales el calcio se libera de forma espontánea y aumentada desde el RtS, generando *calcium sparks*, que son controlados por el grado de fosforilación del RyR, donde interviene la CaMKII antes mencionada (34). Una mayor frecuencia de *calcium sparks* ocasiona una liberación de calcio que se propaga como una onda por la aurícula ( $Ca^{2+}$  wave) (Figura 13). Las despolarizaciones anormales pueden ser:

- Tempranas (*EADs = Early Afterdepolarizations*) que ocurren durante la fase de meseta del potencial de acción, y produce despolarizaciones repetitivas. Son favorecidas por la bradicardia, la hipopotasemia o por un aumento de la corriente de entrada de calcio durante la fase de meseta.
- Tardías (*DADs = Delayed Afterdepolarizations*) que tienen lugar cuando la membrana está completamente repolarizada. Se generan en condiciones con alto contenido de calcio dentro del retículo sarcoplásmico.

El automatismo anormal es producido como consecuencia de un aumento de la frecuencia de *calcium sparks* durante la diástole.

Hove-Madsen *et al* (2004) observaron que la frecuencia de *calcium sparks* y de las ondas de calcio era mayor en los pacientes con fibrilación auricular. Asimismo, la FA se asociaba con mayor frecuencia de corriente espontánea de entrada de calcio a través del intercambiador NCX ( $I_{NCX}$ ), por lo que se deducía que esta corriente influía, al menos parcialmente, en el aumento de frecuencia de *calcium sparks* y *calcium waves*. Por esta razón, concluyeron que la liberación espontánea de calcio desde el RtS podía ser valorada en función de la frecuencia de  $I_{NCX}$ . También hallaron que los pacientes con FA presentaban una menor actividad de la bomba SERCA que introduce calcio al RtS, contribuyendo a la persistencia de una alta concentración de calcio en el citosol (31).

La Figura 13 muestra los posibles mecanismos proarrítmicos de la CaMKII.



**Figura 13.** Papel de la CaMKII en la arritmogénesis.

La activación sostenida de la CaMKII ante diferentes causas (autofosforilación u oxidación) provoca la fosforilación de PLB, favoreciendo la entrada de  $Ca^{2+}$  al RtS a través de la ATPasa. También estimula la liberación de  $Ca^{2+}$  desde el RtS al fosforilar la RyR2.

Asimismo, puede generar una corriente de entrada de  $Ca^{2+}$  desde el medio extracelular a través del intercambiador NCX (en funcionamiento inverso), generando post-despolarizaciones tardías (DADs). La CaMKII igualmente provoca la reactivación de corrientes de calcio a través de los canales tipo-L, siendo responsables de las post-despolarizaciones tempranas (EADs). Por otro lado, la CaMKII nuclear induce la fosforilación de las histona-desacetilasas (HDAC), siendo entonces incapaces de inhibir la transcripción del factor estimulador del miocito 2 (MEF2), implicado en el desarrollo de hipertrofia e insuficiencia cardíaca (35).

De esta forma, las células miocárdicas con despolarizaciones espontáneas anormales y actividad repetitiva pueden convertirse en focos ectópicos, esto es,

ser originadores del estímulo cardiaco. Las venas pulmonares constituyen un ejemplo de foco ectópico, como se explica más adelante. Si coinciden varios focos ectópicos a la vez, se producen múltiples frentes de onda que ocasionan una actividad eléctrica caótica y favorecen la inducción de arritmias.

- Mecanismos electrofisiológicos:

Focos ectópicos: las venas pulmonares son consideradas unas de las zonas desencadenantes o *trigger* (“gatillo”) de la FA paroxística debido a la orientación de las fibras musculares, y a que sus células presentan un PRE corto. Por ello, la ablación de la desembocadura de las venas pulmonares en la aurícula izquierda provoca un alargamiento del ciclo de la FA y la reversión a ritmo sinusal con bastante éxito. En cambio, en el caso de FA persistente, estas zonas *trigger* están extendidas por toda la aurícula, por lo que es más difícil la conversión a ritmo sinusal.

Según la Hipótesis de Moe (36) o de *wavelets* (ondículas) múltiples, existen numerosas ondículas propagándose de manera independiente y caótica por la aurícula, y chocando entre sí. Esto puede causar el mantenimiento de la FA.

- Factores genéticos: la FA tiene un componente familiar, sobre todo en la FA de aparición en edad temprana de la vida. En los últimos años varios estudios han demostrado la heredabilidad de la FA aislada, indicando que la FA familiar es más común de lo que parecía. Esta importante base genética comprende:

- Mutaciones en canales iónicos: del K<sup>+</sup> (KCNQ1 asociado a QT largo, KCNQ2, KCNA5), del Na<sup>+</sup> (SCN5A asociado a miocardiopatía dilatada), del calcio.
- Enfermedades monogénicas: miocardiopatía hipertrófica, miopatías esqueléticas, amiloidosis familiar, canalopatías (Síndrome QT largo tipo 4, Síndrome de Brugada, Síndrome de QT corto).
- Proteínas del eje renina-angiotensina: algunos estudios demuestran la eficacia de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) como tratamiento preventivo de la FA.
- Genes implicados en la cadena respiratoria mitocondrial (ver apartado IV).
- Otros: péptido natriurético atrial, conexinas, interleukinas, ... (37, 38).

## I.4.MITOCONDRIA Y FIBRILACIÓN AURICULAR:

### I.4.a. Mitocondria (39):

La mitocondria es un orgánulo celular donde tienen lugar muchas reacciones del metabolismo celular ( $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico,...) (Figura 14), pero su principal función es la producción de energía en forma de ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.

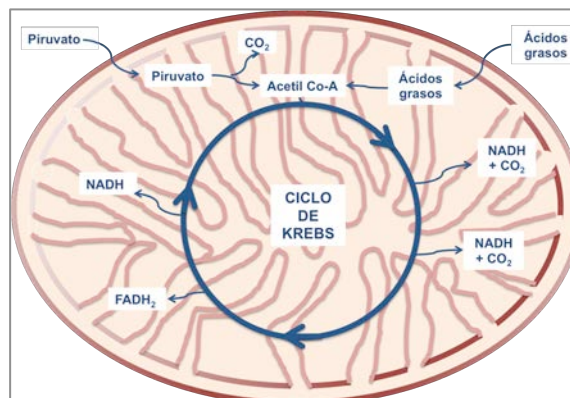


Figura 14. Ciclo de Krebs.

Está constituida por dos membranas, externa e interna; el espacio entre ambas se denomina espacio intermembrana, y el que queda rodeado por la membrana interna es la matriz mitocondrial.

La membrana externa posee diferentes tipos de proteínas que permiten el paso de iones, metabolitos y polipéptidos, por lo que son denominadas porinas (porque forma un poro para el paso de dichos elementos) o VDAC (del inglés *voltage-dependent anionic channel*).

La membrana interna presenta invaginaciones designadas como “crestas mitocondriales”. Carece de poros y es altamente selectiva al paso de sustancias e impermeable a los iones debido a la presencia de un 20% de cardiolipina (fosfolípido de membrana). Contiene numerosos transportadores de moléculas y complejos enzimáticos, entre los que se incluye la cadena respiratoria.

Dentro de las proteínas transportadoras de la membrana interna se observan:

- Nucleótido de adenina translocasa: a su través el ADP se introduce a la matriz mitocondrial desde el espacio intermembrana (que previamente viene del citosol), y permite la translocación del ATP sintetizado en la matriz hacia el espacio intermembrana, que luego es transportado al citosol.
- Fosfato translocasa: se encarga del paso del fosfato desde el citosol a la matriz mitocondrial, esencial para la fosforilación del ADP en el proceso de fosforilación oxidativa.

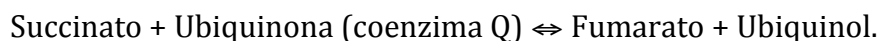
Una de las características más importantes de este orgánulo tan especializado es que tiene su propio genoma, localizado en la matriz mitocondrial.

**I.4.b. Sistema OXPHOS:**

El proceso por el cual se genera ATP en la mitocondria es conocido como fosforilación oxidativa, que tiene lugar en el sistema OXPHOS o cadena respiratoria, localizada en las crestas mitocondriales. Esta estructura está compuesta por cinco complejos enzimáticos codificados por unos 900 genes, de los cuales sólo 13 se encuentran en el genoma mitocondrial y el resto en el nuclear.

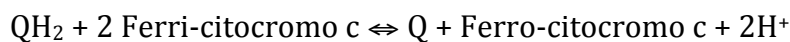
Los complejos de la cadena respiratoria son:

- Complejo I = NADH-Coenzima Q óxido-reductasa o deshidrogenasa: cataliza la transferencia de dos electrones del NADH+H<sup>+</sup> al coenzima Q, utilizando como transportadores de electrones el flavín-mononucleótido (FMN) y seis centros de hierro-azufre. La energía liberada en este proceso permite el bombeo de H<sup>+</sup> al espacio intermembrana.
- Complejo II = Succinato-Coenzima Q óxido-reductasa o deshidrogenasa: está formado por 4 subunidades (A, B, C y D) codificadas por el ADN nuclear. Contiene flavín-adenín-dinucleótido (FAD) y un centro hierro-azufre, y cataliza la reacción:



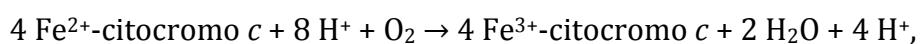
Para ello, el FADH<sub>2</sub> se oxida, cediendo sus protones a la ubiquinona o coenzima Q, que se reduce a ubiquinol (QH<sub>2</sub>). Este complejo no bombea H<sup>+</sup> al espacio intermembrana.

- Complejo III = Coenzima QH<sub>2</sub> (ubiquinol)-Citocromo c óxido-reductasa o citocromo bc<sub>1</sub>: contiene 11 subunidades, tres de las cuales intervienen en la fosforilación oxidativa: citocromo b, citocromo c<sub>1</sub> y proteína hierro-azufre de Reiske. Este complejo enzimático cataliza la siguiente reacción:

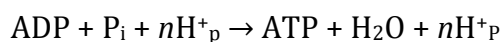


La energía liberada en el proceso permite el bombeo de H<sup>+</sup> al espacio intermembrana.

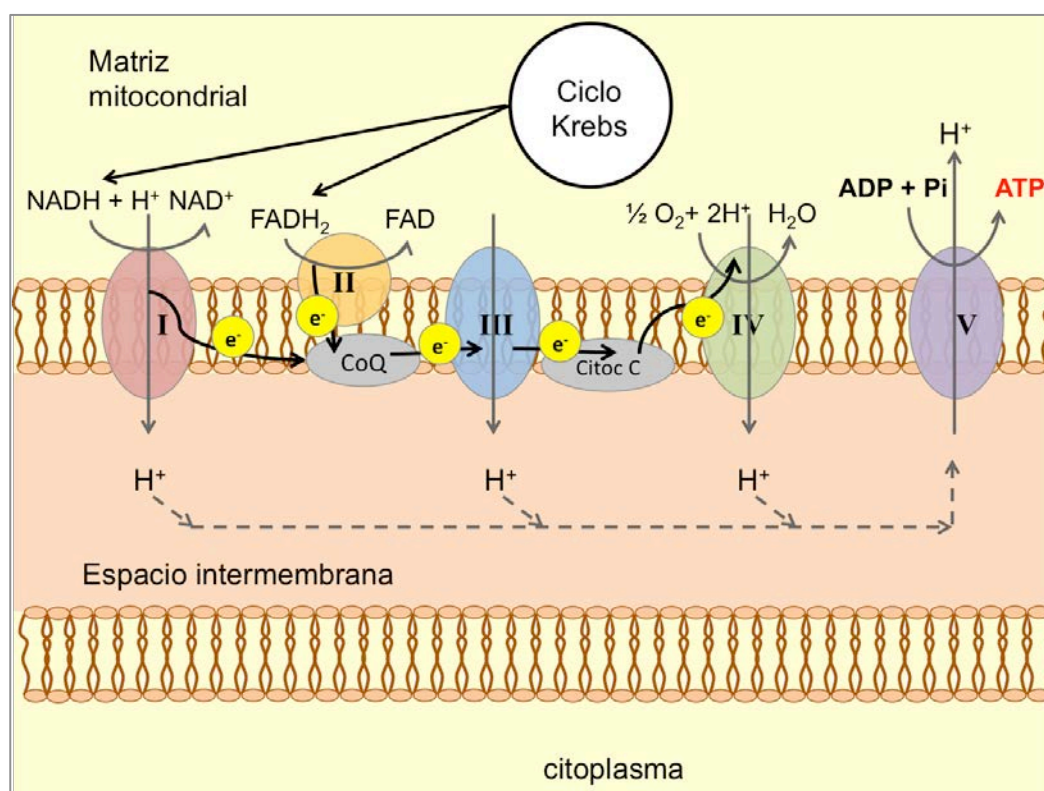
- Complejo IV: Citocromo c oxidasa: se encarga de la transferencia de 4 electrones desde el citocromo c hasta el O<sub>2</sub> para formar dos moléculas de agua. La energía liberada en esta reacción permite el bombeo de H<sup>+</sup> al espacio intermembrana. Contiene dos centros de cobre (Cu) que intervienen como transportadores de electrones.



- Complejo V = F<sub>0</sub>-F<sub>1</sub> ATP sintasa: cataliza la síntesis de ATP a partir de ADP + P<sub>i</sub>, utilizando la energía electroquímica generada por la translocación de protones del espacio intermembrana a la matriz mitocondrial (40).



En resumen, la **fosforilación oxidativa** depende de la oxidación de los sustratos NADH+H<sup>+</sup> y FADH<sub>2</sub> generados en la glucólisis y el ciclo de Krebs, de manera que liberan sus electrones a la cadena respiratoria, donde los complejos I, III y IV bombean protones (H<sup>+</sup>) de la matriz al espacio intermembrana, generando un gradiente electroquímico. Cuando la diferencia en la concentración de H<sup>+</sup> entre el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial es 100-1000 veces mayor, los H<sup>+</sup> entran por la ATP-sintasa a la matriz formando ATP (fuerza protón-motriz) (39, 41) (Figura 15).

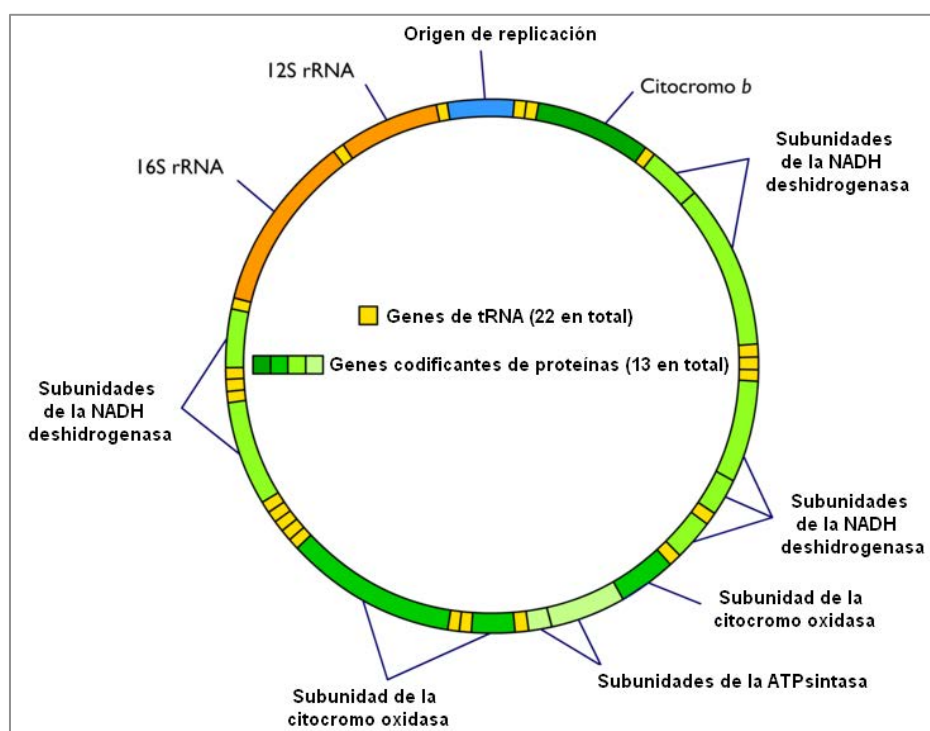


**Figura 15.** Cadena respiratoria y proceso de fosforilación oxidativa.

#### I.4.c. Genoma mitocondrial:

El ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) es una molécula circular de doble hélice con un total de 16.569 pares de bases (pb). Consta de 37 genes: 24 intervienen en el mecanismo de traducción del ácido ribonucleico mitocondrial (ARNmt), de los cuales 22 corresponden al ARN de transferencia (ARNt) y 2 al ARN ribosomal (ARNr); los 13 restantes codifican subunidades de cuatro de los

complejos de la cadena respiratoria (Figura 16). Se hereda por línea materna, es decir, que los hijos tanto varones como mujeres reciben únicamente el ADNmt de la madre.



**Figura 16.** ADN mitocondrial (42).

Las células contienen numerosas mitocondrias y por lo tanto existen múltiples copias de genoma mitocondrial en cada célula, característica denominada “poliploidía” (39). De esta manera, si todas las copias de una célula son iguales se habla de “homoplasmia”, mientras que si ésta presenta dos o más variantes, se denomina “heteroplasmia”. Por ello, la función mitocondrial se verá afectada sólo cuando el porcentaje de variantes mutantes que se encuentran en una célula supere un determinado umbral (número que varía dependiendo del tipo de mutación y de tejido). Durante la división celular, la segregación aleatoria de las mitocondrias justificaría por qué el nivel o porcentaje de copias mutantes cambia en los distintos tejidos y a lo largo de la vida.

#### I.4.d. Haplogrupos y subhaplogrupos mitocondriales:

##### - Definiciones básicas:

Para comprender el concepto de Haplogrupo, es necesario entender primero la gran variabilidad del ADNmt. El genoma mitocondrial presenta una alta tasa de mutaciones, siendo algunas patológicas y otras no. Estas últimas son consideradas

como variantes de la normalidad más que mutaciones propiamente dichas, ya que son altamente prevalentes en la población, y son denominadas “polimorfismos”. Los polimorfismos de las distintas regiones del ADNmt se transmiten de forma asociada, lo que determina la clasificación de distintas variantes del ADNmt denominadas haplogrupos, según los polimorfismos que reúnan.

El término **Haplogrupo** fue utilizado por primera vez por Torroni *et al.* en 1992 (43), y se define como una variante genética mitocondrial caracterizada por la presencia de determinados polimorfismos. Cada polimorfismo corresponde al cambio en un nucleótido (SNP = *Single Nucleotide Polymorphism*).

Los individuos pertenecientes a un haplogrupo pueden presentar otros polimorfismos que no definen haplogrupo, y que determinarán sus Haplotipos particulares.

- Técnicas de estudio de variabilidad mitocondrial:

La identificación de los polimorfismos se realiza mediante diversas técnicas de biología molecular: enzimas de restricción, por secuenciación directa, entre otras.

Mediante la técnica de “Análisis de restricción enzimática” o “*Restriction Fragment Length Polymorphism*” (RFLPs), los haplogrupos se definen por la ausencia o presencia de “posiciones de restricción”, es decir, de dianas de corte para determinadas enzimas de restricción. Según si se utilizan más o menos enzimas para hacer el estudio, se obtendrán análisis de restricción de alta o baja resolución, respectivamente.

Además, se puede realizar la “Secuenciación de las regiones hipervariables” de la región control. La región control es un área del ADNmt que no codifica ningún gen y presenta una alta frecuencia de mutación, por lo que contiene áreas denominadas “hipervariables”. Hay 2 tipos de hipervariables: HVI (posiciones 16.024–16.365) y HVSII (posiciones 73-574). De acuerdo a esta técnica, los haplotipos se definen según la combinación de nucleótidos o mutaciones en la secuencias de bases de las áreas hipervariables de la región control, principalmente HVI, por ser la más polimórfica.

- Tipos y Distribución de Haplogrupos:

Los haplogrupos son designados por las letras del alfabeto en mayúsculas, y algunos haplogrupos se dividen en subhaplogrupos.



Se ha observado una distribución geográfica de los haplogrupos mitocondriales, cuya frecuencia es variable según el origen sea caucásico (población blanca-europeoide), negroide (población negro-africana) o mongoloide (asiático-amarilla).

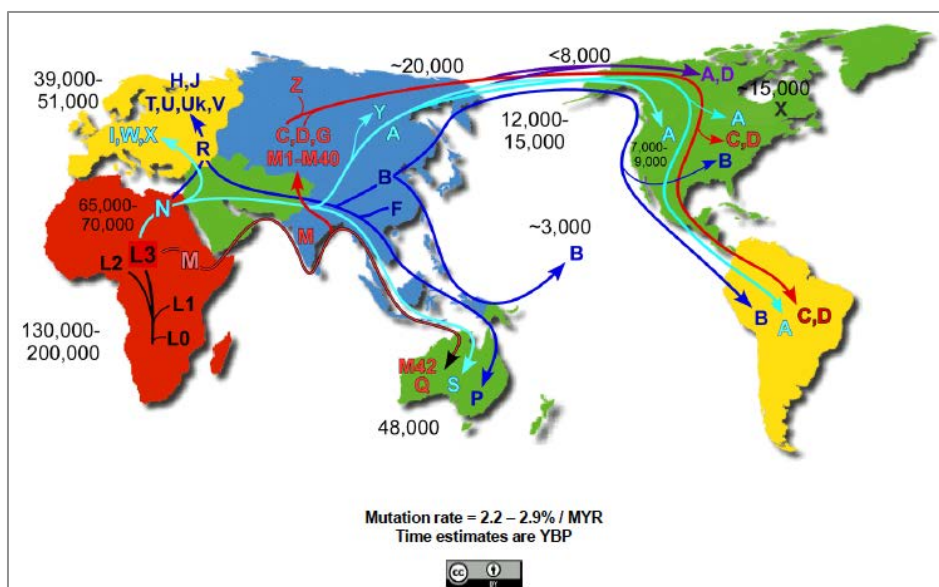
Se distinguen 9 haplogrupos caucásicos típicos: H, T, U, V, W, X, I, J y K. El más frecuente en la población europea es el H, con una prevalencia del 40,5% (44), seguido del U (20,5%). El menos prevalente es el haplogrupo W (1,8%) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Prevalencia de los haplogrupos caucásicos.

Haplogrupo	Prevalencia	Haplogrupo	Prevalencia
H	40,5%	V	4,8%
U	20,5%	I	3,2 %
Uk*		X	2,5%
T	10,6%	W	1,8%
J	7,6%		

\*Uk: antiguamente llamado K.

El estudio de los haplogrupos permitió conocer las migraciones de las poblaciones ancestrales (Figura 17). Gracias a ello, se ha establecido el origen de la población humana actual en África, mediante la llamada “Eva mitocondrial” (subhaplogrupo L1), que sería el ancestro común más reciente femenino de la especie *Homo sapiens*.



**Figura 17.** Migraciones poblacionales según los haplogrupos mitocondriales. (45)

Por otro lado, los haplogrupos mitocondriales determinan variantes de las proteínas de la cadena respiratoria, lo que condiciona una eficiencia distinta de dichos complejos. Por ejemplo, el haplogrupo J (7,6% de la población europea), menos eficiente en el proceso de fosforilación oxidativa, generaría menor cantidad de ATP. Sin embargo, esta aparente desventaja va acompañada de una menor producción de ROS y mayor generación de calor. Esto explicaría por qué este haplogrupo es más prevalente en los países nórdicos (46-48). En contraposición, el haplogrupo H codifica complejos proteicos más eficientes (49), consumiendo más oxígeno, lo que genera mayor cantidad de ATP y radicales libres, y menos calor (50).

#### **I.4.e. Clasificación de las alteraciones del ADNmt:**

Las alteraciones patológicas del ADN mitocondrial se clasifican en: mutaciones genéticas y alteraciones de la dosis genómica.

- Mutaciones genéticas: afectan a la secuencia de bases del ADNmt (51) y pueden generar alteraciones del funcionamiento del sistema OXPHOS de mayor o menor gravedad. A su vez incluyen:
  - Mutaciones puntuales, que siguen la herencia materna antes mencionada.
  - Mutaciones de reordenamiento genético a gran escala, que son de carácter esporádico, no heredadas. En este grupo se distinguen:
    - Deleción parcial: pérdida de un fragmento de ADNmt que, para ser compatible con la vida, debe presentarse en heteroplasmia. Entre ellas cabe destacar la “deleción común” como la más frecuente.
    - Duplicación de algún fragmento de ADNmt, que, dependiendo de la zona duplicada, puede inducir alteraciones de distinta gravedad.
- Depleción de la dosis genómica, es decir, la disminución del número de copias de ADNmt por célula, respecto a la que sería normal para el tejido correspondiente.

#### **I.4.f. Alteraciones del ADNmt relacionadas con la Fibrilación auricular:**

Como se ha explicado previamente, los factores genéticos son muy importantes en la fisiopatogenia de la fibrilación auricular. Diversos estudios han analizado el ADN mitocondrial en personas afectas de fibrilación auricular, hallándose diversas alteraciones que podrían estar relacionadas con esta arritmia.

Entre las deleciones del ADN mitocondrial asociadas a FA, la más frecuente de ellas es la deleción común o deleción de 4977 pb, presente en el tejido auricular de individuos con FA según distintos autores (52, 53). En dichos estudios se vio que la deleción 4977 pb se asociaba también a mayor edad (54), que a su vez influye en el desarrollo de FA.

Otro grupo de trabajo surcoreano (55), sin embargo, no encontró la mencionada deleción en los pacientes con FA que analizaron. Por el contrario, estudiaron mutaciones en la región control del ADNmt y en los genes de la citocromo c oxidasa I, II y III, ATPasa 6 y citocromo b en muestras apareadas de sangre y tejido auricular de individuos afectados de FA y de controles (ritmo sinusal), con los siguientes resultados:

- No había diferencias significativas en el número de copias de ADNmt cuando comparaban pacientes con FA y controles. No obstante, el tejido auricular presentaba un número de copias 6 veces mayor al de las células sanguíneas, lo que es normal en tejidos muy demandantes de energía.
- En el grupo de individuos con FA se encontraron patrones de heteroplasmia en las regiones hipervariables de la región control, localizadas en el polyC 303 de la región HVII y en el polyC 16184 de la región HVI.
- En el tejido auricular hallaron repeticiones de los nucleótidos citosina-adenina (CA) empezando en el nucleótido 514, que no se observaron en las muestras sanguíneas.
- Otro hallazgo fue la deleción de 9 pb entre los genes citocromo c oxidasa II (COII) y lisina ARNt, únicamente observada en asiáticos.

## **I.5. ESTRÉS OXIDATIVO Y FIBRILACIÓN AURICULAR:**

### **I.5.a. Radicales libres de oxígeno y estrés oxidativo:**

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*) son moléculas altamente reactivas generadas durante el proceso de fosforilación oxidativa. Incluyen iones de oxígeno (superóxido,  $O_2^-$ ), radicales libres (hidroxilo,  $OH\cdot$ ) y peróxidos (peróxido de hidrógeno,  $H_2O_2$ ). Estos compuestos se llaman así porque contienen un enlace débil al poseer un electrón sin pareja, por lo que son muy inestables, reaccionando con facilidad con otras moléculas para conseguir el electrón que les falta. Dichas moléculas (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos...) al perder un electrón se convierten en radicales libres a su vez y así sucesivamente.

Tienen un importante papel en la señalización celular, mediando en la activación de la muerte celular y apoptosis, pero también inducen la expresión de genes de defensa y afectan al sistema de transporte de iones.

No obstante, cuando sus niveles aumentan pueden generar daño estructural celular de diferentes maneras: alteración del ADN, oxidación de ácidos grasos poliinsaturados y oxidación de aminoácidos en las proteínas. A este efecto dañino se le denomina **Estrés oxidativo**.

### **I.5.b. Envejecimiento celular, muerte celular y apoptosis:**

La apoptosis, también llamada muerte celular programada, se desencadena por señales celulares controladas genéticamente, entre otros, el gen supresor de tumores p53. Se diferencia de la necrosis en que en esta última la muerte celular ocurre como consecuencia de la acción de un agente nocivo agudo sobre los tejidos o células.

El envejecimiento celular viene determinado por varios mecanismos, siendo dos de ellos el acortamiento de los telómeros de los cromosomas del ADN nuclear y el ataque de las ROS sobre el ADNmt.

Los telómeros se encuentran localizados en los extremos de los cromosomas y están formados por secuencias repetitivas de nucleótidos no codificantes. En cada replicación del ADN nuclear (ADNn) se acortan los telómeros, y cuando llegan a una longitud mínima, se desencadena el proceso de muerte celular. Dicho acortamiento está limitado por una enzima denominada telomerasa, que se encarga de restituir la longitud normal de los telómeros, en el estado embrionario y en células tumorales.

A diferencia del ADNn, el ADNmt es más vulnerable a la agresión de sustancias lesivas, ya que está más expuesto a las ROS (que se generan en la propia mitocondria) y porque carece de histonas\* que lo protejan. Si las ROS dañan el ADNmt, se alteran los componentes de la cadena respiratoria y se produce menor ATP. Cuando los niveles de ATP disminuyen por debajo de un umbral, se activa la apoptosis celular.

\* Las histonas son proteínas que se enlazan con el ADNn, produciendo su enrollamiento y conformando la cromatina. De esta manera, el ADNn queda en el interior, y por tanto, más protegido de los agentes externos.

Para contrarrestar la acción de las ROS, existen diversos mecanismos antioxidantes (56):

- Enzimas que degradan las ROS: superóxido dismutasa (que transforma el anión  $O_2^-$  en  $H_2O_2$ ); catalasa y glutatión peroxidasa (que detoxifican el  $H_2O_2$  para evitar que se convierta en hidroxilo).
- Sustancias con efectos antioxidantes:
  - Presentes en organismo: ácido úrico, ceruloplasmina (proteína transportadora del cobre) y fracción plasmática libre de la transferrina.
  - De origen alimentario:  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), los carotenoides (como el  $\beta$ -caroteno), los polifenoles (como el ácido cafeico y la quercetina) y el ascorbato (vitamina C, capaz de regenerar los demás antioxidantes, como el glutatión o el  $\alpha$ -tocoferol) (57).

Mediante la inducción de muerte celular y apoptosis, se ha visto que las ROS también intervienen en la generación de lesión isquémica (ACV e isquemia miocárdica) (56, 57).

#### I.5.c. Trastornos de la cadena respiratoria:

Los trastornos en la cadena respiratoria mitocondrial (*MRC*D, acrónimo en inglés de *Mitochondrial Respiratory Chain Disorders*) pueden afectar clínicamente a múltiples tejidos, pero los más prevalentes son el sistema nervioso y el músculo-esquelético. Las manifestaciones cardiacas son muy frecuentes, e incluyen miocardiopatía hipertrófica y dilatada, trastornos en el tejido de conducción, entre otros (58-60).

Como se ha mencionado en apartados anteriores, los cambios en las proteínas de la cadena respiratoria, pueden aumentar la cantidad de ROS producidas y, como consecuencia, incrementar el estrés oxidativo. Este aumento **podría influir en la fisiopatogenia de la fibrilación auricular**, no sólo mediante el envejecimiento celular antes explicado, sino también a través del remodelado auricular y de trastornos electrofisiológicos. Las ROS en general afectan a las uniones intercelulares *-gap junctions-*, y producen fibrosis miocárdica (implicada en el remodelado auricular y la arritmogenicidad). Como ejemplos de alteraciones electrofisiológicas debidas a esta causa, se han citado la prolongación del potencial

de acción e inducción de la actividad *trigger* por el  $H_2O_2$  y la disminución de la reserva de polarización por el  $OH^-$  (46).

Por tanto, dada la codificación dual de los componentes de la cadena respiratoria, los *MRC*D podrían deberse tanto a mutaciones en el genoma nuclear como en el mitocondrial.

#### I.5.d. Estrés oxidativo y Homeostasis del calcio:

Se ha demostrado que el **estrés oxidativo puede ocasionar una constante y alta concentración citoplasmática de calcio** de diversas maneras (61):

1. *Disminuyendo la evacuación de calcio*: la oxidación del grupo  $SH^-$  de las  $Ca^{2+}$ -ATPasa provocaría su desactivación y por tanto reduciría el paso del calcio al retículo sarcoplásmico, y la salida de dicho catión al medio extracelular (62).
2. *Aumentando la entrada de calcio* mediante 2 mecanismos distintos:
  - a) El daño directo del estrés oxidativo sobre la membrana celular condicionaría un aumento de la permeabilidad de la misma, permitiendo la entrada de calcio. Esto activaría enzimas degradativas dependientes de calcio que podrían generar una lesión celular irreversible con pérdida de la impermeabilidad de la membrana (61).
  - b) La oxidación de  $NADH+H^+$  y  $NADPH+H^+$  intramitocondriales que provocaría un flujo acelerado de calcio desde la mitocondria al citoplasma. Parece tratarse de un círculo vicioso, ya que se ha observado que los quelantes del calcio inhiben la formación de radical  $OH^-$ , deduciéndose de esto que el calcio originaría a su vez producción de ROS (63).
3. *Por acción de la familia NOX: NADPH oxidasa*: (Figura 18) (64)

Se trata de un grupo de proteínas que transfieren electrones a través de la membrana. Pueden estar situadas tanto en la membrana celular como en la de los orgánulos intracelulares. Normalmente son más afines al NADPH que al NADH, y su función es reducir el oxígeno a anión superóxido, mediante la transferencia de un electrón al oxígeno. Por ello se considera que el objetivo de la familia NOX es la producción de ROS.

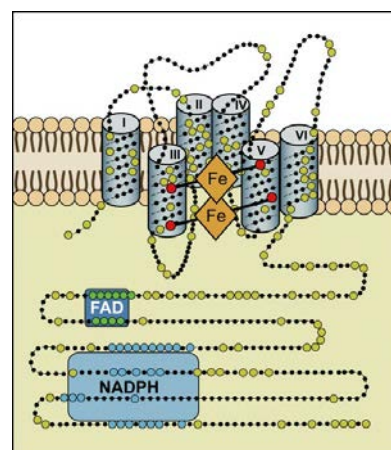


Figura 18. NADPH oxidasa.

La familia NOX tiene muchas funciones: respuesta defensora contra infecciones, inflamación, muerte celular, señalización celular, expresión de genes, regulación del crecimiento celular...

Interviene en la homeostasis del calcio, gracias a la regulación de los canales y bombas que participan en dicha homeostasis, y lo hace mediante dos mecanismos: modificaciones ROS-dependientes de los canales (por ejemplo, oxidación de residuos cisteína) y despolarización celular dependiente de transferencia de electrones.

- a) Canales de calcio de membrana: las enzimas NOX-NADPH oxidasa provocan un aumento de la apertura de los canales de calcio tipo L (65). El mecanismo no es bien conocido, pero se piensa que pueda deberse a la oxidación de residuos de aminoácidos de los canales (66), o también a una despolarización provocada por el transporte de electrones dependiente de NOX (64).
- b) Liberación del calcio desde los orgánulos celulares: los residuos de cisteína del RyR son muy sensibles a la oxidación por ROS (67), lo que ocasionaría una activación de dicho receptor, provocando la liberación del calcio desde el RtS en forma de *calcium sparks* (68). Además, las ROS dependientes del sistema NOX también pueden actuar sobre los receptores IP<sub>3</sub> (64).
- c) Bombas de calcio ATPasa: pueden sufrir un proceso denominado S-glutotiolación, que consiste en la interacción del glutatión y del peroxinitrito, que deriva del óxido nítrico y del anión superóxido, con los residuos cisteína de las bombas de calcio, (69) provocando su activación a bajas concentraciones de ROS. Cuando existe un estrés oxidativo importante, se produce la oxidación irreversible de los grupos tiol, que conlleva la inhibición de la enzima (70).

Asimismo, la producción de ROS secundaria a la acción de NOX induce la expresión genética de diversos factores, entre ellos, la angiotensina II, que interviene en el remodelado auricular.

La familia NOX tiene diferentes isoformas, y la que se encuentra presente en los miocardiocitos adultos es el NOX2. Esta isoforma está involucrada en la regulación de cascadas de señalización, como modulación de fosfatasa y quinasas, activación de proteasas e inactivación del óxido nítrico superóxido-dependiente (64).

El gen NOX2 está localizado en el cromosoma X en los seres humanos. Diversos estudios han observado que los niveles de expresión de NOX2 y de producción de ROS están aumentados en los miocardiocitos tras infarto agudo de miocardio, en

respuesta a la angiotensina II en la aorta y corazón, y en las arterias coronarias en pacientes con cardiopatía isquémica. Igualmente, la producción de ROS dependiente de NOX2 está aumentada en los miocitos auriculares en pacientes con fibrilación auricular (33).

4. Por la acción de la CaMKII como mediador entre el estrés oxidativo y el calcio intracelular:

Como se explica en el apartado I.2.c, la CaMKII juega un papel muy importante en la homeostasis del calcio, y dicha enzima puede verse afectada por el estrés oxidativo. De esta manera, la oxidación de un par de Metioninas (M281/282) del dominio regulador de la CaMKII (ox-CaMKII) impide su auto-inhibición, independientemente de los niveles de calcio, permaneciendo activa de manera constante (56, 71). Se ha visto que los pacientes con FA presentan una mayor expresión de ox-CaMKII en tejido auricular que aquellos en ritmo sinusal, aunque los niveles totales de CaMKII no están alterados (72).

La ox-CaMKII tiene diversos efectos. Por un lado, favorece la activación de los canales de calcio tipo-L mediante la fosforilación de la Treonina 498 (T498) de la subunidad  $\beta$  reguladora de los canales, generando corrientes de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ). Esta "*I<sub>CaL</sub> facilitation*" por la ox-CaMKII es más prolongada (más de una hora) que la CDF provocada por la CaMKII auto-fosforilada (varios segundos) (16). Por otro, a través de la fosforilación de RyR2 provoca una mayor cantidad de *calcium sparks* diastólicas desde el RtS, facilitando las DADs. De hecho, se ha comprobado que los pacientes con FA asocian una mayor fosforilación de RyR2 a nivel de S2814. Igualmente se ha encontrado que la ox-CaMKII podría actuar como mediador de la acción de la angiotensina II sobre la homeostasis del calcio intracelular y la generación de ROS (16, 72).

Otros autores han observado que el fosfolambán está hiperfosforilado en el tejido auricular de pacientes con FA por la acción de la CaMKII, siendo entonces incapaz de inactivar la ATPasa que introduce calcio al RtS (73).



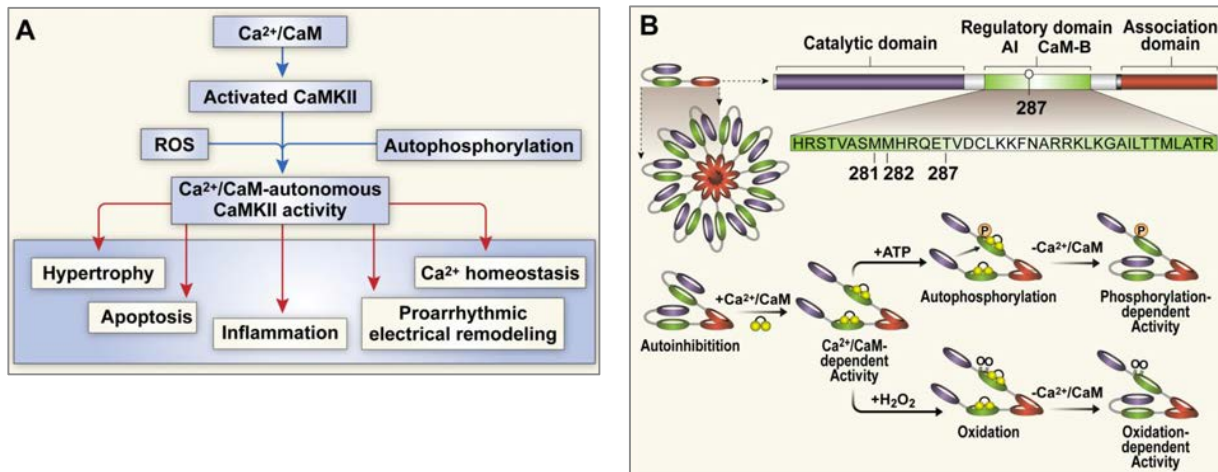
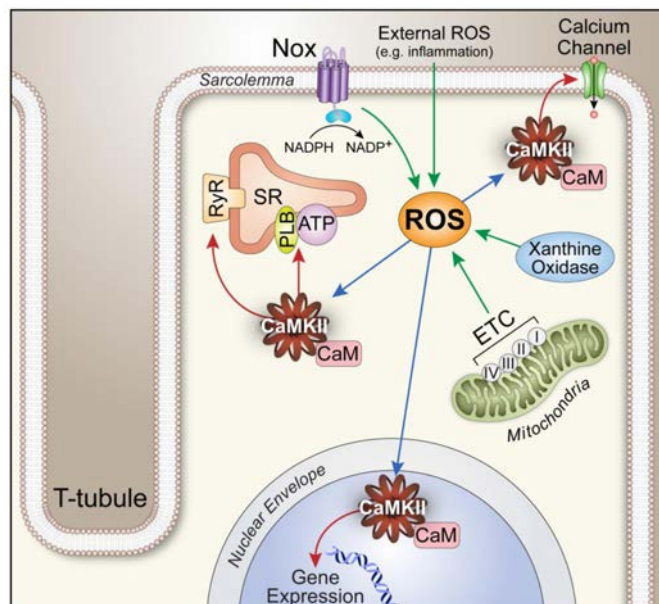


Figura 19. Efectos de la CaMKII y mecanismos de activación sostenida (56).

Figura 20. Estrés oxidativo(56) .

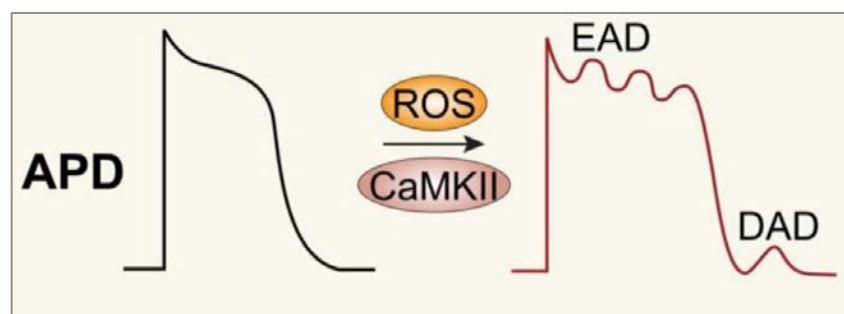


5. Por la acción de la CaMKII y otros iones:

Por otro lado, el calcio no es el único ión afectado por el daño oxidativo. Las ROS producen la activación de la protein kinase C (PKC), que a su vez favorece la producción de ROS. La PKC y la CaMKII generan alteraciones en las corrientes de Na<sup>+</sup>, y las ROS aumentan la actividad de los canales de K<sup>+</sup> dependientes de ATP (K<sub>ATP</sub>) (74).

La ox-CaMKII activa los canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje, y se ha visto que las ROS también pueden activarlos gracias a dos mecanismos, uno dependiente de la ox-CaMKII y otro independiente, por la oxidación de una metionina de dichos canales. Las corrientes de entrada de Na<sup>+</sup> inhiben la NCX que en condiciones normales extrae calcio de la célula, por lo que aumenta la concentración del mismo

en el citoplasma, prolongando el potencial de acción y pudiendo dar lugar a post-despolarizaciones anómalas (16, 56) (Figura 21).



**Figura 21.** Efectos de las ROS y la CaMKII en el Potencial de acción.

Los canales  $K_{ATP}$  están situados en la membrana celular, y se encargan de la salida de  $K^+$  del citosol al medio extracelular, hiperpolarizando la membrana e impidiendo la activación de los canales de calcio. Estos canales se localizan también en la membrana externa. *In vitro* se ha demostrado que el  $H_2O_2$  aumenta la corriente  $I_{KATP}$  en miocitos ventriculares (75).

#### 6. *mPTP* y estrés oxidativo:

La porina de transición de permeabilidad mitocondrial (en inglés, *mPTP*: *mitochondrial permeability transition pore*) es un complejo proteico dependiente de calcio, formado por la asociación de un canal aniónico voltaje-dependiente (VDAC) situado en la membrana mitocondrial externa, el transportador de nucleótidos de adenina (ANT) en la membrana interna y la ciclofilina D (CyP-D, isómero mitocondrial de las ciclofilinas) en la matriz mitocondrial (76).

La *mPTP* está ausente o cerrada en condiciones fisiológicas (77), pero se abre en situaciones de altas concentraciones de calcio o por la acción de ROS (superóxido, peroxinitrito) permitiendo el paso de moléculas de hasta 1500 Daltons (78). Esta apertura provoca la despolarización de la membrana interna mitocondrial y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, que conlleva disminución de la génesis de ATP e interviene asimismo en los procesos de muerte celular por activación de la cascada de caspasas (57).

En resumen, los diferentes autores que han trabajado en el tema han observado que los niveles de  $Ca^{2+}$  en el citosol están relacionados, a través de complejos mecanismos, con los niveles de ATP y el estrés oxidativo de la célula.

## I.6.FIBRILACIÓN AURICULAR TRAS CIRUGÍA CARDIACA

### I.6.a. Introducción y conceptos básicos sobre la cirugía cardiaca:

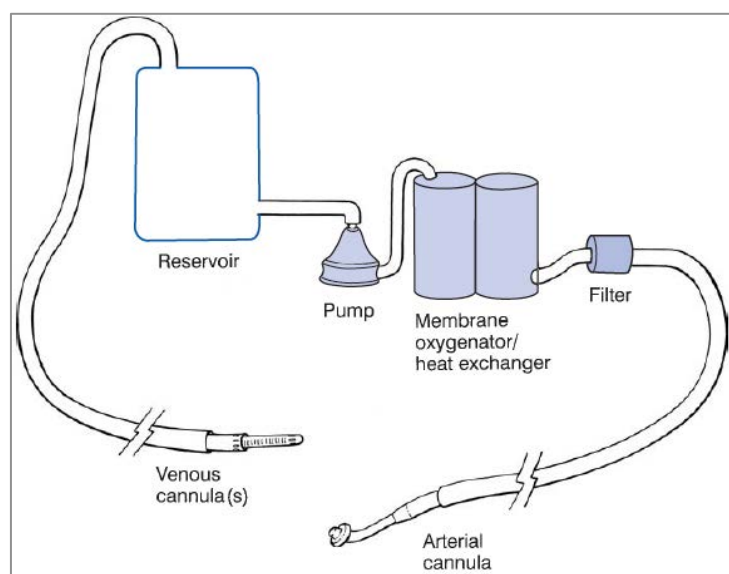
La cirugía cardiaca es una opción terapéutica para aquellas personas que padecen alguna enfermedad del corazón que no tiene solución con tratamiento médico.

Para poder llevar a cabo las intervenciones quirúrgicas cardiacas con seguridad, es importante mantener el campo quirúrgico exangüe, y en muchas ocasiones, se precisa que el corazón esté parado. Por esta razón, durante la primera mitad del siglo XX se desarrollaron técnicas y dispositivos para hacer esto posible, naciendo de esta manera la "Circulación extracorpórea".

#### - Circulación extracorpórea (CEC):

La CEC consiste en conectar el corazón a una máquina que hace las funciones de corazón y pulmón durante la cirugía, permitiendo trabajar con el corazón parado y libre de sangre, pero a la vez se asegura la correcta perfusión del organismo con sangre oxigenada.

La conexión del corazón a la máquina de CEC se realiza mediante unas cánulas que se introducen en el corazón y grandes vasos a través de pequeñas incisiones. De esta manera, se extrae la sangre venosa de la aurícula derecha y se dirige a un reservorio. Posteriormente la sangre es bombeada, luego oxigenada y finalmente es devuelta a la aorta ascendente del paciente, garantizándose la distribución de la sangre por las arterias del organismo, con una concentración de oxígeno y una presión adecuadas. (Figuras 22 y 23) (79).



**Figura 22.** Esquema básico del circuito de CEC con oxigenador de membrana y bomba centrífuga.



### I.6.c. Implicaciones clínico-sanitarias:

Aunque la FAPC puede ser autolimitada, habitualmente provoca alteraciones hemodinámicas, mayor mortalidad y aumenta el riesgo de ACV postoperatorio, infarto de miocardio perioperatorio, arritmias ventriculares e insuficiencia cardiaca. Como consecuencia de esta mayor morbi-mortalidad, aumenta la estancia hospitalaria y el coste sanitario (80, 81). Asimismo se han visto complicaciones hemorrágicas (epistaxis, hematoma retroperitoneal,...) derivadas del tratamiento anticoagulante iniciado por FAPC.

### I.6.d. Fisiopatogenia:

En relación a la fisiopatogenia de la FAPC, los factores de riesgo se superponen a aquellos de la FA no quirúrgica previamente explicados. No obstante, algunos grupos proponen la existencia de un substrato electrofisiológico para esta arritmia previo a la cirugía (81), y ciertos factores perioperatorios podrían actuar como desencadenantes de la FAPC: cardiectomía y manipulación cardiaca, la respuesta inflamatoria local y sistémica, el uso de catecolaminas o la activación simpática refleja por hipovolemia, anemia, dolor, fiebre e hipo/hiperglicemia y otras alteraciones metabólicas (disfunción tiroidea) y electrolíticas (80, 82) (Figura 24).

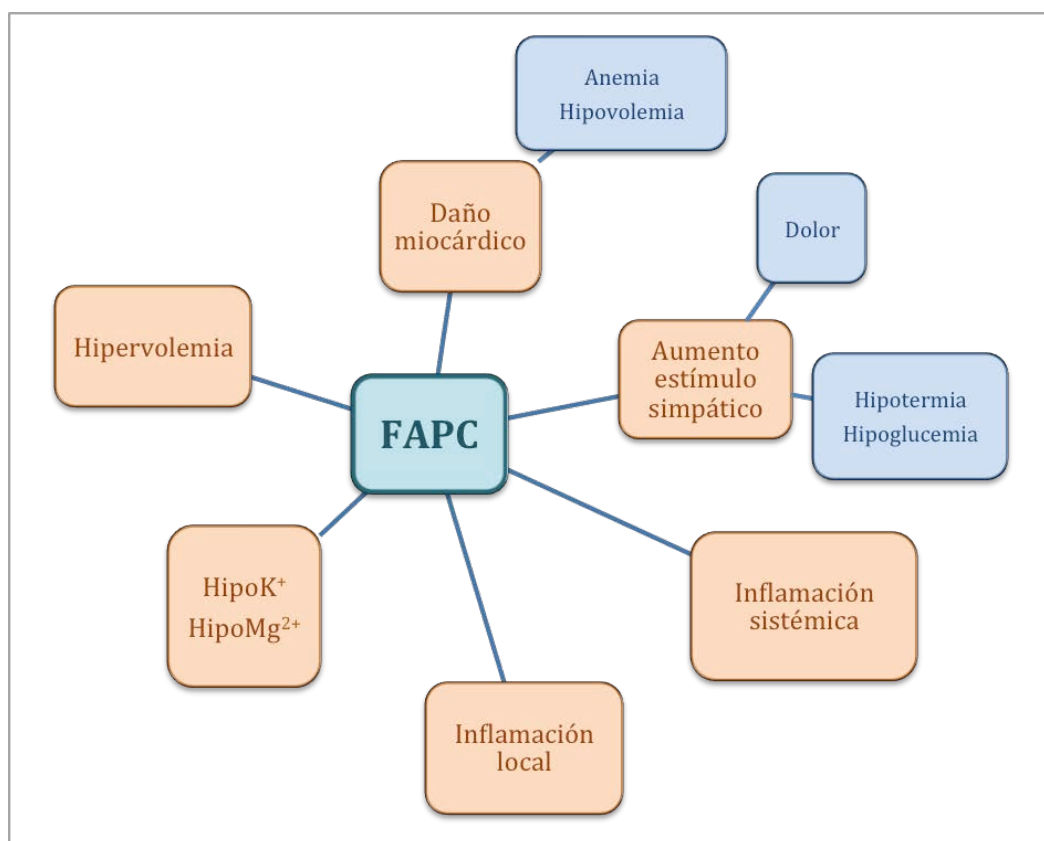


Figura 24. Factores perioperatorios desencadenantes de la FAPC.

- *Factores mecánico-locales:*

La manipulación cardiaca y la pericardiotomía generan inflamación local. Algunos autores hablan de pericarditis transitoria estéril, y se ha visto que está asociada a la aparición de FAPC. Asimismo, dicha pericarditis ocasiona inflamación auricular; de hecho, algunos grupos han analizado cortes histológicos de muestras auriculares de pacientes intervenidos de cirugía cardiaca, hallando aumento de fibroblastos epicárdicos, con pérdida de miocitos epicárdicos, así como alteraciones en las conexinas 40 y 43. Otros centros han evidenciado infiltrados de linfocitos en tejido auricular (“miocarditis auricular”) (83), y la mayor presencia de CD 45 positivos en la orejuela derecha en pacientes que presentaron FAPC (84).

Igualmente, la inflamación auricular provoca la activación de mieloperoxidasa, enzima que cataboliza una reacción en la que se originan tóxicos como, por ejemplo, el radical hidroxilo (85).

Estos cambios histopatológicos, también favorecidos por el aumento de la presión auricular por aturdimiento ventricular postoperatorio, pueden predisponer a alteraciones electrofisiológicas predisponentes de FA: acortamiento del periodo refractario efectivo (PRE) auricular y/o circuitos de reentrada (80).

- *Estimulación simpática:*

Tanto el dolor postoperatorio como la propia manipulación cardiaca estimulan el sistema autónomo simpático. Esto, añadido a una mayor sensibilidad de las células miocárdicas auriculares a las catecolaminas por la movilización cardiaca, contribuye a la FAPC. Por ejemplo, la norepinefrina aumenta la frecuencia cardiaca sinusal y la actividad auricular ectópica. Además, la disminución del PRE atrial se asocia a perpetuación de la arritmia (86).

También se ha comprobado que la denervación simpática durante la cirugía disminuye la incidencia y severidad de FAPC, de lo que se deduce la implicación del sistema simpático en la fisiopatogenia de la misma (86).

Algunos autores afirman que la analgesia epidural torácica alta disminuye la incidencia de arritmias auriculares al conseguir un mejor control del dolor y por el cierto grado de bloqueo simpático que produce (87).

En el manejo perioperatorio de estos pacientes, es frecuente el uso de fármacos inotrópicos y vasoactivos, observándose que la milrinona provoca un aumento del adenosin-monofosfato cíclico (AMPC) mediante la inhibición de la enzima fosfodiesterasa, activándose la protein kinasa A, que a su vez activa corrientes iónicas

(incluyendo aquellas dependientes de los canales de calcio tipo-L). Otros inotrópicos como la dobutamina y la dopamina pueden predisponer a FAPC mediante el aumento de actividad ectópica y por la activación más lenta de las corrientes rectificadoras de K<sup>+</sup> tardías, provocando un acortamiento del PRE (88).

Además, como muchos pacientes llevan tratamiento con beta-bloqueantes, al quedar estos discontinuados por la cirugía, si no se reinician tempranamente, provocan un fenómeno de rebote que, asociado al mayor tono simpático postoperatorio, predispone a FAPC.

- *Respuesta inflamatoria sistémica:*

La cirugía cardíaca y el dolor provocan una respuesta inflamatoria sistémica y local. De hecho, algunos grupos han demostrado una alta concentración sanguínea de proteína C reactiva (PCR) y citocinas proinflamatorias, como la interleukina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), en pacientes con FA, como consecuencia de la activación del complemento (89). Por esta razón, se ha propuesto que el aumento de la cifra leucocitaria es un predictor independiente de FAPC.

Por otro lado, como la respuesta inflamatoria favorece la liberación de ROS, que acortan el periodo refractario efectivo, se justificaría la FAPC observada por algunos autores (29, 80).

- *Volemia:* tanto la hipovolemia como la hipervolemia pueden ser factores precipitantes de FA.

La hipovolemia y la hipotensión arterial ocasionan un menor retorno venoso, que, como consecuencia, disminuye el gasto cardíaco. Ante la hipovolemia el organismo responde con una mayor segregación de catecolaminas para aumentar las resistencias vasculares periféricas, y tal como se ha explicado antes, el estímulo simpático facilita la generación de arritmias (90).

La hipervolemia intraoperatoria aumenta el volumen diastólico intracavitario, y genera distensión auricular que a su vez produce alteraciones eléctricas en los miocitos auriculares: acortamiento del PRE y despolarizaciones anormales transitorias (80).

- *Hipoxia y Anemia:*

La falta de aporte de oxígeno a los tejidos y la anemia estimulan el sistema simpático para intentar aumentar el gasto cardíaco (80). Por otro lado, la

vasoconstricción pulmonar secundaria a la hipoxia (91) origina sobrecarga del ventrículo derecho y distensión auricular derecha, que actúa como *trigger* de FAPC. Además, la isquemia celular auricular altera sus propiedades eléctricas.

- Hipotermia:

La temperatura corporal baja instaurada durante la CEC también asocia una respuesta simpática y como consecuencia FAPC (92). De hecho, se ha observado una correlación positiva entre el grado de hipotermia y la mayor incidencia de FAPC durante la CEC (93).

- Alteraciones iónicas:

Los trastornos iónicos más relacionados con FAPC son la hipopotasemia y la hipomagnesemia, por lo que la corrección de dichas alteraciones es muy importante para prevenir la aparición de FA en el periodo postoperatorio (92).

Otras alteraciones iónicas también incluyen aquellas relacionadas con la homeostasis intracelular del calcio. Como se ha explicado antes, el tono simpático activa las corrientes  $I_{CaL}$ , y la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  puede ocasionar despolarizaciones anormales tardías. Algunos grupos de trabajo han observado, en muestras de tejido auricular, que los pacientes que desarrollaban FAPC presentaban mucha mayor frecuencia de  $I_{CaL}$  que los individuos con FA crónica; la densidad de  $I_{CaL}$  era menor en los que se mantenían en RS postoperatoriamente respecto a los que presentaban FAPC (32).

Por otro lado, se ha visto que como consecuencia de la fibrilación auricular, se acumula calcio intracelular, lo que produce una disminución de las corrientes  $I_{CaL}$ ; esto origina un acortamiento del PRE auricular, perpetuando la FA (94). Sin embargo, no se ha podido demostrar que los cambios preoperatorios en canales del  $Ca^{2+}$  y  $K^+$  jueguen un papel importante en la génesis de FAPC (95).

- Alteraciones en la matriz intercelular auricular:

El envejecimiento ocasiona un desacoplamiento de las conexiones latero-laterales entre las fibras musculares orientadas paralelamente, generando una disminución de la conducción transversal y, como consecuencia, anisotropía en la velocidad de conducción, es decir, comportamiento variable de la conducción en cada miocito. Además, con la edad se acumula colágeno en la matriz intercelular de la pared auricular



y del septo interauricular, alterando la conducción, siendo ésta más lenta (con ondas P más alargadas) y favoreciendo circuitos de reentrada (94).

También se ha observado que los pacientes con valvulopatía mitral presentan mayor cantidad de cambios estructurales a nivel auricular. De esta manera, la dilatación de la aurícula izquierda se relaciona de forma independiente con la FAPC (96).

Por otro lado, está demostrado que las uniones intercelulares son clave para la conducción de célula a célula. Puesto que la conexina 40 forma parte de estas uniones entre miocardiocitos, es coherente que la modificación de la expresión de dicha conexina induzca una conducción heterogénea, como algunos autores han publicado previamente (97).

- *Alteraciones metabólicas:*

La hipoglucemia perioperatoria genera una mayor actividad simpática y secreción de catecolaminas, precipitando y prolongando los episodios de FAPC (98).

Asimismo, la hiperglucemia también favorece la FAPC mediante diversos mecanismos: altera la membrana celular y las propiedades eléctricas de los miocardiocitos, y favorece la liberación de ROS que lesionan las células, activando la apoptosis celular, y, por consiguiente, induciendo arritmias (99).

Se ha visto que el hipotiroidismo también se asocia a mayor incidencia de FAPC, sobre todo tras cirugía de revascularización miocárdica (100). El mecanismo no es bien conocido, pero sugiere que los niveles bajos de tirotrópina (T3) podrían alterar los compartimentos intracelulares de calcio y generar corrientes anormales de calcio (101).

- *Estrés oxidativo en cirugía cardíaca:*

Daño isquemia-reperfusión:

Como ha sido previamente comentado, gran parte de los procedimientos de cirugía cardíaca requieren circulación extracorpórea con isquemia cardíaca controlada. Para reducir el sufrimiento miocárdico, se emplean métodos de protección miocárdica basados en el principio de disminuir lo máximo posible el consumo y las necesidades de oxígeno. Mediante la “cardioplejia”, una solución con alto contenido en potasio, se induce la parada cardíaca en diástole (ya que los requerimientos de oxígeno son menores en esta fase del ciclo cardíaco), encontrándose entonces en situación de isquemia. Otros métodos de protección miocárdica incluyen la hipotermia y la descompresión de cavidades cardíacas (esta última con el objetivo de disminuir la

presión transmural), situaciones ambas de bajo consumo de oxígeno. Una vez terminado el procedimiento quirúrgico se puede administrar una solución de “reperusión” y se despinza la aorta, para que el corazón recupere la contractilidad.

En el proceso de isquemia-reperusión que sufre el corazón se generan radicales libres de oxígeno (ROS), responsables del daño oxidativo celular. De hecho, se ha visto que el principal *trigger* o mecanismo desencadenante de producción de ROS en el miocardio es el daño de reperusión (102), siendo los pacientes de edad avanzada los más vulnerables a dichas sustancias.

Uno de los aspectos del estrés oxidativo que se han relacionado con la génesis de FAPC es el aumento de la actividad de la NADPH oxidasa, siendo el factor predictor de FAPC más importante. La activación de la NADPH oxidasa no parece estar relacionada con el daño isquemia/reperusión, sino que es producida por los agentes vasoactivos (angiotensina II, endotelina I) e inflamatorios (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) generados durante la cirugía (103).

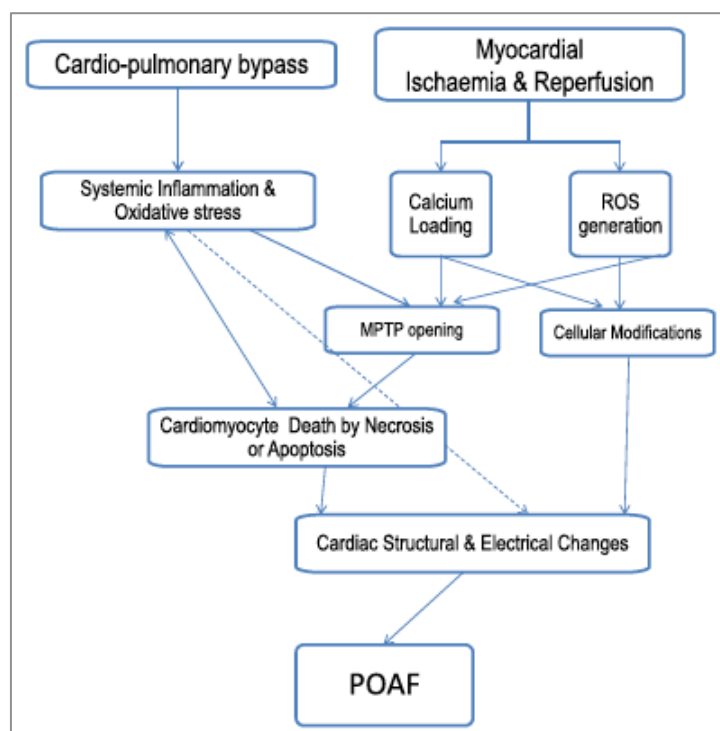
Algunos estudios han encontrado, a su vez, una mayor cantidad de peroxinitrito en individuos con FA permanente, sustancia que oxida los lípidos celulares, proteínas y ADN y participa en los procesos de apoptosis y muerte celular. Estos daños provocan la pérdida de la función de las proteínas fibrilares con la consecuente disfunción auricular (104).

Igualmente, la interacción del óxido nítrico (NO) y del superóxido genera peroxinitrito que, mediante el desacoplamiento de las NO-sintasas, origina menor producción de NO (105).

Se ha comprobado que no hay diferencias entre los niveles basales de anión superóxido de pacientes que se mantienen en ritmo sinusal postoperatoriamente y los que presentan FAPC. No obstante, la producción de anión superóxido estimulada por la NADPH oxidasa sí se asocia con la aparición de FAPC (103), y está relacionada con la edad, pero no con la función ventricular, la diabetes mellitus o con el uso de estatinas, ARA-II o IECAs. Por el contrario, los niveles basales de anión superóxido presentan asociación con el grado de disfunción ventricular izquierda y la insuficiencia cardiaca crónica (33).

Se ha visto que la inflamación es igual de importante que el daño isquemia/reperusión a la hora de producir radicales libres de oxígeno.

La Figura 25 (106) resume los posibles mecanismos implicados en la génesis de FAPC.



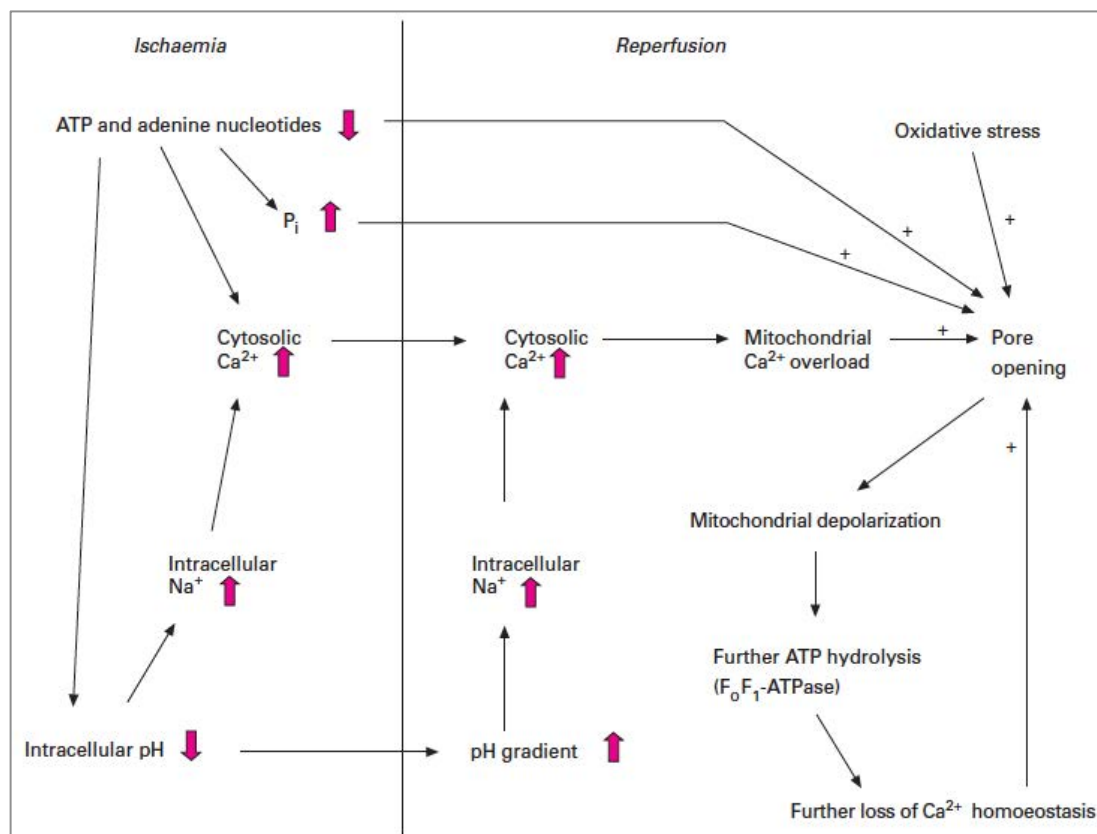
**Figura 25.** Diagrama que muestra el efecto de la circulación extracorpórea y del daño isquemia-reperfusión en el remodelado cardíaco, que puede derivar a FAPC. ROS: radical oxidative species; MPTP: mitochondrial permeability transition pore; POAF: post-operative atrial fibrillation

#### Disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y FAPC:

Montaigne *et al.* (2013) observaron una asociación entre la disfunción mitocondrial y el desarrollo de FA tras cirugía cardíaca coronaria. Comprobaron que en los pacientes que presentaban FAPC:

- El ritmo de “respiración mitocondrial” a partir de sustratos tanto carbohidratos (piruvato y malato) como lipídicos (palmitol-L-carnitina), eran menores.
- La actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa dependiente de manganeso (MnSOD) estaba aumentada.
- La sensibilidad de apertura de los mPTP también estaba incrementada y ocurría en la fase de reperfusión, como consecuencia de las alteraciones generadas durante el periodo de isquemia (107). La Figura 26 muestra un esquema sobre la apertura de mPTP, en que los grupos fosfatos ( $P_i$ ) actúan como coadyuvantes del calcio. Los ROS provocan la apertura del mPTP mediante la oxidación de los residuos *vic*-tiols del mismo.

Estos dos últimos se consideraron signos indirectos de mayor producción de ROS a nivel mitocondrial (108).



**Figura 26.** Esquema de apertura de mPTP en daño isquemia-reperfusión (109).

Reilly *et al.* (2011), sin embargo, encontraron que las ROS secundarias a la actividad de la NADPH oxidasa podían lesionar el ADNmt y los complejos proteicos de la cadena respiratoria, proponiendo la disfunción mitocondrial como el *link* entre el estrés oxidativo y la aparición de arritmias (110).

Otro de los mecanismos propuestos para explicar el daño de isquemia-reperfusión es también la disfunción mitocondrial. La isquemia miocárdica genera una menor producción de energía en las mitocondrias, lo que conlleva una acumulación de metabolitos intracelulares (por ejemplo, lactato), que induce la disminución del pH y el aumento de las concentraciones de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>, consumiendo más ATP. Esto genera alteraciones de canales y bombas iónicas, provocando la despolarización de membrana y pérdida de excitabilidad. La principal causa del daño de reperfusión es la sobrecarga de Ca<sup>2+</sup> intracelular y la producción de ROS, que empeoran la disfunción mitocondrial, aumentando la apertura de mPTP (102).

- Factores de riesgo de la FAPC:

Algunos autores también han evaluado los factores de riesgo de fibrilación auricular no quirúrgica, y han concluido que no todos condicionan una mayor incidencia de

fibrilación auricular tras cirugía cardiaca. Es el caso de la diabetes mellitus y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que se relacionan con la FA en la población general, pero no en la población de postoperados cardiacos.

Otros factores sí parecen asociarse a FAPC, como son la edad y el remodelado auricular. Como se ha explicado anteriormente, el envejecimiento celular genera fibrosis y alteraciones en la longitud de onda (definido como el producto de la velocidad de conducción y el periodo refractario efectivo), siendo ésta considerada como el mejor predictor electrofisiológico de FAPC. El remodelado auricular determina una mayor susceptibilidad; no obstante, por sí sólo no es suficiente para la aparición de FAPC, sino que precisaría de factores inducidos por la cirugía para alcanzar el “umbral” necesario para desencadenar FAPC (82).

#### **I.6.e. Prevención de FAPC:**

- Mecanismos antiinflamatorios:

##### Estatinas:

Un metaanálisis demostró que el uso de estatinas preoperatoriamente estaba asociado a una menor incidencia de FAPC, menores niveles de marcadores inflamatorios postoperatorios, menor ictus y menor estancia hospitalaria. Sin embargo, todavía no se conoce cuál es la mejor dosis, tipo y duración del tratamiento con estatinas para este fin (111, 112).

##### Esteroides:

Varios estudios, entre ellos dos metaanálisis, demostraron que el uso de corticoides disminuía de manera significativa la incidencia de FAPC y la estancia en UCI (113, 114), aunque existe algún estudio posterior que no confirmó dicha asociación (115).

##### Antioxidantes:

Varios grupos de investigación han estudiado el efecto de los antioxidantes en la profilaxis de la FAPC, con resultados controvertidos. Por un lado, se ha visto que la vitamina C, como fuente de ascorbato, disminuía la formación del peroxinitrito, por lo que el acortamiento del PRE era menor. De esta manera, se reducía la incidencia de FAPC, así como el tiempo de reversión a RS y la estancia hospitalaria en caso de pacientes que sí presentaron FAPC (116). Sin embargo, sólo parece ser efectivo en

las fases tempranas del remodelado, y perdería el efecto en las fases más tardías. Asimismo, la N-acetilcisteína demostró prevenir la aparición de FAPC (117, 118), pero sin efecto en la estancia hospitalaria (117).

Por otro lado, no hay resultados concluyentes en cuanto al papel de los ácidos grasos poliinsaturados (en inglés, *PUFA*). Mientras unos autores concluyen que aumentan el estrés oxidativo (119), lo que justificaría el efecto proarrítmico de estos PUFAs (120), otros, según un metaanálisis, únicamente han observado que estos compuestos no reducen el riesgo de FAPC (121).

Asimismo, otro estudio observó que la combinación de vitamina C, vitamina E y PUFAs parecía aumentar el potencial antioxidante, atenuando el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, consiguiendo, de este modo, reducir la incidencia de FAPC (122).

#### Hemodiafiltración vena-vena continua (HDFVVC) y técnicas de depuración:

Estos procedimientos se emplean no sólo en casos de fallo renal, sino también para disminuir o modular la respuesta inflamatoria sistémica. De hecho, se ha visto que la HDFVVC es capaz de “limpiar” o eliminar marcadores de inflamación como la IL-6, TNF $\alpha$  y complejos del complemento C3a y C5a, tanto en el postoperatorio como durante la CEC (80). Sin embargo, a pesar de su papel en la modulación de la inflamación, un estudio comprobó que la HDFVVC durante la CEC no disminuía la incidencia de FAPC (115).

#### - Otros fármacos:

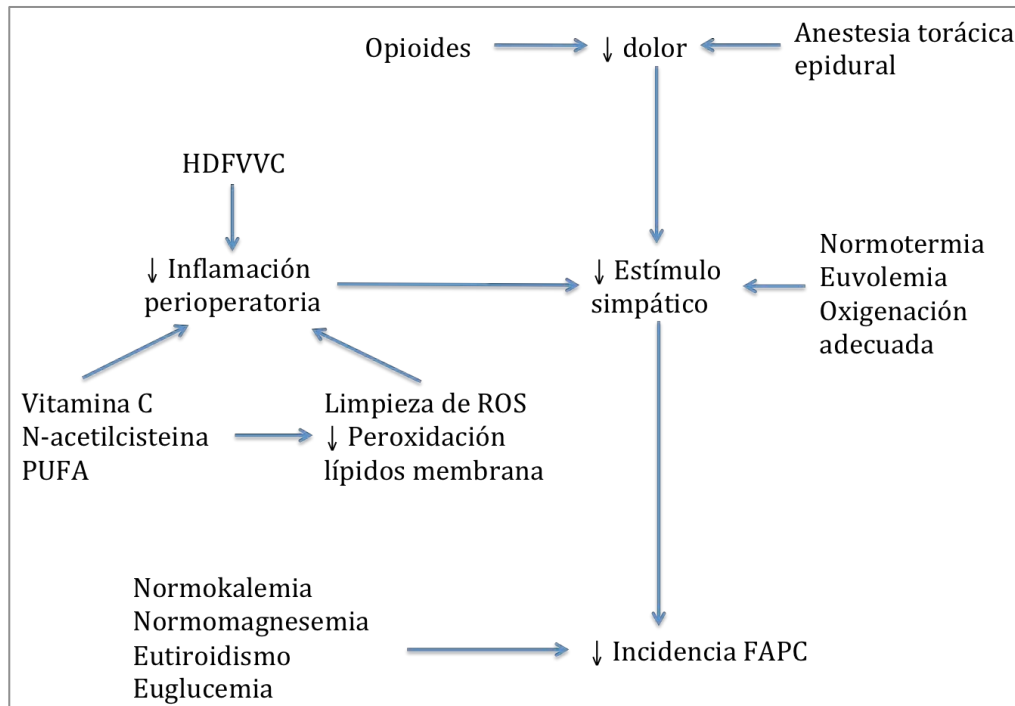
##### IECAS:

Ha sido publicado por algunos grupos que pacientes que tomaban IECAs mostraban menor prevalencia, no significativa, de FAPC (123). Por el contrario, otros no han evidenciado asociación entre el uso de IECAs preoperatorio y la incidencia de FAPC cuando se ajusta por comorbilidades (124, 125).

##### Anestésicos volátiles:

Diversos ensayos clínicos sugieren que los anestésicos volátiles, y sobre todo el sevoflurano, son cardioprotectores y funcionan como agentes anti-inflamatorios durante la cirugía cardíaca. Los mecanismos por el que actúan como cardioprotectores podrían ser varios: efecto mediado por la apertura de canales

$K_{ATP}$  mitocondriales (126) o mediado por ROS/derivados de nitrógeno (127). Asimismo, se ha observado que el sevoflurane disminuía la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  (128). No obstante, hay pocos estudios que comparen la incidencia de FAPC según el tipo de anestésico utilizado: Hemmerling *et al* (2010) concluyeron que los pacientes que recibieron sevoflurane presentaban menor incidencia significativa de FAPC comparado con el grupo en los que se utilizó desflurane (129).



**Figura 27.** Profilaxis no farmacológica de FAPC (traducido de Chelazzi *et al.* 2011) (80). HDFVVC: hemodiafiltración vena-vena continua.

## II. HIPÓTESIS

---





A lo largo de la Introducción, se han expuesto las evidencias encontradas por distintos autores sobre la importancia de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en la fisiopatogenia de la FA. Puesto que el estrés oxidativo puede provocar alteraciones en el  $\text{Ca}^{2+}$ , parece muy probable la implicación de las ROS en la fisiopatogenia de esta arritmia.

Siendo la mitocondria la estructura celular responsable de la mayor producción de ATP y ROS, es coherente suponer que el fondo genético (haplogrupos) y el contenido genómico mitocondrial puedan ser factores que contribuyen a la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  y, por tanto, que estén implicados en la fisiopatogenia de la FA.

### **II.1. HIPÓTESIS:**

El fondo genético y el contenido genómico mitocondrial, así como el efecto del estrés oxidativo en la homeostasis del calcio pueden ser factores que contribuyen a la aparición y perpetuación de la fibrilación auricular.



### III. OBJETIVOS

---



### III.1. OBJETIVOS:

#### II.1.a. **Objetivo principal:**

En pacientes intervenidos de cirugía cardiaca con circulación extracorpórea:

1. Analizar la asociación no ajustada entre el Haplogrupo mitocondrial H (FONDO GENÉTICO) y la fibrilación auricular postoperatoria de nueva aparición.
2. Analizar la asociación no ajustada entre el **Contenido relativo de ADN mitocondrial** en miocito auricular (FONDO GENÓMICO) y la fibrilación auricular postoperatoria de nueva aparición.
3. Determinar la existencia de factores de confusión del efecto del Haplogrupo mitocondrial H sobre la incidencia de fibrilación auricular postoperatoria de nueva aparición.
4. Analizar el efecto ajustado por factores de confusión del **Haplogrupo mitocondrial H** y del **Contenido relativo de ADN mitocondrial mayor a la mediana** sobre la incidencia de fibrilación auricular postoperatoria de nueva aparición.

#### II.1.b. **Objetivo secundario:**

1. Cuantificar el **Daño oxidativo** en miocito auricular y su relación con el ritmo cardiaco pre y postoperatorio.
2. Cuantificar la frecuencia de **Delección común en el genoma mitocondrial** del miocito auricular según el ritmo cardiaco pre y postoperatorio.

Estudiar la asociación, según el ritmo cardiaco, entre los factores genéticos, genómicos y oxidativos mitocondriales con:

3. El **Tamaño celular** del miocardiocito auricular.
4. La **Corriente de entrada de calcio** a través de la membrana celular.
5. **Liberación espontánea de calcio** desde el retículo sarcoplásmico.



## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS:**

---





## IV.1. MUESTRAS

Para este Proyecto de Investigación se utilizaron muestras de tejido auricular guardadas en la Colección del Centro Investigación Cardiovascular. Dichas muestras se habían extraído de pacientes intervenidos de cirugía cardiaca para estudios previos electrofisiológicos (Ver “Criterios de inclusión y exclusión” en apartado IV.2.b). Se seleccionaron aquellas muestras de las que se disponía de material remanente suficiente para los análisis mitocondriales.

### IV.1.a. Consideraciones éticas:

Este estudio respeta los principios establecidos en la Declaración de Helsinki (2000), en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina (BOE 20 de octubre de 1999) y en la Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos (publicado el 11 de noviembre de 1997). Así mismo se ajusta a los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación médica (Ley 14/2007 de 3 de julio (BOE 4 de julio) y la protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, BOE de 14 de diciembre, modificada el 5 de marzo de 2011) y cumple los requisitos exigidos por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.

## IV.2. SUJETOS DE ESTUDIO

### IV.2.a. Cohorte de Población de referencia de Cirugía cardiaca:

- *Objetivo:* se analizaron diferentes variables clínicas de la población de referencia de donde se extrajo la cohorte de muestras, con la finalidad de valorar la representatividad de la población de referencia y de identificar factores predictores de fibrilación auricular postoperatoria.

- *Criterios de inclusión:*

Se usaron los datos recogidos de manera rutinaria de todas las intervenciones de cirugía cardiaca mayor con apertura de pericardio (con o sin circulación extracorpórea) que tuvieron lugar en nuestro centro desde enero de 2009 a diciembre de 2015.

- Criterios de exclusión:

No se incluyeron los pacientes intervenidos de cirugía de trasplante cardiaco, ya que en la evolución de ritmo cardiaco intervienen factores dependientes del corazón del donante. También se excluyeron los pacientes con ritmo de marcapasos preoperatorio.

#### IV.2.b. Cohorte de Muestras auriculares:

- Criterios de inclusión:

Pacientes mayores de 18 años intervenidos de cualquier tipo de cirugía cardiaca con circulación extracorpórea en nuestro centro desde el año 2009, que hayan firmado el consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki para la recogida de muestra auricular durante la intervención.

- Criterios de exclusión:

- Contraindicación de laboratorio para la obtención de muestras celulares: serologías víricas positivas (VIH, Virus Hepatitis B/C) o no conocidas en enfermo de riesgo, neoplasia o infección activa.
- Contraindicación quirúrgica para la obtención de tejido auricular: anatomía auricular desfavorable, reintervenciones, cirugía urgente/emergente, accesos mínimamente invasivos (mini-toracotomías y mini-esternotomías) y la opinión del cirujano responsable.
- Ausencia de consentimiento informado previo para la obtención de muestras auriculares.

#### IV.3. MATERIAL:

##### IV.3.a. Reactivos y Kits:

- *Primers* (cebadores)
- TaqMan Universal Master Mix kit (Toyobo, Japan)
- SYBR Green
- Medios intra y extracelulares para patch-clamp

**IV.3.b. Equipamiento:** (Ver apartado “VII. Definiciones” para conceptos)

- Termociclador para *Real-Time PCR*.
- Amplificador EPC-10 (HEKA Elektronik): para medir las corrientes de membrana.

**IV.3.c. Software científico y protocolos electrofisiológicos:**

Se utilizó el software Patch-master y Fitmaster de HEKA para controlar el amplificador EPC-10 y para el análisis de datos, respectivamente.

**IV.4. MÉTODOS:****IV.4.a. Tipo de estudio:**

Se diseñó un estudio de Casos y Controles retrospectivo. Se seleccionaron las muestras auriculares disponibles en la Colección que tuvieran tejido remanente suficiente para los estudios mitocondriales. Después, una vez conocido el ritmo cardiaco postoperatorio del paciente, las muestras se dividieron en 3 grupos:

- Grupo 1: pacientes con FA preoperatoria. Se utilizó como grupo control positivo.
- Grupo 2: pacientes con RS pre- y postoperatorio (RS-No FAPC). Se empleó como grupo control negativo.
- Grupo 3: pacientes con RS preoperatorio que presentaron FA tras cirugía cardiaca (RS-FAPC). Fue el grupo “Caso” de interés.

La definición de “Caso” (FAPC) se estableció como todo episodio de nueva aparición de fibrilación auricular que se presentó tras cirugía cardiaca durante el ingreso hospitalario, cuya duración fuera mayor a cinco minutos o requiriera cardioversión eléctrica o farmacológica. El diagnóstico de FA se realizó según los criterios electrocardiográficos descritos en el apartado I.3.b.

Posteriormente, una vez organizadas las muestras en los Grupos, se analizaron las variables que se explican en el apartado IV.5.

**IV.4.b. Obtención y Recogida de las Muestras:**

Los fragmentos se obtuvieron aprovechando las suturas necesarias para establecer la circulación extracorpórea durante la cirugía (ver apartado I.4.a.) y en localizaciones accesibles y fácilmente controlables por el cirujano para cerciorarse

de la máxima seguridad del paciente. El lugar de elección fue la orejuela de la aurícula derecha, pudiendo variar según la anatomía cardíaca o criterio del cirujano responsable. En caso de acceso auricular izquierdo en cirugías sobre la válvula mitral, la muestra se extrajo de la aurícula izquierda.

Un miembro del equipo del Laboratorio de Fisiología Celular (ver apartado IV.7) era el encargado de recoger el tejido auricular extraído y una muestra sanguínea, y transportarlos al laboratorio de investigación para su inmediato procesamiento.

#### IV.4.c. Procesamiento de las muestras:

- *Aislamiento de los miocitos auriculares humanos:*

Para evitar la degradación del tejido, éste se sumerge en la solución Tyrode sin calcio, fría, a la que se añade 30 mM de monoxima-2,3-butanediona, inmediatamente después de la extracción. El tejido se corta en esta solución.

El fragmento que se utilizará para el estudio electrofisiológico se incubó a 35°C en una solución libre de calcio que contiene 0,5 mg/ml de colagenasa (Worthington tipo 2) y 0,5 mg/ml de proteinasa (Sigma type XXIV). Después de 45 minutos se retiró a una solución libre de calcio y de enzimas y se disgrega con una pipeta Pasteur. El tejido restante se sigue digiriendo en tandas de 15 minutos en una solución con 0,4 mg/ml de colagenasa. Una vez obtenidas las células, se almacenan en una solución de mantenimiento, a la que se incrementa gradualmente la concentración de calcio hasta alcanzar 1mM. Únicamente se utilizarán los miocitos alargados y sin gránulos.

- *Conservación del tejido:*

El tejido auricular se conservó como Colección con referencia C0003470, en las instalaciones del Centro de Investigación Cardiovascular, con dirección en Barcelona, calle Sant Antoni Maria Claret 167, siendo el Dr. Leif Hove-Madsen el responsable de la misma.

- *Envío de un fragmento de las muestras a Fundación Rioja Salud:*

Se seleccionaron muestras de la Colección antes mencionada, se introdujeron en hielo seco y se enviaron vía correo postal urgente a la Fundación Rioja Salud para la determinación de las variantes genéticas y genómicas mitocondriales. Las muestras se enviaron en tres tandas temporales (marzo 2015, marzo 2016 y noviembre 2016), siendo posteriormente normalizados sus resultados de acuerdo a las condiciones experimentales de cada momento de análisis.

## IV.5. VARIABLES:

Se diseñó el formulario “Hoja de recogida de datos” para la colección de los datos de los pacientes de los que se obtuvo muestra auricular: datos de identificación y codificación, variables clínicas, electrofisiológicas y mitocondriales. (Figura en apartado VIII.3).

### IV.5.a. Variables clínico-patológicas: (Ver apartado VIII.1 para definiciones)

#### - Determinación del ritmo cardiaco mediante electrocardiograma:

Para la recogida del ritmo preoperatorio, el ECG se realizó al ingreso del paciente. En aquellos afectos de FA (Grupo 1) se diferenció la cronicidad: paroxística vs permanente. En los casos de FA paroxística, se indicó el ritmo al ingreso (FA o RS).

#### - Factores pre e intraoperatorios:

- Comorbilidad: tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), arteriopatía periférica e insuficiencia renal previa (definida como filtrado glomerular < 50 ml/min o en situación de diálisis).
- Clase funcional: NYHA para disnea, CCS para angina.
- Datos ecocardiográficos:
  - Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI): representa la funcionalidad del ventrículo izquierdo. Se consideró función ventricular normal cuando la FEVI era mayor o igual al 50%, mientras que se catalogó como disfunción ventricular cuando la FEVI era menor al 50%.
  - Diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DTDVI): es un parámetro para valorar la dilatación del ventrículo izquierdo. Se consideró que el VI estaba dilatado cuando el DTDVI era mayor a 55mm.
  - Diámetro de la aurícula izquierda (dAI): es un parámetro para valorar la dilatación de la aurícula izquierda. Se consideró que el dAI estaba dilatado cuando el diámetro era mayor a 40 mm.
- Medicación habitual preoperatoria: ácido acetil salicílico (AAS), anticoagulantes orales (ACOs), beta-bloqueantes, digitálicos, antiarrítmicos, antagonistas del calcio (ACas), inhibidores de la enzima convertora de

angiotensina (IECAs), antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II) y estatinas.

- Diagnóstico de complicaciones postoperatorias:
  - Mortalidad hospitalaria
  - Hemodinámicas: FA postoperatoria (FAPC), paro/arritmias ventriculares y necesidad de desfibrilación, infarto agudo de miocardio (IAM) perioperatorio, síndrome de bajo gasto cardiaco (SBGC)/shock cardiogénico y necesidad de fármacos inotrópicos.
  - Respiratorias: edema agudo de pulmón (EAP).
  - Neurológicos: AIT o ACV postoperatorio.
  - Renales: insuficiencia renal aguda (IRA) postoperatoria y necesidad de terapia de reemplazo renal.
  - Otras: transfusiones, necesidad de iniciar anticoagulación por FAPC, complicaciones hemorrágicas como consecuencia del uso de anticoagulantes
- Cuantificación de la estancia hospitalaria en unidad de cuidados intensivos (UCI) y postoperatoria total. Se consideró estancia prolongada una permanencia en UCI mayor a 72 horas o estancia postoperatoria total mayor a 14 días.

#### **IV.5.b. Variables mitocondriales:**

- Fondo genético: Haplogrupos y subhaplogrupos mitocondriales mediante la identificación de los polimorfismos que los definen.
- Fondo genómico: Contenido relativo de ADN mitocondrial.
- Daño oxidativo.
- Deleción común o deleción de 4977 pb.

#### **IV.5.c. Variables celulares y electrofisiológicas:**

- Tamaño celular: se mide la capacitación de la célula (Farad, F), que es proporcional a la superficie de la célula.
- Cuantificación de las Corrientes de entrada de  $Ca^{2+}$  a través de la membrana.
- Cuantificación de la Liberación espontánea de calcio desde el retículo sarcoplasmático.

## IV.6. TÉCNICAS DE ESTUDIO

### IV.6.a. Estudio mitocondrial:

- *Extracción de ADN total* mediante el método convencional de Sambrook (130) con algunas modificaciones (131).
- *Haplogrupos y subhaplogrupos mitocondriales*: la determinación de los haplogrupos y subhaplogrupos mitocondriales se realizó mediante la amplificación de fragmentos cortos de ADN mitocondrial por PCR (acrónimo en inglés de *Polymerase Chain Reaction*), seguido de análisis mediante enzimas de restricción (RFLPs - *restriction fragment length polymorphism*) y electroforesis en gel de agarosa. En algún caso se confirmó mediante secuenciación de la región hipervariable I (HVI) del ADNmt. Se utilizó la estrategia de haplogrupaje previamente descrita por Macaulay *et al* (1999) (132) y Ruiz-Pesini *et al* (2000) (133).
- *Dosis genómica mitocondrial - Grado de depleción de ADNmt*: estudiado a través del contenido relativo entre ADNmt y ADN nuclear.

Para calcular el número de copias de ADNmt y ADNn se amplificaron dos fragmentos, uno en la región RNAr 12S de ADNmt y el otro en el gen nuclear monocopia GAPDH (Gliceraldehído 3P-Deshidrogenasa), mediante ensayo TaqMan por qPCR a tiempo real.

Se utilizó el método de la curva estándar:

- qPCR ARNr 12S (del ADNmt): para la cuantificación del ADNmt se realizó una curva estándar mediante diluciones seriadas de un producto de PCR de 1279 pb que contiene la región ARNr 12S utilizada. Después se extrapolaron los Ct (*cycle threshold* (Ver apartado VIII.2.c.)) obtenidos en cada una de las muestras a la curva de calibración para obtener el número de copias.
- qPCR GAPDH (del ADN nuclear): para la cuantificación del ADN nuclear se realizó una curva estándar mediante diluciones seriadas de un producto de PCR de 301 pb que contiene la región GAPDH usada. Después se extrapolaron los Ct obtenidos en cada una de las muestras a la curva de calibración para obtener el número de copias.

El número de copias de ADNmt y ADNn de cada muestra se normalizó para cada tanda temporal de análisis.



Posteriormente se calculó la ratio  $n^{\circ}$  copias ADNmt/( $n^{\circ}$  copias ADNn/2) para cada una de las muestras (134).

- Daño oxidativo: se estimó mediante el ratio entre un amplificado de 80 pb (fragmento corto – “short fragment” SF) y otro de 162 pb (fragmento largo – “long fragment” LF) situados en la misma región del ADNmt, mediante ensayo con SYBR Green por qPCR. Para el cálculo del daño oxidativo se usó el método de la curva estándar, que se prepararon de la misma manera que para el contenido relativo de ADNmt, pero usando un producto de PCR de 870 pb:
  - Curva de calibración para el SF: diluciones seriadas del producto de PCR usando los *primers* que amplifican el fragmento corto.
  - Curva de calibración para el LF: diluciones seriadas del producto de PCR usando los *primers* que amplifican el fragmento largo.

Después se extrapolaron los Ct obtenidos en cada una de las muestras para cada curva de calibración para obtener el número de copias. Como en el caso del contenido mitocondrial, el número de copias de los fragmentos de cada muestra se normalizaron por tanda temporal de análisis.

Por último se calculó la ratio SF/LF. Cuanto mayor sea el valor de la ratio, mayor es el daño oxidativo de la muestra, descrito por Domínguez-Garrido *et al.* (2009) (134).

- Delección común pb 4977: para la detección de presencia o no de delección común pb 4977 se llevaron a cabo dos ensayos TaqMan por PCR a tiempo real:
  - qPCR (*quantitative* PCR) de MTND<sub>1</sub>: sirve como *housekeeping*, ya que tiene que amplificarse en todas las muestras.
  - qPCR de MTND<sub>4</sub>: sirve para ver si las muestras tienen delección o no. Los *primers* y sondas estaban diseñados de tal manera que si había delección se observaría amplificado y si no había delección, habría ausencia de amplificado. Estrategia descrita por Zheng *et al* (2012) (54).

#### IV.6.b. Estudio celular y electrofisiológico:

El fragmento de muestra auricular utilizado para el estudio celular y electrofisiológico fue analizado mediante *Patch-clamp*. Es una técnica cuantitativa que mide por un lado la capacitancia y las corrientes iónicas a través de la membrana. Se utilizó para ello un amplificador EPC-10 (HEKA Elektronik).

La composición de las distintas soluciones experimentales fue:

- Solución extracelular (mM): NaCl 127, TEA 5, HEPES 10, NaHCO<sub>3</sub> 4, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,33, glucosa 10, ácido pirúvico 5, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1,8 (pH 7,4).
- Solución de la pipeta (mM): ácido aspártico 109, CsCl 47, Mg<sub>2</sub>ATP 3, MgCl<sub>2</sub> 1. Se añadieron 250 ug/l de anfotericina a la solución de la pipeta antes de comenzar el experimento.

El tamaño celular se midió de manera indirecta mediante la capacitancia celular, ya que ésta es proporcional a la superficie celular. La unidad de medida fue, por tanto, el picoFarad (pF).

La corriente de calcio tipo L ( $I_{CaL}$ ) se midió usando un prepulso de 50 ms de -80 mV a -45 mV (usado para inactivar la corriente de Na<sup>+</sup>), seguido de despolarización de 200 ms a 0 mV. Se determinó la amplitud de la  $I_{CaL}$ , en picoamperios (pA), como la diferencia entre el pico de corriente de entrada y la corriente al final de la despolarización. La relación entre corriente y voltaje se obtuvo con potenciales test entre -40 y +50 mV para comprobar el estado de las células. Las células con relaciones intensidad-voltaje anormales fueron descartadas. La  $I_{CaL}$  se expresó como densidad de corriente, es decir, corriente normalizada por la superficie de la célula para compensar las variaciones debidas al tamaño celular, por lo que la unidad de medida empleada fue pA/pF (31, 135).

La liberación espontánea de calcio se examinó con el potencial de membrana clampado a -80 mV y detectado mediante la medición de la frecuencia de las corrientes de entrada transitorias de intercambio Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> (NCX) inducidas por la liberación espontánea de calcio. Por tanto, la unidad de medida fue el número de eventos por segundo (-s).

## IV.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS:

### IV.7.a. Generalidades:

El análisis estadístico de datos se realizó por medio del paquete estadístico StataCorp. 2013 (versión 13.1) (*Stata Statistical Software: Release 13*. College Station, TX: StataCorp LP). Se valoró la normalidad de las variables continuas mediante la prueba de Shapiro-Wilks.

Las variables continuas con distribución normal se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (DS), y fueron comparadas empleando la prueba de t de Student (si la variable independiente era binomial) o mediante análisis de la variancia (si la variable independiente presentaba más de dos categorías).

Las variables que no seguían distribución normal se representaron a través de la mediana y el rango intercuartílico (IQR, del inglés *Interquartile Range*) y se compararon mediante la prueba W de Wilcoxon.

Las variables categóricas se expresaron como frecuencia y porcentaje, y se compararon mediante la prueba de chi-cuadrado y el test exacto de Fisher cuando al menos un 25% de los valores muestran una frecuencia inferior a 5. La medida de asociación empleada en el análisis univariante de las variables categóricas fue la odds ratio (OR) con el intervalo de confianza (IC) al 95% calculado por el método de Cornfield, para mayor precisión.

Las variables ordinales se expresaron como frecuencia y porcentaje, y las medidas de asociación se valoraron mediante la prueba de tendencia lineal de Mantel-Haenszel, mostrando la OR y el IC al 95% por el método de Wilson.

La correlación entre variables continuas se expresó mediante el coeficiente r de Pearson. El error  $\alpha$  se estableció en 0,05.

### IV.7.b. Valoración de factores predictores de FAPC en la cohorte de referencia:

Se elaboró un modelo predictivo de aparición de FAPC en la cohorte de referencia, que pudiera servir posteriormente como base para la búsqueda de confusión en la cohorte de muestras.

Para ello se realizó una búsqueda bibliográfica de las variables clínico-ecográficas descritas en la literatura que pudieran ser factores de riesgo o protectores de incidencia de FAPC. Dichas variables se introdujeron en un comando estadístico de selección por pasos (*stepwise*), que permite analizar muchas variables rápidamente, primero con un criterio de exclusión secuencial de  $p > 0,10$  y después,

con un criterio de inclusión secuencial de  $p < 0,05$  (136). De esta manera, en la primera fase se eliminaron aquellas variables cuya asociación con FAPC presentara un valor de  $p$  mayor a 0,10; en la segunda fase, se introdujeron en el comando aquellas variables no eliminadas en la primera fase, y se seleccionaron solamente las que presentaron una asociación con valor  $p$  menor a 0,05.

Las variables identificadas como predictoras mediante el proceso de selección por pasos se analizaron mediante regresión logística multivariante para obtener el valor de asociación (OR e IC 95%) de cada una de ellas con la FAPC, así como su valor  $p$  de significación.

#### IV.7.c. Valoración de la confusión en la población de muestras auriculares:

Las variables de confusión (clínicas, mitocondriales, celulares y electrofisiológicas) del efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de fibrilación auricular postoperatoria se establecieron en un proceso de tres pasos (137, 138). Para este análisis se excluyeron los pacientes que ya presentaban FA en el preoperatorio, es decir, se usaron los datos de los pacientes de los Grupos 2 y 3.

1º) Mediante análisis univariante se identificaron como posibles confundidoras aquellas cuya asociación con el efecto (FA postoperatoria) mostraba un valor de  $p < 0,20$ ;

2º) Para cada posible confundidora se analizaron los *Criterios de confusión*.

- i. Primer criterio de confusión: Se valoró la asociación entre el potencial factor confundidor y el efecto (la FA postoperatoria) en los pacientes sin el factor de exposición a estudiar (Haplogrupo No H).

Se cumple el primer criterio cuando dicha OR es mayor o igual a 1,5 (si factor de riesgo) o menor o igual a 0,67 (si factor protector).

- ii. Segundo criterio de confusión: Se analizó la asociación entre el potencial factor confundidor y el Haplogrupo H en los pacientes que no presentaron FA postoperatoria (Grupo 2).

Se cumple el segundo criterio cuando dicha OR es mayor o igual a 1,5 (si factor de riesgo) o menor o igual a 0,67 (si factor protector).

- iii. Tercer criterio de confusión: Se cumple el tercer criterio si la potencial variable confundidora no es una variable intermedia entre el factor a estudiar (Haplogrupo H) y la FA postoperatoria.

3º) Valoración de la importancia clínica: Una vez identificadas las variables que cumplieran los tres criterios, se decidió la pertinencia de ajustar por dichas variables confundidoras en función de si la diferencia entre la OR cruda ( $OR_C$ ) y la OR ajustada ( $OR_a$ ) era clínicamente importante. Para ello se dividió el valor absoluto de la diferencia ( $OR_C - OR_a$ ) por la OR ajustada.

$$\text{Cambio OR} = \frac{\left| (OR_C - OR_a) \right|}{OR_a} \times 100$$

Si el cambio de OR era mayor o igual al 10%, se debía ajustar por dicha variable.

Las variables que superaron los tres pasos, se introdujeron posteriormente en el modelo de ajuste para ser analizado mediante regresión logística multivariante.

#### IV.7.d. Valoración de la interacción gen-ambiente:

Una vez identificados los factores de confusión clínicamente importantes, se puede analizar la interacción entre el “ambiente” (factores adquiridos) (F) y el factor genético (Haplogrupo H).

Para este fin se toma como referencia la subpoblación de los pacientes con Haplogrupo No H y sin el factor ambiental (NoH-NoF), y se calculan las OR de las subpoblaciones con distintas combinaciones de factor genético y ambiental, respecto a esa subpoblación de referencia (Tabla 3):

- La OR del componente genético ( $OR_{CompGen}$ ): compara la subpoblación de pacientes con Haplogrupo H y sin factor adquirido (H-NoF) vs subpoblación de referencia.
- La OR del componente “ambiental” ( $OR_{CompAmb}$ ): compara pacientes con Haplogrupo No H y factor adquirido (NoH-F) vs subpoblación de referencia.
- La OR del componente combinado “gen-ambiente” ( $OR_{Gen-Amb}$ ): compara pacientes con Haplogrupo H y factor adquirido (H-F) vs subpoblación de referencia.

Finalmente se calcula la OR de la Interacción Gen-Ambiente ( $OR_{Inter\ Gen-Amb}$ ) mediante la siguiente fórmula (ver Tabla 3):

$$OR_{Inter\ Gen-Amb} = \frac{OR_{Gen-Amb}}{OR_{CompGen} \times OR_{CompAmb}} = \frac{G \times D \times A \times F}{C \times H \times E \times B}$$

**Tabla 3.** Cálculo de OR para Interacción gen-ambiente

Fact adquirido	Haplogrupo H	Casos	Controles	OR
No	No	A	B	Referencia
	Sí	C	D	$OR_{CompGen} = \frac{C \times B}{A \times D}$
Sí	No	E	F	$OR_{CompAmb} = \frac{E \times B}{A \times F}$
	Sí	G	H	$OR_{Gen-Amb} = \frac{G \times B}{A \times H}$

**IV.7.e. Modelo ajustado del efecto del Haplogrupo H sobre la FA postoperatoria:**

Se construyó un modelo predictivo del efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de fibrilación auricular postoperatoria mediante regresión logística, ajustado por las variables de confusión identificadas previamente. El efecto de las variables predictoras seleccionadas por el modelo se expresó como OR e IC al 95%. La validez del modelo se evaluó mediante el área bajo la curva (AUC: “*area under the curve*”) de las curvas ROC (acrónimo en inglés de “*Receiver Operating Characteristic*”). Se consideró como válido un valor de AUC mayor o igual a 0,8.

**IV.7.f. Algunas peculiaridades:**

Para valorar la asociación entre el Haplogrupo mitocondrial y el resto de variables, se decidió agrupar categorías que recogieran pocos individuos: grupo H (con haplogrupo H, el más frecuente en la población general caucásica), y grupo No H, que incluía el resto de haplogrupos mitocondriales (J, Pre-V, T, U y V).

Asimismo, para calcular las medidas de asociación fue necesario categorizar algunas variables continuas, sin presentar pérdida importante de eficiencia estadística:

- Edad:  $\leq 60$  años,  $>60$  y  $\leq 70$  años, y  $>70$  años.
- FEVI:  $<30\%$ ,  $\geq 30$  y  $< 50\%$ , y  $\geq 50\%$ .
- Tiempo de isquemia miocárdica:  $\leq 60$  minutos,  $>60$  y  $\leq 90$  minutos,  $>90$  y  $\leq 120$  minutos y  $>120$  minutos.
- Daño oxidativo:  $<1$  y  $\geq 1$ .
- Contenido ADNmt:  $\leq$  mediana y  $>$  mediana.

## IV.8. COLABORADORES

Este proyecto surgió desde el Servicio de Cirugía Cardíaca del *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau* a partir de las investigaciones previas desarrolladas por el Centro de Investigación Cardiovascular sobre fibrilación auricular, con el que colabora desde hace años. Asimismo, se solicitó colaboración a la Fundación Rioja Salud para los estudios mitocondriales.

### IV.8.a. Centro de Investigación Cardiovascular:

El Centro de Investigación Cardiovascular es un centro mixto del *Consejo Superior de Investigaciones Científicas* (CSIC) con CIF Q-2808002-D y del *Institut Català de Investigacions Cardiovasculars* (ICCC). El ICCC es un consorcio en el cual participan la *Generalitat*, el *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau* y la *Universitat Autònoma de Barcelona*. Está ubicado dentro del recinto del *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau*, con dirección en Barcelona, calle Sant Antoni Maria Claret 167.

El equipo del Laboratorio de Fisiología Celular de este centro lleva más de 15 años estudiando los mecanismos electrofisiológicos de la fibrilación auricular a partir de muestras de tejido auricular obtenidas durante las intervenciones de cirugía cardíaca del *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau* de Barcelona. Por esta razón, dicho equipo fue el encargado de la recogida y análisis electrofisiológico de las muestras, siendo el Dr. Leif Hove-Madsen investigador del CSIC y representante del Centro de Investigación Cardiovascular.

### IV.8.b. Fundación Rioja Salud

La Fundación Rioja Salud (FRS) es un organismo que se encarga de la gestión y coordinación del Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), con domicilio en Logroño, calle Piqueras 98, Edificio CIBIR y con CIF G26325936.

El equipo de la Unidad de Diagnóstico Molecular fue el responsable de los estudios mitocondriales en las muestras recogidas, siendo la Dra. Elena Domínguez-Garrido el investigador Jefe de la Unidad, y el Sr. José Ignacio Nieto García el Presidente y representante de la FRS.

## V.RESULTADOS

---





## V.1. COHORTE DE POBLACIÓN DE REFERENCIA DE ESTUDIO:

De enero de 2009 a diciembre de 2015 se realizaron en el *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau* de Barcelona 3520 cirugías cardíacas mayores con apertura de pericardio, 2726 con y 794 sin circulación extracorpórea. 123 de esos pacientes fueron operados de trasplante cardíaco, siendo excluidos para el análisis de datos.

### V.1.a. Características preoperatorias:

- Ritmo cardíaco preoperatorio: 748 (22,02%) pacientes presentaban fibrilación auricular preoperatoria, 2622 (77,16%) ritmo sinusal y 27 (0,79%) se encontraban en ritmo de marcapasos. Este último grupo no se incluyó en el análisis de datos, por lo que quedaron finalmente **3370 casos** para el análisis de variables clínicas en la población de referencia.
- Sexo y edad: La mayoría de los pacientes eran hombres (n=2201; 65,31%), y la mediana de edad era de 70 años [61-76 años].
- Comorbilidades: La prevalencia de hipertensión arterial fue del 69,29%, diabetes mellitus 31,19%, dislipemia 56,44%, tabaquismo 23,62%, EPOC 11,63%, arteriopatía periférica 11,99%, disfunción ventricular izquierda 22,82%, insuficiencia renal preoperatoria 22,85% y diálisis preoperatoria 1,51%.
- Situación clínica: La mayoría de los pacientes se encontraban en clase funcional II-III de la NYHA (n=2188; 64,92%). 2101 pacientes (67,36%) no presentaban síntomas de angina; de los afectados de dolor anginoso, la mayoría se encontraba en clase II-III de la CSS (n=908; 82,54%).
- Datos ecocardiográficos: La mediana de la FEVI era 60% [50 - 68%], presentando el 22,82% (n=769) algún grado de disfunción ventricular (FEVI menor de 50%). No se pudo disponer de los datos de DTDVI y dAI de todos los pacientes. De los datos disponibles, la mediana del DTDVI era 50 mm [45-56 mm] y del dAI 44 mm [39-51 mm], presentando el 65,94% dilatación auricular izquierda (mayor a 40 mm). Cuando se analizó según el ritmo cardíaco preoperatorio, se observó que los pacientes con FA preoperatoria tenían una mayor frecuencia de AI dilatada (84,50 vs 59,37%; OR 3,73, **p<0,001**) y una menor prevalencia de disfunción ventricular (20,19 vs 23,57%, OR 0,82, *p*=0,052) que los pacientes en ritmo sinusal preoperatorio.
- Medicación habitual: El 47,48% de los pacientes (n=1600) tomaba ácido acetilsalicílico, el 57,06% (n=1923) estatinas, ambos fármacos con una prevalencia significativamente mayor en el grupo con RS preoperatorio (**p<0,001**).

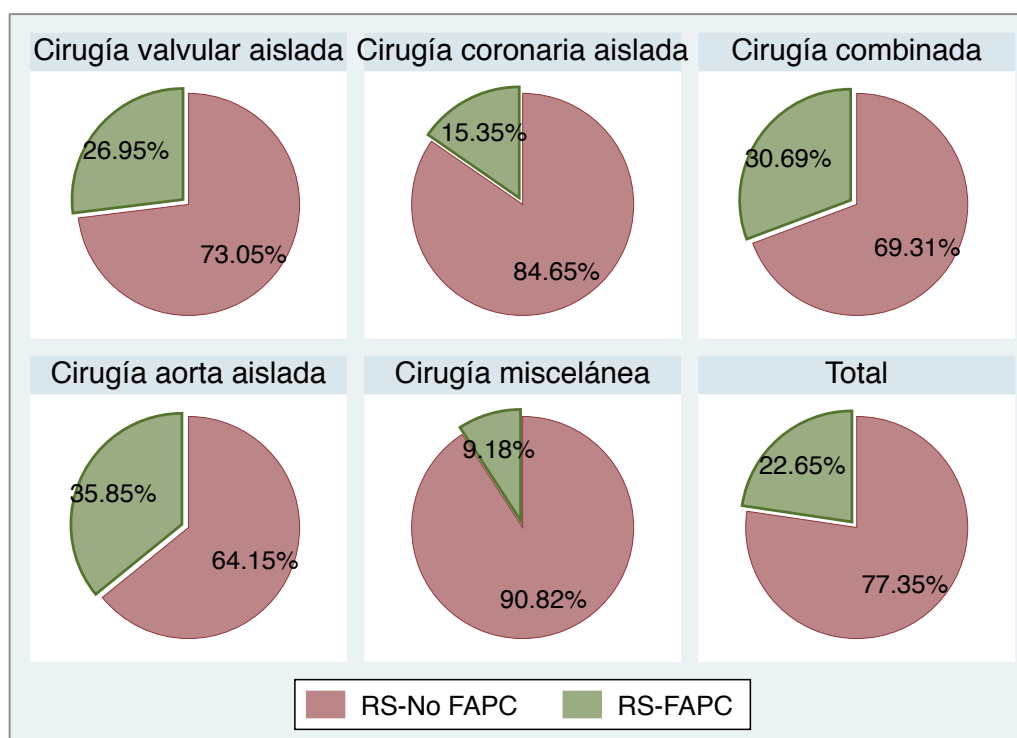
En cuanto al tratamiento frenador de frecuencia cardiaca, el 43,59% (n=1469) recibía  $\beta$ -bloqueantes, el 7,33% (n=247) digitálicos y tan sólo un 3,47% (n=117) antiarrítmicos, estos dos últimos fármacos con una prevalencia significativamente mayor en la población con fibrilación auricular preoperatoria ( $p<0,001$ ).

En relación al tratamiento vasodilatador, el 15,43% (n=520) tomaba antagonistas del calcio, sobre todo en el Grupo con FA preoperatoria (18,98% vs 14,42%,  $p=0,002$ ). El 36,02% (n=1214) tomaba IECAs y el 13,23% (n=446) ARA II.

### V.1.b. Complicaciones postoperatorias:

#### - *Fibrilación auricular postoperatoria:*

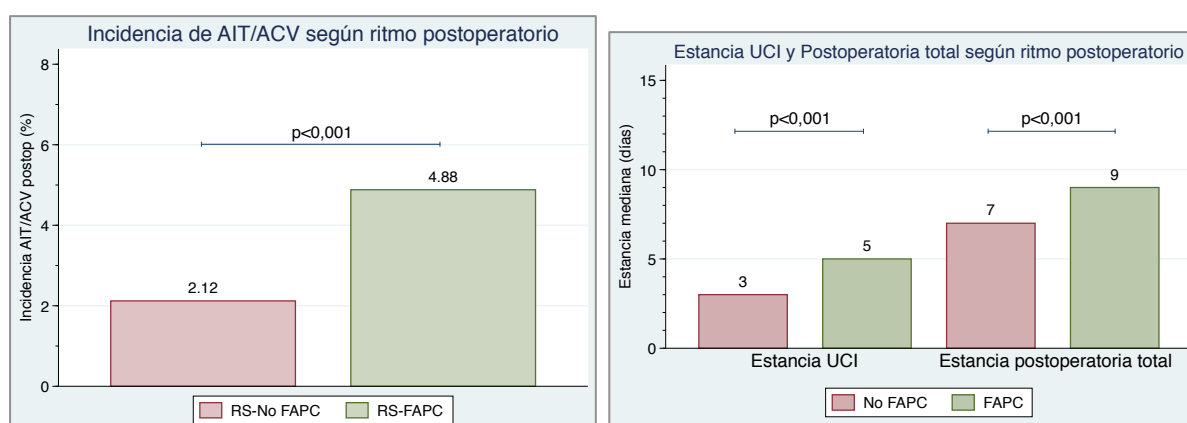
De los 2622 pacientes con ritmo sinusal al ingreso, 594 (22,65%) presentaron un primer episodio de FAPC. La Figura 28 muestra la incidencia de FAPC según el tipo de procedimiento, siendo la cirugía de aorta aislada, la cirugía combinada y la cirugía valvular aislada las que mayor incidencia presentaron (35,85%, 30,69% y 26,95%, respectivamente).



**Figura 28.** Incidencia de FAPC según procedimiento quirúrgico realizado en pacientes con RS preoperatorio.

No hubo diferencias significativas en la incidencia de mortalidad hospitalaria según la presentación o no de FAPC (6,40 vs 5,67%, OR 1,14,  $p=0,506$ ). Sin embargo, los pacientes con FA de debut postoperatoria presentaron mayor incidencia de eventos isquémicos neurológicos en el postoperatorio que los que se mantuvieron en RS (4,88 vs 2,12%, OR 2,37,  $p<0,001$ ).

Además, las medianas de la estancia en UCI y de la estancia postoperatoria total fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes que presentó FAPC comparado con el que no presentó FAPC: a) estancia en UCI: 5 [3 – 7] días vs 3 [2-5] días, respectivamente,  $p<0,001$ ; b) estancia postoperatoria total: 9 [7-15] días vs 7 [6-10] días, respectivamente,  $p<0,001$  (Figura 29).



**Figura 29.** Estancia en UCI y postoperatoria total según incidencia de FAPC.

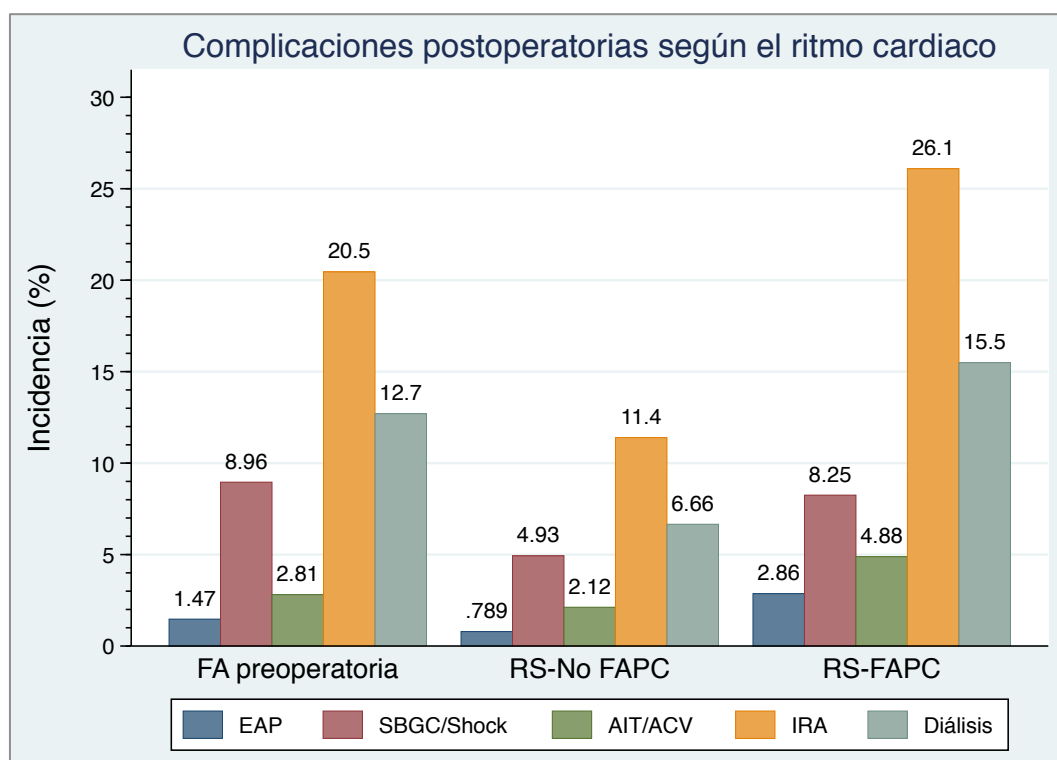
- Otras complicaciones:

44 pacientes (1,31%) presentaron edema agudo de pulmón (EAP) en el postoperatorio, con una incidencia significativamente mayor en los pacientes que presentaron FAPC (Grupo 3) comparado con el Grupo 2 ( $p<0,001$ ), pero sin diferencia significativa comparado con el Grupo 1 ( $p=0,077$ ).

En el análisis univariante, se observó una mayor incidencia de FAPC en los pacientes que presentaron síndrome de bajo gasto cardiaco (SBGC) o shock cardiogénico en el postoperatorio (32,88% vs 22,04%, OR 1,73,  $p=0,002$ ). Esta asociación probablemente se deba a que el uso de inotrópicos en situaciones de SBGC o de shock favorece la aparición de arritmias.

La frecuencia de insuficiencia renal aguda postoperatoria fue significativamente mayor en el Grupo 3 comparado con el Grupo 1 y el Grupo 2 (20,45% vs 11,39% vs 26,09% respectivamente,  $p<0,001$ ). La necesidad de diálisis postoperatoria fue mayor en los pacientes que presentaron FAPC comparado con los que no

presentaron FAPC (15,49% vs 6,66%,  $p<0,001$ ). Esta diferencia también era significativa entre los pacientes con FA preoperatoria (12,70%) y los pacientes con RS preoperatorio que no presentaron FAPC ( $p<0,001$ ). Sin embargo, cuando se comparó el grupo de FA preoperatoria con el grupo que presentó FAPC de debut no se evidenció una diferencia significativa ( $p=0,143$ ).



**Figura 30.** Incidencia de complicaciones postoperatorias según el ritmo cardíaco. EAP: edema agudo de pulmón; SBGC: síndrome de bajo gasto cardíaco; AIT/ACV: accidente isquémico transitorio/accidente cerebro-vascular; IRA: insuficiencia renal aguda.

#### Modelo predictivo de FAPC en la cohorte de población de referencia

Se identificaron las siguientes variables como *posibles factores predictores*: a) preoperatorias: sexo femenino, edad, hipertensión arterial, EPOC, insuficiencia renal preoperatoria, FEVI categorizada (ver apartado IV.7.f.), dilatación auricular izquierda, tratamiento con AAS, beta-bloqueantes, ACas y/o IECAs; b) intraoperatorias: cirugía valvular aislada, cirugía coronaria aislada, cirugía combinada, cirugía aislada de la aorta y cirugía sobre la válvula mitral; y c) postoperatorias: SBGC/shock, insuficiencia renal postoperatoria y diálisis postoperatoria.

En la *primera fase* del proceso estadístico de selección por pasos se eliminaron aquellas variables cuya asociación con FAPC presentara un valor  $p$  mayor a 0,10, permaneciendo de esta manera las siguientes: a) preoperatorias: edad, tratamiento con AAS y/o IECAs; b) intraoperatorias: cirugía combinada y cirugía sobre la válvula mitral; y c) postoperatorias: insuficiencia renal postoperatoria y necesidad de diálisis postoperatoria.

Éstas se introdujeron en la *segunda fase*, seleccionándose aquellas con valor  $p$  de la asociación con FAPC menor a 0,05: a) preoperatorios: edad, tratamiento con AAS y/o IECAs; b) intraoperatorios: cirugía combinada y cirugía sobre la válvula mitral; y c) postoperatorios: insuficiencia renal postoperatoria.

El grado de asociación de dichos factores predictores con la incidencia de FAPC en la cohorte de referencia se analizó mediante *regresión logística multivariante* (Tabla 4). El uso preoperatorio de AAS se estableció como factor protector, mientras que las demás variables se presentaron como factores de riesgo.

**Tabla 4.** Factores predictores de FAPC en la cohorte de población de referencia.

Factor predictor	OR	IC 95%	Valor $p$
<b>Preoperatorios</b>			
Edad	1,04	1,03-1,05	<b>0,000</b>
AAS ( <b>PROTECTOR</b> )	0,78	0,64-0,95	<b>0,011</b>
IECAs	1,27	1,04-1,54	<b>0,020</b>
<b>Intraoperatorio</b>			
Cirugía combinada	1,43	1,14-1,79	<b>0,002</b>
Cirugía sobre válvula mitral	1,60	1,25 - 2,06	<b>0,000</b>
<b>Postoperatorio</b>			
Insuficiencia renal postoperatoria	2,25	1,78-2,85	<b>0,000</b>

## V.2. COHORTE DE POBLACIÓN DE MUESTRAS AURICULARES:

Se analizaron un total de 62 muestras auriculares, divididas en tres grupos según el ritmo cardiaco (ver apartado de “Material y Métodos”):

- a) Grupo 1 - FA preoperatoria: 12 pacientes (control positivo).
- b) Grupo 2 – RS pre y postoperatorio: 34 pacientes (control negativo).
- c) Grupo 3 – FA postoperatoria de nueva aparición: 16 pacientes (casos).

### V.2.a. Variables clínicas:

#### - *Preoperatorias:* (Tabla 5)

Todos los pacientes eran caucásicos y la mayoría varones (n=46, 74,16%) con prevalencia femenina significativamente mayor en el Grupo 3 (25% vs 14,7% vs 50%,  $p=0,029$ ). La mediana de edad de toda la muestra era de 70,5 años [61-74 años]. Los que se mantuvieron en RS en el postoperatorio presentaron una tendencia no significativa a ser más jóvenes que los que presentaron FA postoperatoria de debut (64,5 vs 71,5 años,  $p=0,082$ ).

Las comorbilidades más frecuentes fueron la hipertensión arterial (n=46, 74,2%) y la dislipemia (n=40, 64,5%). La prevalencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica fue significativamente mayor en los pacientes con FA preoperatoria (33,3% vs 5,9% vs 6,3%,  $p=0,027$ ).

En cuanto al tratamiento médico preoperatorio, los pacientes con FA preoperatoria presentaban una prevalencia de uso de beta-bloqueantes (75% vs 35,3% vs 18,8%) y digitálicos (33,3% vs 2,9% vs 0%) significativamente mayor que los otros dos grupos ( $p=0,009$  y  $p=0,002$ , respectivamente).

#### - *Ecocardiográficas e Intraoperatorias:* (Tabla 6)

No hubo diferencias significativas en la prevalencia de disfunción ventricular izquierda (FEVI<50%) preoperatoria ( $p=0,757$ ). La frecuencia de pacientes con dilatación auricular izquierda (diámetro mayor a 40mm) fue mayor en los pacientes del Grupo 1 y 3, respecto al 2 (66,7% vs 52,9% vs 87,5%,  $p=0,058$ ), siendo la diferencia significativa entre los Grupos 2 y 3 ( $p=0,018$ ).

Los pacientes con FA postoperatoria de debut (Grupo 3) presentaban una mayor prevalencia, estadísticamente significativa, de cirugía combinada (valvular y coronaria) ( $p=0,025$ ) y cirugía sobre la válvula mitral ( $p=0,001$ ) comparado con los individuos que se mantuvieron en ritmo sinusal en todo momento (Grupo 2). Por el

contrario, los pacientes del Grupo 2 fueron intervenidos en mayor proporción de cirugía coronaria aislada respecto a los otros dos Grupos (25% vs 47,1% vs 12,5%,  $p=0,042$ ).

Los pacientes del Grupo 1 presentaban una tendencia, casi significativa, a mayor tiempo de circulación extracorpórea (CEC) ( $132,6 \pm 49,4$  min vs  $105,6 \pm 25,9$  min vs  $117,3 \pm 33,0$  min,  $p=0,068$ ). El tiempo de isquemia cardiaca no fue diferente al comparar los tres Grupos ( $67,5$  [56-120] min vs  $64$  [50-78] min vs  $78$  [65,5-102,5] min,  $p=0,171$ ). Sin embargo, los pacientes del Grupo 3 tendieron a presentar un tiempo de isquemia mayor, aunque no significativo, que los del Grupo 2 ( $p=0,066$ ).

- Postoperatorias: (Tabla 7)

La incidencia de fallo renal agudo fue significativamente mayor en el Grupo 1 (66,7% vs 23,5% vs 50%,  $p=0,017$ ), con mayor grado AKIN ( $p=0,038$ ) y necesidad de diálisis ( $p=0,037$ ).

Tres pacientes presentaron infarto de miocardio perioperatorio, uno de cada Grupo (8,3% vs 2,9% vs 6,3%,  $p=0,721$ ). Los pacientes del Grupo con FA preoperatoria presentaron una mayor frecuencia estadísticamente significativa de síndrome de bajo gasto cardiaco o shock con requerimiento de inotrópicos (41,7% vs 2,9% vs 0%,  $p<0,001$ ). No hubo diferencias significativas en la necesidad de implantación de marcapasos definitivo entre los Grupos (8,3% vs 2,9% vs 6,3%,  $p=0,721$ ).

Ningún paciente presentó complicaciones neurológicas. La mediana del tiempo de intubación orotraqueal fue de 5 horas (4-10 horas).

La mortalidad hospitalaria fue significativamente mayor en el Grupo 1 (33,3% vs 2,9% vs 6,3%,  $p=0,008$ ).

(Leyenda Tabla 5 (siguiente página):

<sup>a</sup>: valor  $p$  de la comparación de los 3 grupos; <sup>b</sup>: valor  $p$  de la comparación de los Grupos 2 y 3; ACas: antagonistas del calcio; ARAII: antagonista del receptor de la angiotensina II; DLP: dislipemia; DM: diabetes mellitus; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; HTA: hipertensión arterial; IECAs: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; IRA: insuficiencia renal aguda.)



Tabla 5. Datos preoperatorios de la cohorte de muestras auriculares.

	Total (N=62)	Grupo 1 (n <sub>1</sub> =12)	Grupo 2 (n <sub>2</sub> =34)	Grupo 3 (n <sub>3</sub> =16)	Valor p
<b>Caucásicos</b>	62 (100%)	12 (100%)	32 (100%)	16 (100%)	1
<b>Sexo masculino</b>	46 (74,2%)	9 (75%)	29 (85,3%)	8 (50%)	<u>0,029</u> <sup>a</sup> <u>0,008</u> <sup>b</sup>
<b>Edad</b>	70,5 [61-74]	71,5 [65-75,5]	64,5 [58-73]	71,5 [67,5-77,5]	0,126 <sup>a</sup> 0,082 <sup>b</sup>
< 60 años	13 (21,0%)	1 (8,3%)	10 (29,4%)	2 (12,5%)	
60-69 años	16 (25,8%)	4 (33,3%)	10 (29,4%)	2 (12,5%)	0,161 <sup>a</sup> 0,083 <sup>b</sup>
≥ 70 años	33 (53,2%)	7 (58,3%)	14 (41,2%)	12 (75%)	
<b>Comorbilidades</b>					
HTA	46 (74,2%)	11 (91,7%)	23 (67,7%)	12 (75%)	0,262 <sup>a</sup> 0,597 <sup>b</sup>
DM	21 (33,9%)	4 (33,3%)	11 (32,4%)	6 (37,5%)	0,970 <sup>a</sup> 0,720 <sup>b</sup>
DLP	40 (64,5%)	8 (66,7%)	20 (58,8%)	12 (75%)	0,529 <sup>a</sup> 0,266 <sup>b</sup>
EPOC	7 (11,3%)	4 (33,3%)	2 (5,9%)	1 (6,3%)	<u>0,027</u> <sup>a</sup> 0,959 <sup>b</sup>
Arteriopatía periférica	5 (8,1%)	1 (8,3%)	4 (11,8%)	0 (0%)	0,362 <sup>a</sup> 0,153 <sup>b</sup>
IRA preop	23 (37,7%)	6 (50%)	11 (32,4%)	6 (37,5%)	0,594 <sup>a</sup> 0,774 <sup>b</sup>
<b>Fármacos</b>					
IECAs	24 (38,7%)	5 (41,2%)	14 (31,3%)	5 (38,7%)	0,776 <sup>a</sup> 0,500 <sup>b</sup>
ARA II	11 (17,7%)	1 (8,3%)	7 (20,6%)	3 (18,8%)	0,629 <sup>a</sup> 0,880 <sup>b</sup>
β-bloqueantes	24 (38,7%)	9 (75%)	12 (35,3%)	3 (18,8%)	<u>0,009</u> <sup>a</sup> 0,234 <sup>b</sup>
ACas	8 (12,9%)	2 (16,7%)	5 (14,7%)	1 (6,3%)	0,644 <sup>a</sup> 0,391 <sup>b</sup>
Digitálicos	5 (8,1%)	4 (33,3%)	1 (2,9%)	0 (0%)	<u>0,002</u> <sup>a</sup> 0,488 <sup>b</sup>
Antiarrítmicos	1 (1,6%)	1 (8,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0,120 <sup>a</sup> - --- <sup>b</sup>
Estatinas	38 (61,3%)	7 (58,3%)	22 (64,7%)	9 (56,3%)	0,826 <sup>a</sup> 0,566 <sup>b</sup>

**Tabla 6.** Datos ecocardiográficos e intraoperatorios de la cohorte de muestras auriculares.

	Total (N=62)	Grupo 1 (n <sub>1</sub> =12)	Grupo 2 (n <sub>2</sub> =34)	Grupo 3 (n <sub>3</sub> =16)	Valor <i>p</i>
<b>Ecocardiografía</b>					
FEVI ≥50%	43 (69,4%)	9 (75,0%)	24 (70,6%)	10 (62,5%)	0,757 <sup>a</sup> 0,567 <sup>b</sup>
AI >40mm	40 (64,5%)	8 (66,7%)	18 (52,9%)	14 (87,5%)	0,058 <sup>a</sup> <b>0,018</b> <sup>b</sup>
<b>Procedimientos</b>					
Valvular aislado	20 (32,3%)	4 (33,3%)	9 (26,5%)	7 (43,8%)	0,474 <sup>a</sup> 0,222 <sup>b</sup>
Coronario aislado	21 (33,9%)	3 (25%)	16 (47,1%)	2 (12,5%)	<b>0,042</b> <sup>a</sup> <b>0,018</b> <sup>b</sup>
Combinado	16 (25,8%)	4 (33,3%)	5 (14,7%)	7 (43,8%)	0,073 <sup>a</sup> <b>0,025</b> <sup>b</sup>
Aorta ascend	7 (11,3%)	2 (16,7%)	5 (14,7%)	0 (0%)	0,249 <sup>a</sup> 0,106 <sup>b</sup>
Válvula mitral	12 (19,4%)	3 (25%)	2 (5,9%)	7 (43,8%)	<b>0,006</b> <sup>a</sup> <b>0,001</b> <sup>b</sup>
<b>Tiempos</b>					
CEC (min)	113,3 ± 33,5	132,6 ± 49,4	105,6 ± 25,9	117,3 ± 33,0	0,068 <sup>a</sup> 0,180 <sup>b</sup>
Isquemia (min)	69,5 [55,5-93]	67,5 [57-120]	64 [50-78]	78 [65,5-102,5]	0,171 <sup>a</sup> 0,066 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: valor *p* de la comparación de los 3 grupos; <sup>b</sup>: valor *p* de la comparación de los Grupos 2 y 3; AI: aurícula izquierda; CEC: circulación extracorpórea; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Tabla 7. Datos postoperatorios de la cohorte de muestras auriculares.

	Total (N=62)	Grupo 1 (n <sub>1</sub> =12)	Grupo 2 (n <sub>2</sub> =34)	Grupo 3 (n <sub>3</sub> =16)	Valor p
<b>Complicaciones</b>					
IRA postoperatoria	25 (40,3%)	8 (66,7%)	9 (26,5%)	8 (50%)	<b>0,033</b> <sup>a</sup> 0,101 <sup>b</sup>
Diálisis postop	12 (19,4%)	5 (41,7%)	3 (8,8%)	4 (25%)	<b>0,037</b> <sup>a</sup> 0,124 <sup>b</sup>
Grado AKIN					
AKIN I	11 (17,7%)	2 (16,7%)	5 (14,7%)	4 (25%)	
AKIN II	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0,056 <sup>a</sup> 0,254 <sup>b</sup>
AKIN III	14 (22,6%)	6 (50%)	4 (11,8%)	4 (25%)	
IAM perioperatorio	3 (4,8%)	1 (8,3%)	1 (2,9%)	1 (6,3%)	0,721 <sup>a</sup> 0,578 <sup>b</sup>
Bajo gasto cardiaco/Shock	6 (9,7%)	5 (41,7%)	1 (2,9%)	0 (0%)	<b>&lt;0,001</b> <sup>a</sup> 0,488 <sup>b</sup>
AIT/ACV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	---
Implantación MCP definitivo	3 (4,8%)	1 (8,3%)	1 (2,9%)	1 (6,3%)	0,721 <sup>a</sup> 0,578 <sup>b</sup>
Tiempo IOT (h)	5 [4-10]	11,5 [4,5-71]	5 [3-6]	6 [4-9]	<b>0,031</b> <sup>a</sup> 0,267 <sup>b</sup>
Mortalidad hospitalaria	6 (9,7%)	4 (33,3%)	1 (2,9%)	1 (6,3%)	<b>0,008</b> <sup>a</sup> 0,578 <sup>b</sup>
<b>Estancia</b>					
UCI (días)	3 [2-7]	7 [3-9,5]	3 [2-4]	4,5 [6-9]	<b>0,009</b> <sup>a</sup> <b>0,009</b> <sup>b</sup>
Prolongada (>3d)	30 (48,4%)	8 (66,7%)	11 (32,6%)	11 (68,8%)	<b>0,021</b> <sup>a</sup> <b>0,016</b> <sup>b</sup>
Postoperatoria total (días)	7,5 [6-15]	18 [7,5-28]	6 [6-8]	12 [7-21]	<b>&lt;0,001</b> <sup>a</sup> <b>0,001</b> <sup>b</sup>
Prolongada (>14d)	16 (25,8%)	6 (50%)	4 (11,8%)	6 (37,5%)	<b>0,016</b> <sup>a</sup> <b>0,034</b> <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: valor p de la comparación de los 3 grupos; <sup>b</sup>: valor p de la comparación de los Grupos 2 y 3; AIT/ACV: accidente isquémico transitorio/accidente cerebrovascular; AKIN: *acute kidney injury network*; IOT: intubación orotraqueal; IRA: insuficiencia renal aguda; MCP: marcapasos; UCI: unidad cuidados intensivos

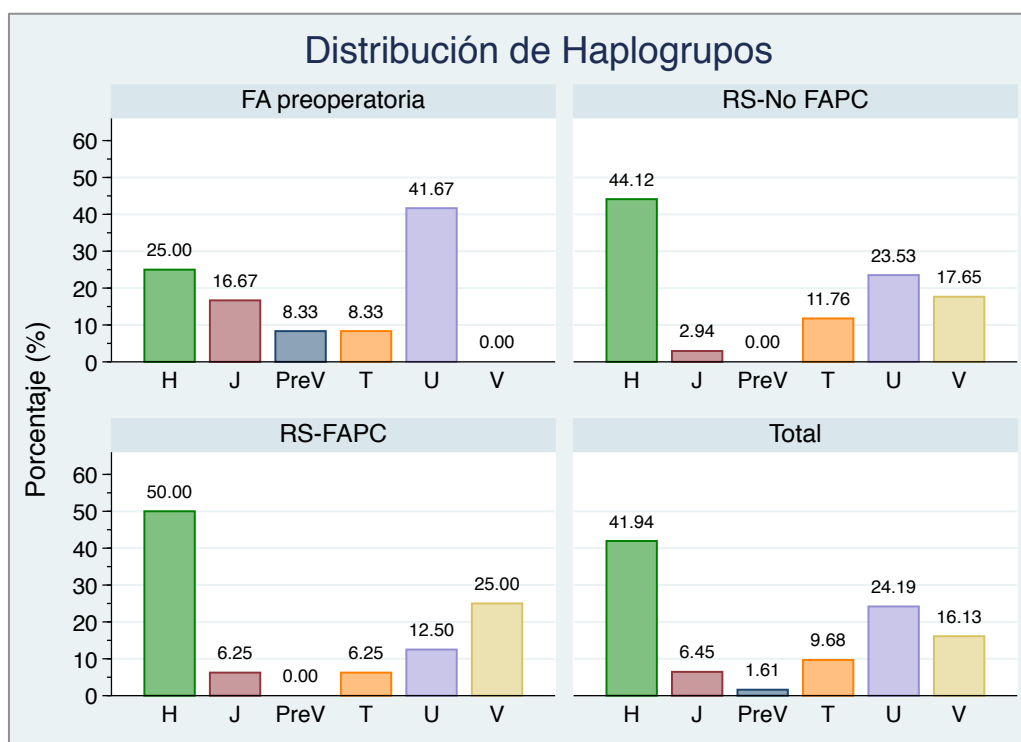
### V.2.b. Factores mitocondriales:

#### - Haplogrupos mitocondriales:

Del total de la muestra, 26 pacientes (41,9%) presentaban Haplogrupo H, 4 (6,5%) Haplogrupo J, 1 (1,6%) Haplogrupo Pre-V, 6 (9,7%) Haplogrupo T, 15 (24,2%) Haplogrupo U y 10 (16,1%) Haplogrupo V.

La prevalencia de Haplogrupo H fue mayor en los Grupos con ritmo sinusal preoperatorio (Grupos 2 y 3), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (25% vs 44,1% vs 50%,  $p=0,385$ ).

La prevalencia de Haplogrupo U fue mayor en el Grupo 1 (FA preoperatoria), aunque sin diferencia significativa en la comparación global (41,7% vs 23,5% vs 12,5%,  $p=0,202$ ), ni en la parcial Grupo 1 vs Grupo 2 ( $p=0,230$ ), pero con tendencia a la significación al comparar Grupo 1 vs Grupo 3 ( $p=0,078$ ).



**Figura 31.** Distribución de Haplogrupos mitocondriales según ritmo cardíaco.

Las Tablas 8 a 10, muestran el análisis de las diferentes variables pre-, intra- y postoperatorias según el Haplogrupo mitocondrial, categorizado en H o No H. No se hallaron diferencias significativas, excepto en la frecuencia de cirugía de aorta ascendente, que solo estaba presente en los pacientes con Haplogrupo H (7% vs 0%,  $p=0,001$ ).

**Tabla 8.** Datos preoperatorios según Haplogrupo mitocondrial.

	<b>Total (N=62)</b>	<b>Haplogrupo H (n<sub>H</sub>=26)</b>	<b>Haplogrupo No H (n<sub>NH</sub>=36)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Caucásicos</b>	62 (100%)	26 (100%)	36 (100%)	1
<b>Sexo masculino</b>	46 (74,2%)	18 (69,2%)	28 (77,8%)	0,448
<b>Edad</b>	70,5 (61-74)	69,5 (61-76)	71 (60,5-73,5)	0,864
< 60 años	13 (21,0%)	5 (19,2%)	8 (22,2%)	
60-69 años	16 (25,8%)	8 (30,8%)	8 (22,2%)	0,749
≥ 70 años	33 (53,2%)	13 (50,0%)	20 (55,6%)	
<b>Comorbilidades</b>				
HTA	46 (74,2%)	19 (73,1%)	27 (75,0%)	0,864
DM	21 (33,9%)	7 (26,9%)	14 (38,9%)	0,326
DLP	40 (64,5%)	15 (57,7%)	25 (69,4%)	0,340
EPOC	7 (11,3%)	4 (15,4%)	3 (8,3%)	0,387
Arteriopatía periférica	5 (8,1%)	2 (7,7%)	3 (8,3%)	0,927
IRA preop	23 (37,7%)	11 (42,3%)	12 (33,3%)	0,470
<b>Fármacos</b>				
IECAs	24 (38,7%)	8 (30,8%)	16 (44,4%)	0,275
ARA II	11 (17,7%)	3 (11,5%)	8 (22,2%)	0,277
β-bloqueantes	24 (38,7%)	7 (26,9%)	17 (47,2%)	0,105
ACas	8 (12,9%)	2 (7,7%)	6 (16,7%)	0,298
Digitálicos	5 (8,1%)	2 (7,7%)	3 (8,3%)	0,927
Antiarrítmicos	1 (1,6%)	1 (3,9%)	0 (0%)	0,236
Estatinas	38 (61,3%)	14 (53,9%)	24 (66,7%)	0,306

*ACas*: antagonistas del calcio; *ARAII*: antagonista del receptor de la angiotensina II; *DLP*: dislipemia; *DM*: diabetes mellitus; *EPOC*: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; *HTA*: hipertensión arterial; *IECAs*: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; *IRA*: insuficiencia renal aguda.

**Tabla 9.** Datos ecocardiográficos e intraoperatorios según Haplogrupo mitocondrial.

	Total (N=62)	Haplogrupo H (n <sub>H</sub> =26)	Haplogrupo No H (n <sub>NH</sub> =36)	Valor p
<b>Ecocardiografía</b>				
FEVI ≥50%	43 (69,4%)	20 (76,9%)	23 (63,9%)	0,272
AI >40mm	40 (64,5%)	15 (57,7%)	25 (69,4%)	0,340
<b>Procedimientos</b>				
Valvular aislado	20 (32,3%)	8 (30,8%)	12 (33,3%)	0,831
Coronario aislado	21 (33,9%)	6 (23,1%)	15 (41,7%)	0,127
Combinado	16 (25,8%)	7 (26,9%)	9 (25,0%)	0,864
Aorta ascend	7 (11,3%)	7 (26,9%)	0 (0%)	<b>0,001</b>
Válvula mitral	12 (19,4%)	5 (19,2%)	7 (19,4%)	0,983
<b>Tiempos</b>				
CEC (min)	113,3 ± 33,5	116,9 ± 34,6	110,4 ± 32,9	0,463
Isquemia (min)	69,5 [55,5-93]	72,5 [62-99]	68,5 [55-92]	0,460

AI: aurícula izquierda; *ascend*: ascendente; CEC: circulación extracorpórea; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

**Tabla 10.** Datos postoperatorios según Haplogrupo mitocondrial.

	Total (N=62)	Haplogrupo H (n <sub>H</sub> =26)	Haplogrupo No H (n <sub>NH</sub> =36)	Valor p
<b>Complicaciones</b>				
IRA postop	25 (40,3%)	12 (46,2%)	13 (36,1%)	0,426
Diálisis postop	12 (19,4%)	6 (23,1%)	6 (16,7%)	0,528
Grado AKIN				
AKIN I	11 (17,7%)	6 (23,1%)	5 (13,9%)	
AKIN II	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0,408
AKIN III	14 (22,6%)	7 (26,9%)	7 (19,4%)	
IAM perioperat	3 (4,8%)	1 (3,6%)	2 (5,6%)	0,757
Bajo gasto cardiaco/Shock	6 (9,7%)	3 (11,5%)	3 (8,3%)	0,674
AIT/ACV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	---
Implantación MCP definitivo	3 (4,8%)	1 (3,6%)	2 (5,6%)	0,757
Tiempo IOT (h)	5 [4-10]	5 [4-14]	5 [4-8]	0,900
Mortalidad hospitalaria	6 (9,7%)	2 (7,7%)	4 (11,1%)	0,653
<b>Estancia</b>				
UCI (días)	3 (2-7)	3 (2-5)	3,5 (2-7,5)	0,983
Prolongada (>3d)	30 (48,4%)	12 (46,2%)	18 (50,0%)	0,765
Postoperatoria total (días)	7,5 [6-15]	8 [7-23]	7 [6-13,5]	0,135
Prolongada (>14d)	16 (25,8%)	8 (30,8%)	8 (22,2%)	0,448

AIT/ACV: accidente isquémico transitorio/acidente cerebrovascular; AKIN: *acute kidney injury network*; IOT: intubación orotraqueal; IRA: insuficiencia renal aguda; MCP: marcapasos; UCI: unidad cuidados intensivos

La Tabla 11 muestra la distribución de los diferentes factores mitocondriales según el ritmo cardiaco, con subanálisis por Haplogrupos.

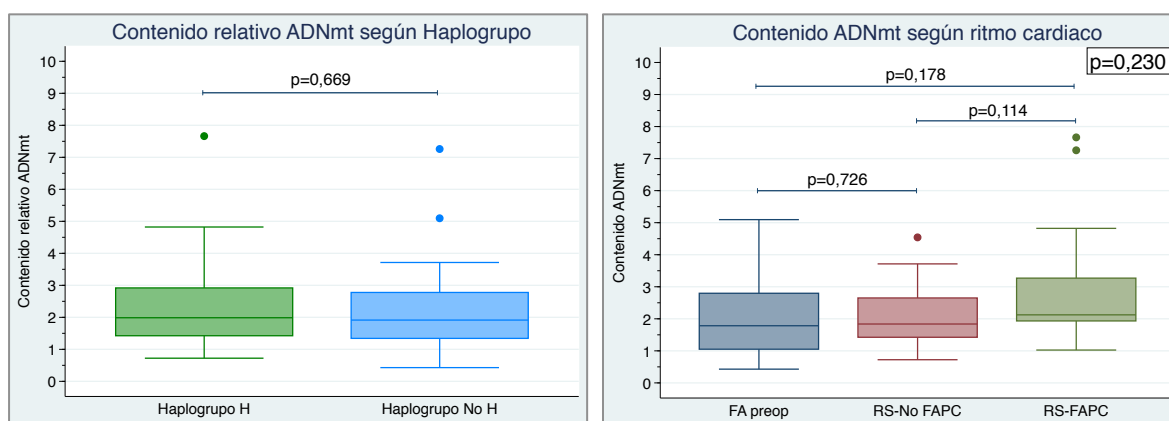
- Deleción común de 4977pb:

Todos los pacientes excepto uno del Grupo 1 presentaban la deleción común (deleción de 4977 pb).

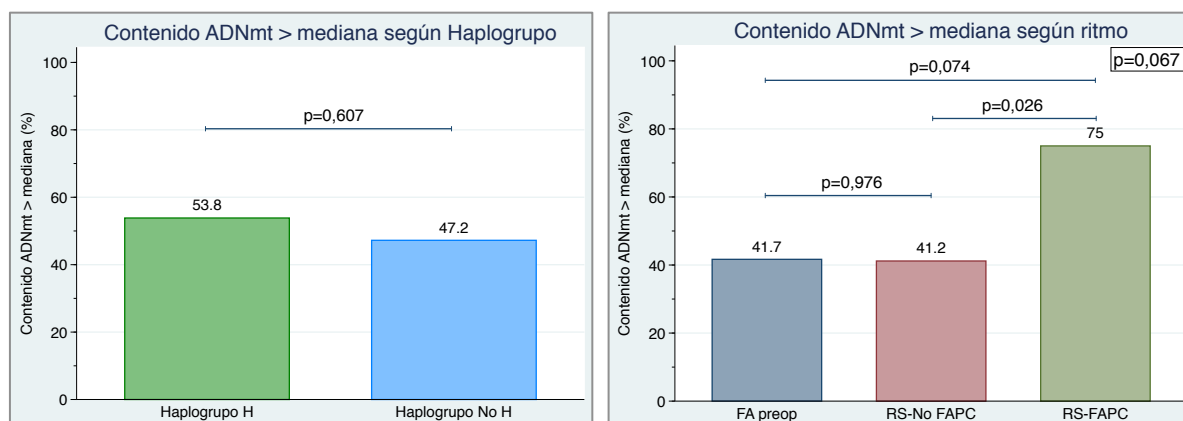
- Contenido relativo ADNmt:

La mediana del Contenido relativo del ADN mitocondrial en toda la muestra era de 1,96 [1,42-2,92], sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre Haplogrupos ( $p=0,669$ ), ni entre los diferentes Grupos ( $p=0,230$ ). (Figura 32).

El porcentaje de casos con Contenido de ADNmt mayor a la mediana global no presentó diferencias significativas entre Haplogrupos ( $p=0,607$ ). No obstante, este porcentaje fue significativamente mayor en el Grupo 3 comparado con el Grupo 2 ( $p=0,026$ ). (Figura 33).



**Figura 32.** Contenido relativo de ADNmt según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.



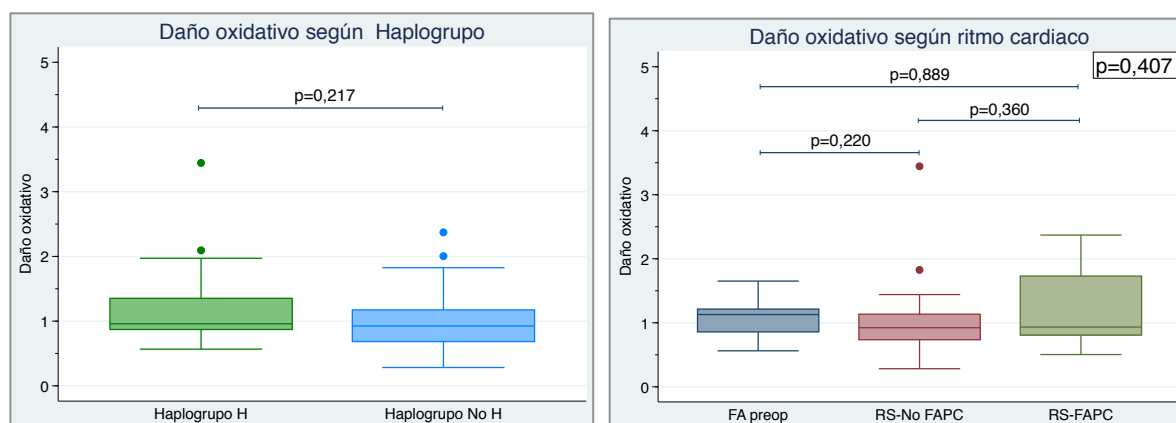
**Figura 33.** Porcentaje de casos con Contenido relativo de ADNmt mayor a la mediana según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.



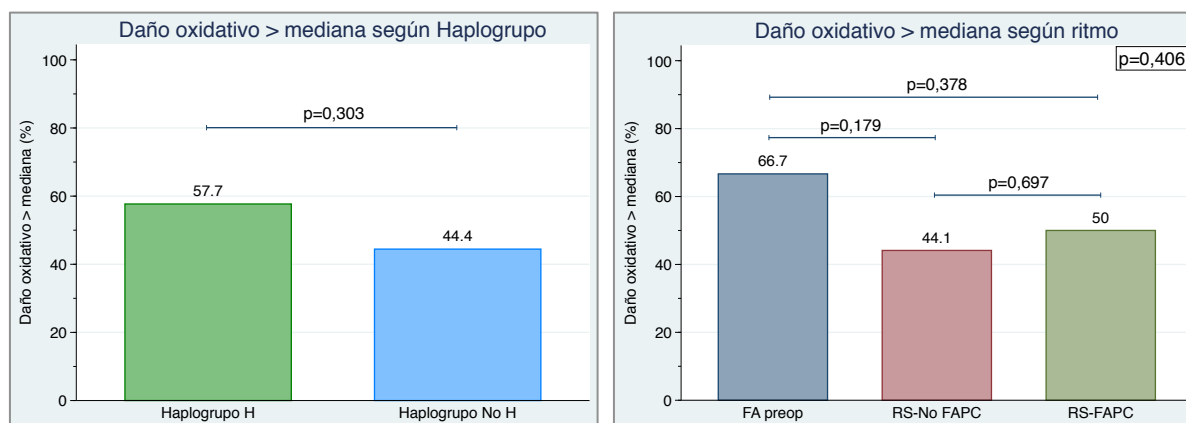
- Daño oxidativo:

La mediana del Daño oxidativo en toda la muestra fue de 0,97 [0,81-1,73], sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre Haplogrupos ( $p=0,217$ ), ni entre Grupos ( $p=0,407$ ). (Figura 34).

El Haplogrupo H presentó mayor porcentaje de pacientes con Daño oxidativo mayor a la mediana global, aunque esta diferencia no fue significativa ( $p=0,303$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en dicho porcentaje entre Grupos ( $p=0,406$ ). (Figura 35).



**Figura 34.** Daño oxidativo según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.



**Figura 35.** Porcentaje de casos con Daño oxidativo mayor a la mediana global según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.

**Tabla 11.** Factores mitocondriales según grupo de ritmo cardiaco.

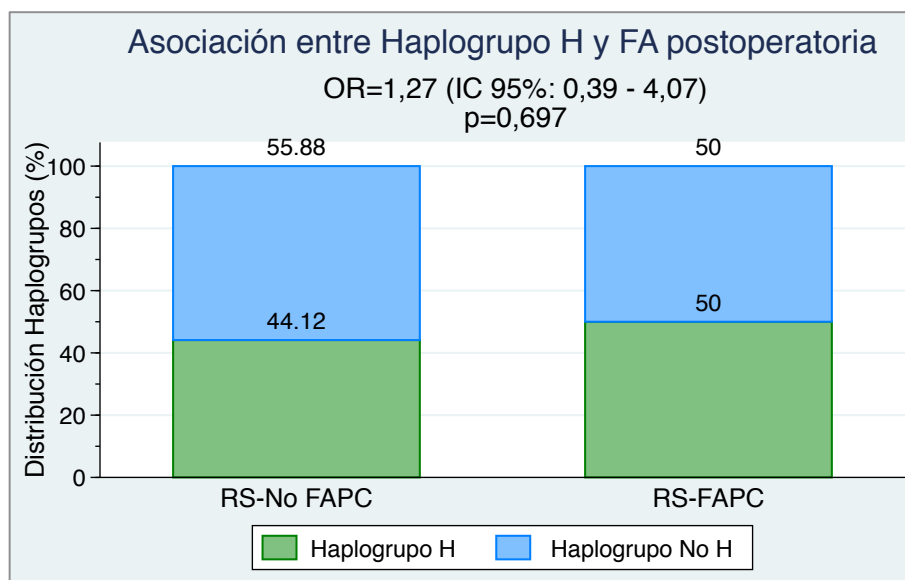
	<b>Total (N=62)</b>	<b>Grupo 1 (n<sub>1</sub>=12)</b>	<b>Grupo 2 (n<sub>2</sub>=34)</b>	<b>Grupo 3 (n<sub>3</sub>=16)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Haplogrupos</b>					
H	26 (41,9%)	3 (25%)	15 (44,1%)	8 (50%)	0,385 <sup>a</sup>
No H (HV, J, T, U)	36 (58,1%)	9 (75%)	19 (55,9%)	8 (50%)	0,697 <sup>b</sup>
<b>Delección 4977pb</b>	61 (98,4%)	11 (91,7%)	34 (100%)	16 (100%)	0,120 <sup>a</sup>
<b>Daño oxidativo</b>	0,94 [0,77-1,22]	1,13 [0,86-1,21]	0,92 [0,74-1,13]	0,93 [0,81-1,73]	0,407 <sup>a</sup> 0,360 <sup>b</sup>
Haplogrupo H	0,96 [0,87-1,35]	1,15 [0,79-1,61]	0,97 [0,88-1,27]	0,92 [0,75-1,73]	0,883 <sup>a</sup> 0,796 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	0,93 [0,68-1,17]	1,11 [0,92-1,20]	0,86 [0,63-1,12]	1,00 [0,88-1,61]	0,237 <sup>a</sup> 0,184 <sup>b</sup>
<b>Daño oxidativo mayor a mediana</b>	31 (50,0%)	8 (66,7%)	15 (44,1%)	8 (50,0%)	0,233 <sup>a</sup> 0,710 <sup>b</sup>
Haplogrupo H	15 (57,7%)	2 (66,7%)	9 (60,0%)	4 (50,0%)	0,850 <sup>a</sup> 0,645 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	16 (44,4%)	6 (66,7%)	6 (31,6%)	4 (50,0%)	0,205 <sup>a</sup> 0,365 <sup>b</sup>
<b>Contenido relativo ADNmt</b>	1,96 [1,42-2,92]	1,78 [1,05-2,80]	1,84 [1,42-2,65]	2,12 [1,93-3,27]	0,230 <sup>a</sup> 0,114 <sup>b</sup>
Haplogrupo H	1,99 [1,42-2,92]	1,93 [1,18-4,20]	1,82 [1,02-2,65]	2,12 [1,99-4,00]	0,225 <sup>a</sup> 0,093 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	1,91 [1,34-2,78]	1,65 [0,92-2,63]	1,86 [1,53-2,92]	2,12 [1,93-3,27]	0,644 <sup>a</sup> 0,671 <sup>b</sup>
<b>Contenido ADNmt mayor a mediana</b>	31 (50%)	5 (41,7%)	14 (41,2%)	12 (75,0%)	0,067 <sup>a</sup> <b>0,026</b> <sup>b</sup>
Haplogrupo H	14 (53,9%)	1 (33,3%)	6 (40,0%)	7 (87,5%)	0,070 <sup>a</sup> <b>0,029</b> <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	17 (47,2%)	4 (44,4%)	8 (42,1%)	5 (62,5%)	0,614 <sup>a</sup> 0,333 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: valor *p* de la comparación de los 3 grupos; <sup>b</sup>: valor *p* de la comparación de los Grupos 2 y 3; *ADNmt*: ácido desoxirribonucleico mitocondrial; *pb*: par de bases.

*Análisis univariante de la asociación entre Haplogrupo H y FA:*

La OR entre Haplogrupo H y la presencia de ritmo sinusal preoperatorio (Grupo 1 vs Grupo 2+3) fue de 2,56 (IC 95% 0,54-16,18,  $p=0,186$ ).

La OR del efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de FA postoperatoria en los pacientes con ritmo sinusal preoperatorio (Grupo 2 vs Grupo 3) fue de 1,27 (IC 95%: 0,39-4,07,  $p=0,697$ ). (Figura 36).

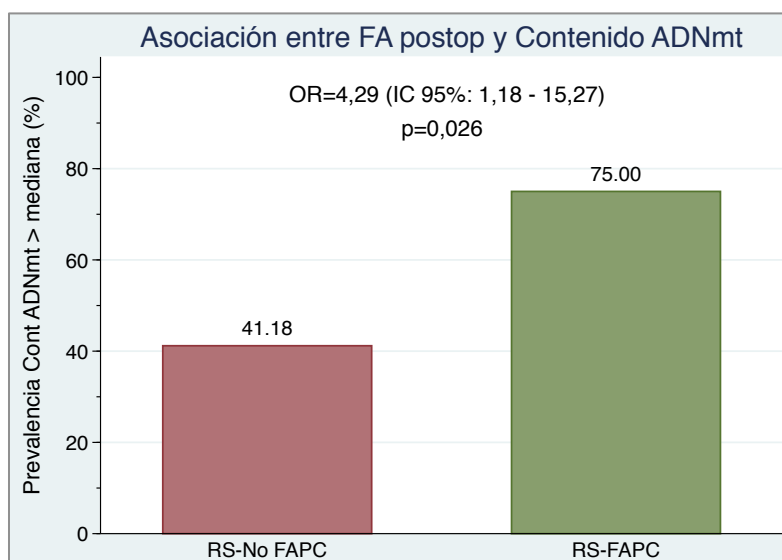


**Figura 36.** Asociación entre Haplogrupo H y FA postoperatoria.

*Análisis univariante de la asociación entre Contenido relativo de ADNmt y FA postoperatoria:*

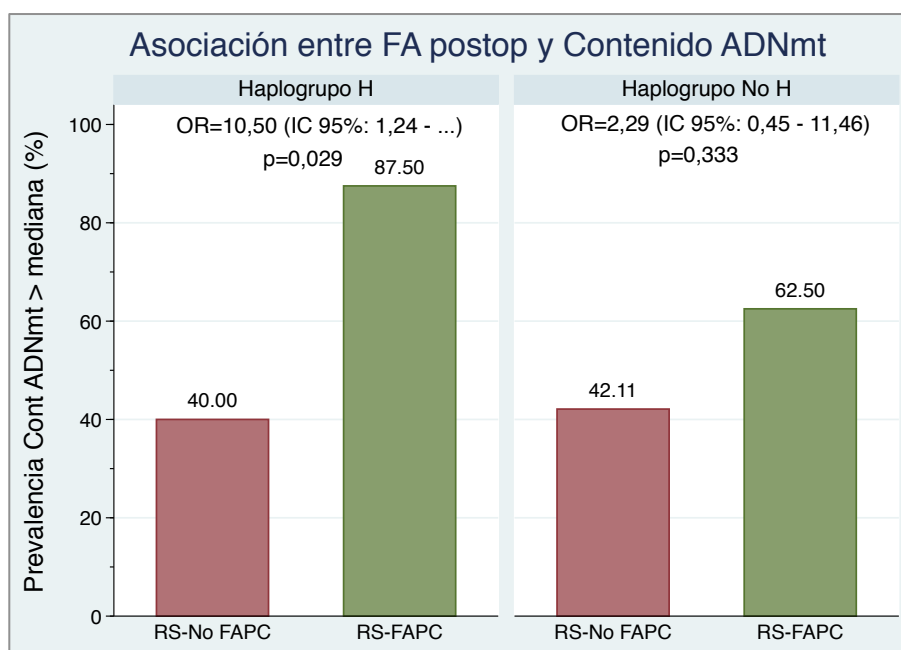
En los pacientes con ritmo sinusal preoperatorio, la OR del efecto del contenido relativo de ADNmt sobre la incidencia de FA postoperatoria (Grupo 2 vs Grupo 3) fue de 1,55 por cada unidad de Contenido de ADNmt (IC 95%: 0,96-2,52,  $p=0,073$ ).

Al dividir las muestras en dos grupos según el Contenido de ADNmt fuera menor o mayor a la mediana, se observó que en los pacientes con RS en el preoperatorio (Grupos 2 + 3), la presencia de Contenido de ADNmt mayor a la mediana estaba asociada de manera significativa con la aparición de FAPC: OR 4,29 (IC 95%: 1,18-15,27;  $p=0,026$ ). (Figura 37).



**Figura 37.** Asociación entre Contenido de ADNmt mayor a la mediana y la FA postoperatoria.

El análisis estratificado por haplogrupo mostró que en los pacientes con Haplogrupo H esta asociación se incrementaba (OR 10,50; IC 95%: 1,25-∞; **p=0,029**), mientras que en los individuos con Haplogrupo No H disminuía (OR 2,29; IC 05%: 0,45-11,46; **p=0,333**). (Figura 38).

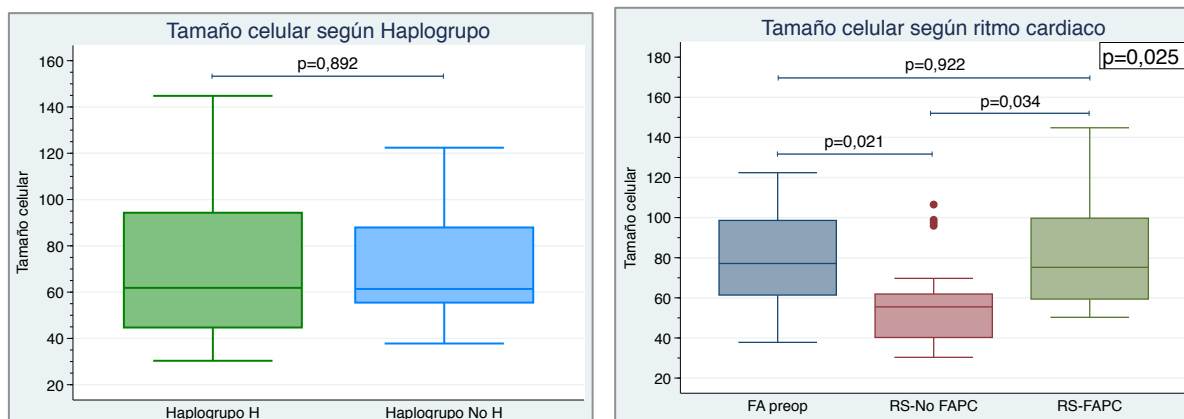


**Figura 38.** Asociación entre Contenido de ADNmt mayor a la mediana y la FA postoperatoria según haplogrupo mitocondrial.

### V.2.c. Factores celulares y electrofisiológicos:

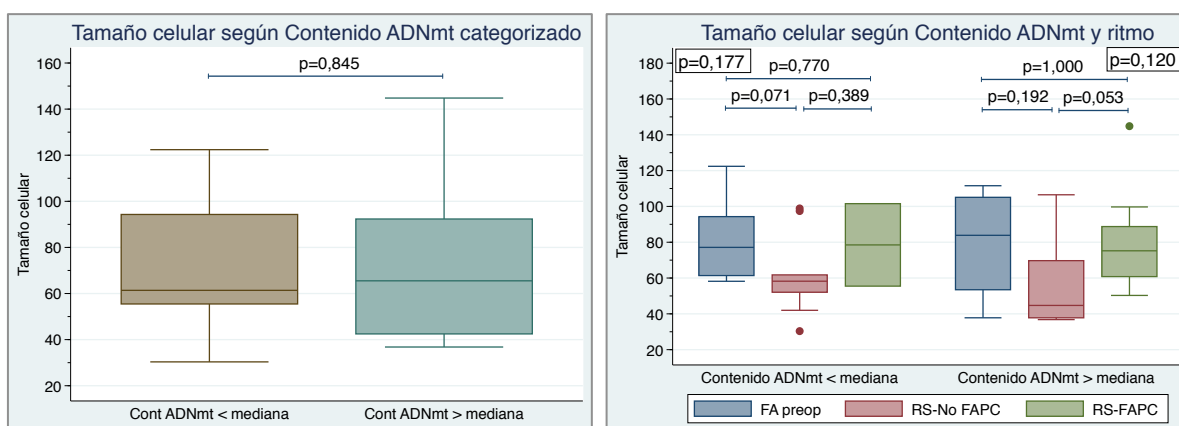
#### - Tamaño celular:

No hubo diferencias significativas en la mediana del Tamaño celular según el Haplogrupo mitocondrial (H: 61,8 [44,7-94,3]  $\mu\text{m}$  vs No H: 61,4 [55,5-87,9]  $\mu\text{m}$ ,  $p=0,892$ ). Sin embargo, los Grupos 1 y 3 presentaban una mediana de tamaño celular significativamente mayor a la del Grupo 2 (77,1 [61,4-98,6]  $\mu\text{m}$  vs 55,5 [40,2-61,9]  $\mu\text{m}$  vs 75,2 [59,4-99,7]  $\mu\text{m}$ ,  $p=0,025$ ). (Figura 39).



**Figura 39.** Tamaño celular según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.

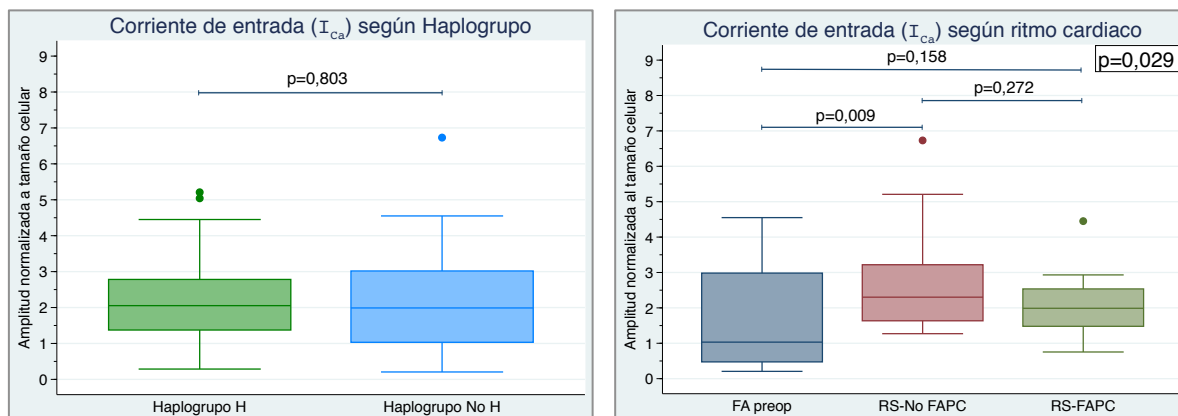
Tampoco se observaron diferencias significativas en la mediana del Tamaño celular según el Contenido de ADNmt categorizado (mayor o menor a la mediana) ( $p=0,845$ ). Si bien, en el subgrupo con Contenido ADNt mayor a la mediana global, los pacientes del Grupo 3 tendieron a presentar un Tamaño celular mayor que los del Grupo 2, siendo esta tendencia casi significativa ( $p=0,053$ ). (Figura 40).



**Figura 40.** Tamaño celular según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco.

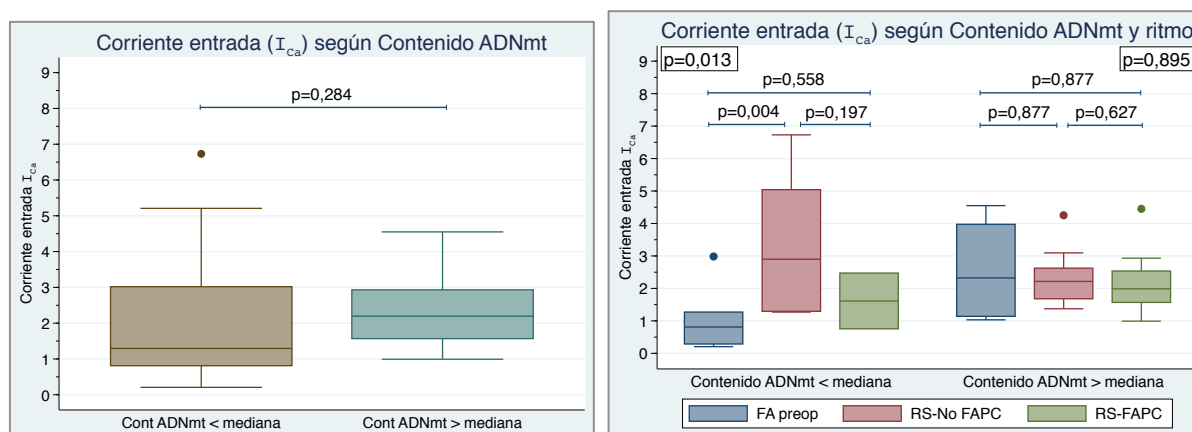
- Corriente de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $I_{\text{CaL}}$ ):

No hubo diferencias significativas en la mediana de la Corriente de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  según el Haplogrupo mitocondrial ( $p=0,803$ ), pero sí entre los Grupos, siendo menor en el Grupo 1 (1,03 [0,47-2,98] pA/pF vs 2,30 [1,63-3,22] pA/pF vs 1,99 [1,48-2,54] pA/pF,  $p=0,029$ ). (Figura 41).



**Figura 41.** Corriente de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.

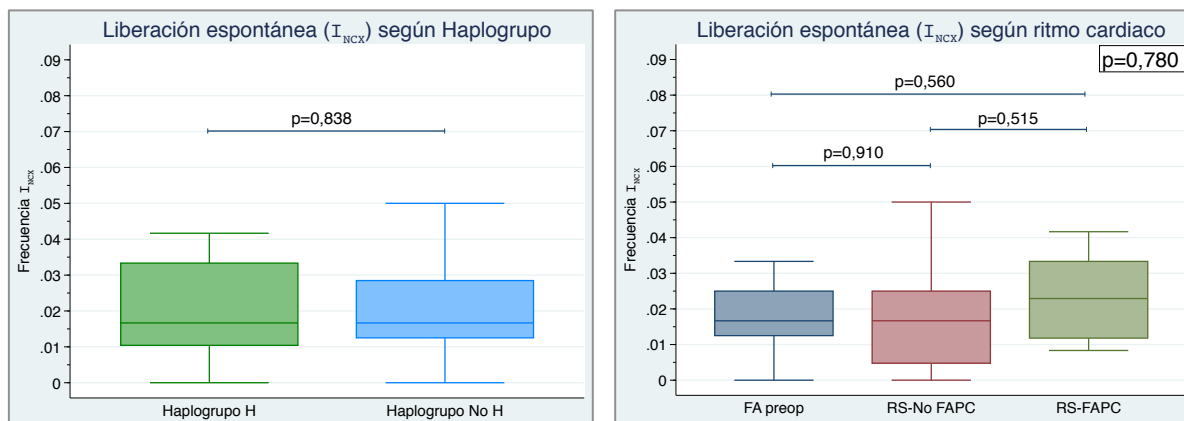
El análisis según el Contenido ADNmt categorizado mostró que no había diferencias significativas en la mediana de la Corriente de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $p=0,284$ ). No obstante, la diferencia de Corriente de entrada entre los Grupos 1 y 2 se mantuvo significativa en las muestras con Contenido de ADNmt menor a la mediana ( $p=0,004$ ), pero no en las que presentaban Contenido de ADNmt mayor a la mediana ( $p=0,877$ ). (Figura 42).



**Figura 42.** Corriente de entrada de calcio según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco.

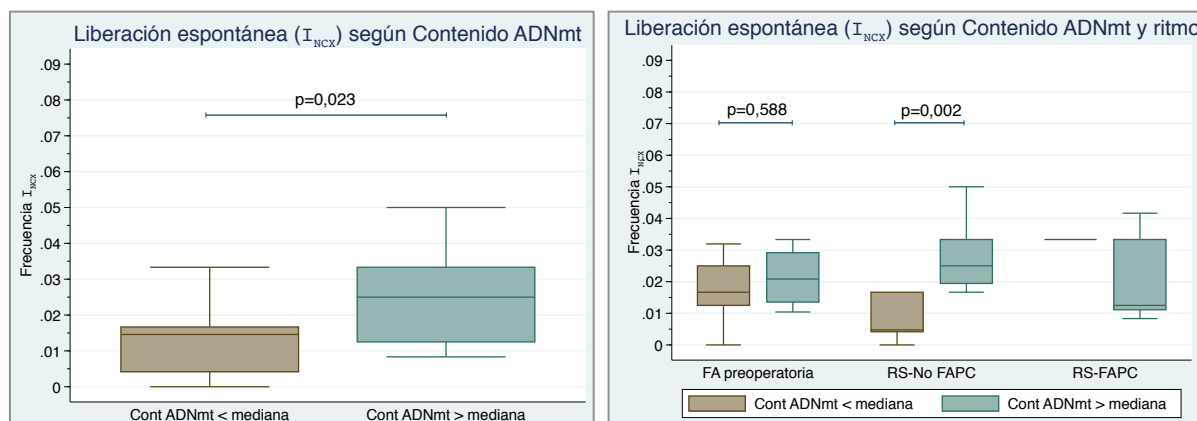
- Liberación espontánea de  $\text{Ca}^{2+}$  (frecuencia de corriente  $I_{\text{NCX}}$ ):

La liberación espontánea de  $\text{Ca}^{2+}$  se midió de manera indirecta como la frecuencia de corrientes de entrada a través del intercambiador  $3\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$  ( $I_{\text{NCX}}$ ). No hubo diferencias significativas en la mediana de  $I_{\text{NCX}}$  según el Haplogrupo mitocondrial ( $p=0,838$ ), ni entre los Grupos ( $p=0,780$ ). (Figura 43).



**Figura 43.** Liberación espontánea de calcio según Haplogrupo mitocondrial y ritmo cardiaco.

Sin embargo, las muestras con Contenido relativo de ADNmt mayor a la mediana presentaron una liberación espontánea de  $\text{Ca}^{2+}$  significativamente mayor a las muestras con Contenido ADNmt menor a la mediana ( $p=0,023$ ). Esta diferencia se mantuvo significativa en los pacientes del Grupo 2 ( $p=0,002$ ). (Figura 44).



**Figura 44.** Liberación espontánea de calcio según Contenido ADNmt categorizado y ritmo cardiaco.

**Tabla 12.** Factores celulares y electrofisiológicos según grupo de ritmo cardiaco.

	<b>Total (N=62)</b>	<b>Grupo 1 (n<sub>1</sub>=12)</b>	<b>Grupo 2 (n<sub>2</sub>=34)</b>	<b>Grupo 3 (n<sub>3</sub>=16)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tamaño celular</b>	61,8 [52,1-94,3]	77,1 [61,4-98,6]	55,5 [40,2-61,9]	75,2 [59,4-99,7]	<b>0,025</b> <sup>a</sup> <b>0,034</b> <sup>b</sup>
Haplogrupo H	61,8 [44,7-94,3]	94,3 [61,4-111,6]	44,7 [37,4-61,9]	79,7 [56,8- 88,7]	0,173 <sup>a</sup> 0,123 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	61,4 [55,5-87,9]	73,9 [63,7-93,3]	58,2 [40,2-65,5]	75,2 [59,4-99,7]	0,199 <sup>a</sup> 0,170 <sup>b</sup>
Cont ADNmt <mediana	61,4 [55,5-94,3]	77,1 [61,4-94,3]	58,2 [52,1-61,8]	78,5 [55,5-101,5]	0,177 <sup>a</sup> 0,389 <sup>b</sup>
Cont ADNmt >mediana	65,5 [42,5-92,3]	83,9 [53,5-105,1]	44,7 [37,8-69,7]	75,2 [60,8-88,7]	0,120 <sup>a</sup> <b>0,053</b> <sup>b</sup>
<b>Corriente entrada calcio</b>	1,99 [1,27-2,98]	1,03 [0,47-2,98]	2,30 [1,63-3,22]	1,99 [1,48-2,54]	<b>0,029</b> <sup>a</sup> 0,272 <sup>b</sup>
Haplogrupo H	2,05 [1,37-2,78]	1,25 [0,29-1,27]	2,62 [2,18-3,09]	1,75 [1,48-2,24]	<b>0,022</b> <sup>a</sup> 0,157 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	1,99 [1,03-3,02]	0,97 [0,64-3,19]	1,99 [1,29-3,22]	2,47 [1,99-2,54]	0,413 <sup>a</sup> 0,806 <sup>b</sup>
Cont ADNmt <mediana	1,29 [0,81-3,02]	0,81 [0,29-1,27]	2,90 [1,29-5,04]	1,61 [0,75-2,47]	<b>0,013</b> <sup>a</sup> 0,197 <sup>b</sup>
Cont ADNmt >mediana	2,20 [1,57-2,93]	2,32 [1,14-3,98]	2,21 [1,68-2,62]	1,99 [1,57-2,54]	0,895 <sup>a</sup> 0,627 <sup>b</sup>
<b>Liberación espontánea Ca<sup>2+</sup></b>	0,017 [0,013- 0,032]	0,017 [0,013- 0,025]	0,017 [0,005- 0,025]	0,023 [0,012- 0,033]	0,780 <sup>a</sup> 0,515 <sup>b</sup>
Haplogrupo H	0,017 [0,010- 0,033]	0,014 [0,010- 0,017]	0,017 [0,005- 0,033]	0,022 [0,010- 0,038]	0,747 <sup>a</sup> 0,566 <sup>b</sup>
Haplogrupo NoH	0,017 [0,013- 0,028]	0,021 [0,015- 0,028]	0,017 [0,008- 0,024]	0,023 [0,013- 0,033]	0,782 <sup>a</sup> 0,606 <sup>b</sup>
Cont ADNmt <mediana	0,015 [0,004- 0,017]	0,017 [0,013- 0,025]	0,005 [0,004- 0,017]	0,033 [0,033- 0,033]	0,106 <sup>a</sup> --- <sup>b</sup>
Cont ADNmt >mediana	0,025 [0,013- 0,033] *	0,021 [0,014- 0,029]	0,025 [0,019- 0,033] **	0,013 [0,011- 0,033]	0,504 <sup>a</sup> 0,292 <sup>b</sup>

\* (valor *p* de comparar Lib espontánea calcio entre categorías Cont ADNmt en el global)= **0,023**

\*\* (valor *p* de comparar Lib espontánea calcio entre categorías Cont ADNmt en Grupo 2)= **0,002**

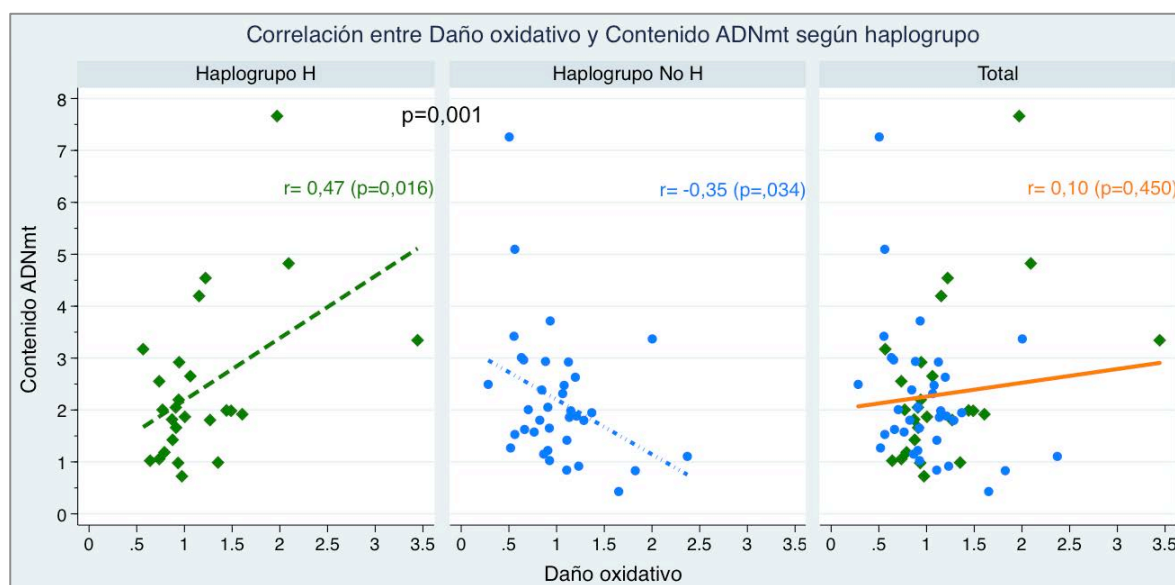
<sup>a</sup>: valor *p* de la comparación de los 3 grupos; <sup>b</sup>: valor *p* de la comparación de los Grupos 2 y 3.



### V.2.d. Correlación entre factores mitocondriales, celulares y electrofisiológicos:

#### - Contenido relativo de ADNmt y Daño oxidativo:

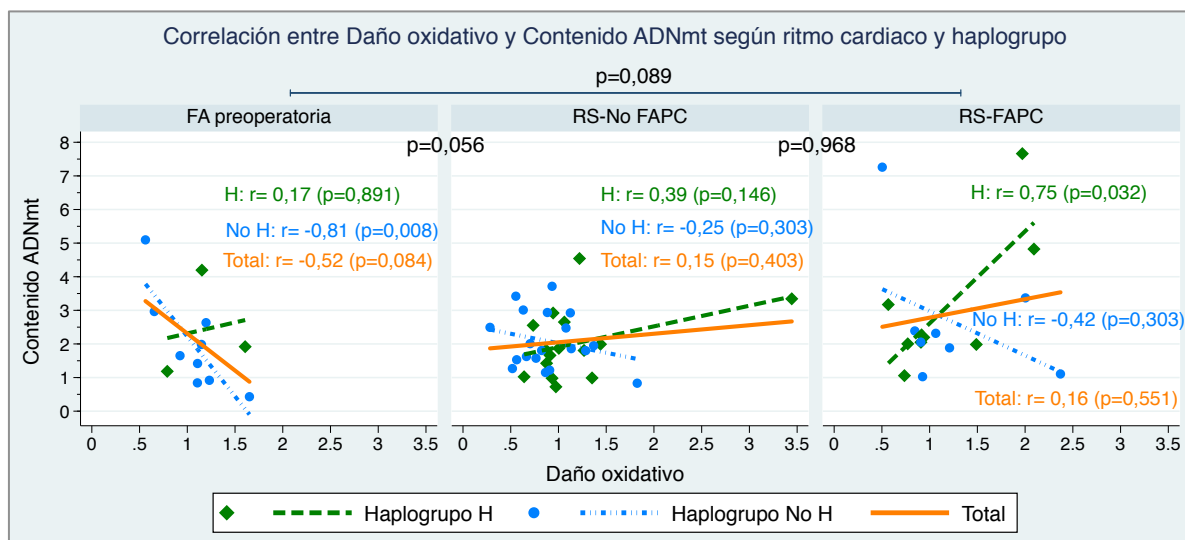
El análisis de toda la muestra no mostró correlación entre el Contenido relativo de ADNmt y el Daño oxidativo ( $r=0,10$ ,  $p=0,450$ ); sin embargo, al estratificar por Haplogrupo se observó que en los pacientes con Haplogrupo H la correlación fue positiva y significativa ( $r=0,47$ ,  $p=0,016$ ), mientras que en aquellos con Haplogrupo No H la correlación fue negativa y significativa ( $r=-0,35$ ,  $p=0,034$ ). La diferencia entre estos coeficientes fue estadísticamente significativa ( $p=0,001$ ). (Figura 45).



**Figura 45.** Correlación entre Daño Oxidativo y Contenido relativo de ADNmt según el Haplogrupo y en el total de la muestra.

En el subanálisis por ritmo cardiaco, esta correlación permaneció significativa en los pacientes con Haplogrupo H del Grupo 3 ( $r= 0,75$ ,  $p=0,032$ ), y en los pacientes con Haplogrupo No H del Grupo 1 ( $r= -0,81$ ,  $p=0,008$ ).

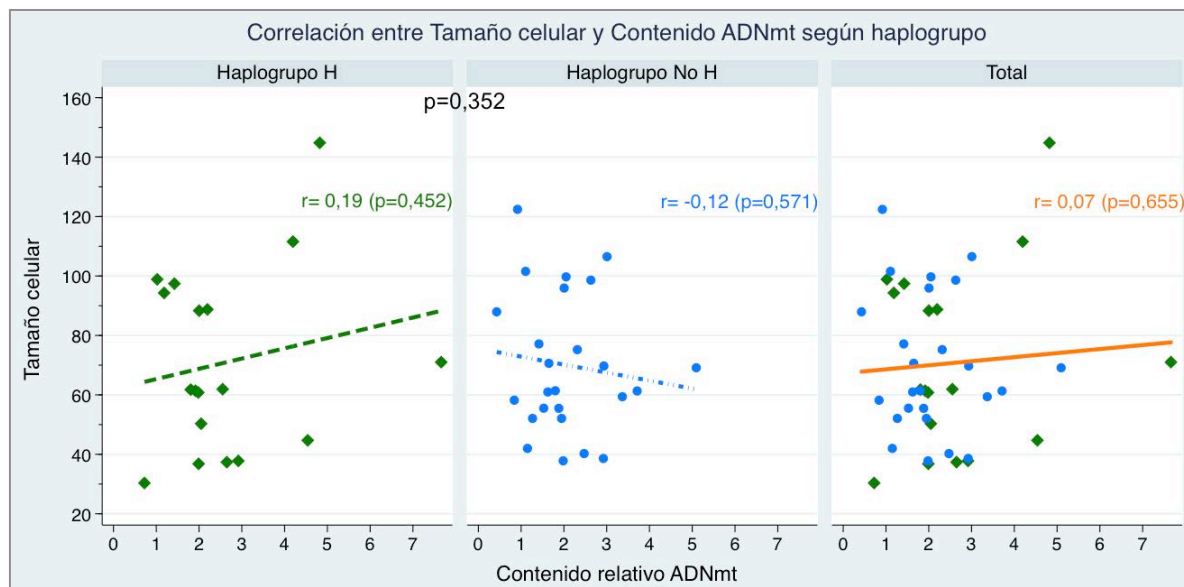
Cuando se compararon los Grupos de ritmo cardiaco sin estratificar por Haplogrupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los coeficientes de los Grupos 2 vs 3 ( $p=0,968$ ), ni entre Grupo 1 vs 3 ( $p=0,089$ ); esta diferencia fue casi significativa cuando se comparó Grupo 1 vs 2 ( $p=0,056$ ). (Figura 46 – siguiente página).



**Figura 46.** Correlación entre Daño Oxidativo y Contenido relativo de ADNmt según el haplogrupo y ritmo cardiaco.

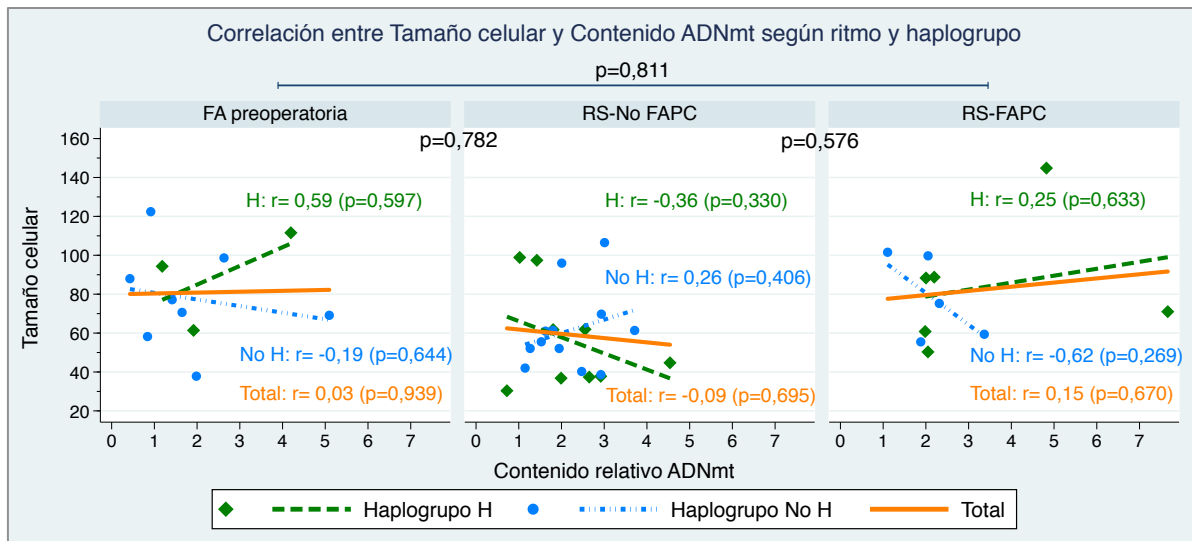
- Tamaño celular y Contenido relativo de ADNmt:

La correlación entre el Tamaño celular y el Contenido relativo de ADNmt en la muestra total fue prácticamente nula ( $r=0,07$ ,  $p=0,655$ ). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los coeficientes de correlación según Haplogrupo mitocondrial ( $p=0,352$ ). (Figura 47).



**Figura 47.** Correlación entre Tamaño celular y Contenido relativo de ADNmt según el haplogrupo.

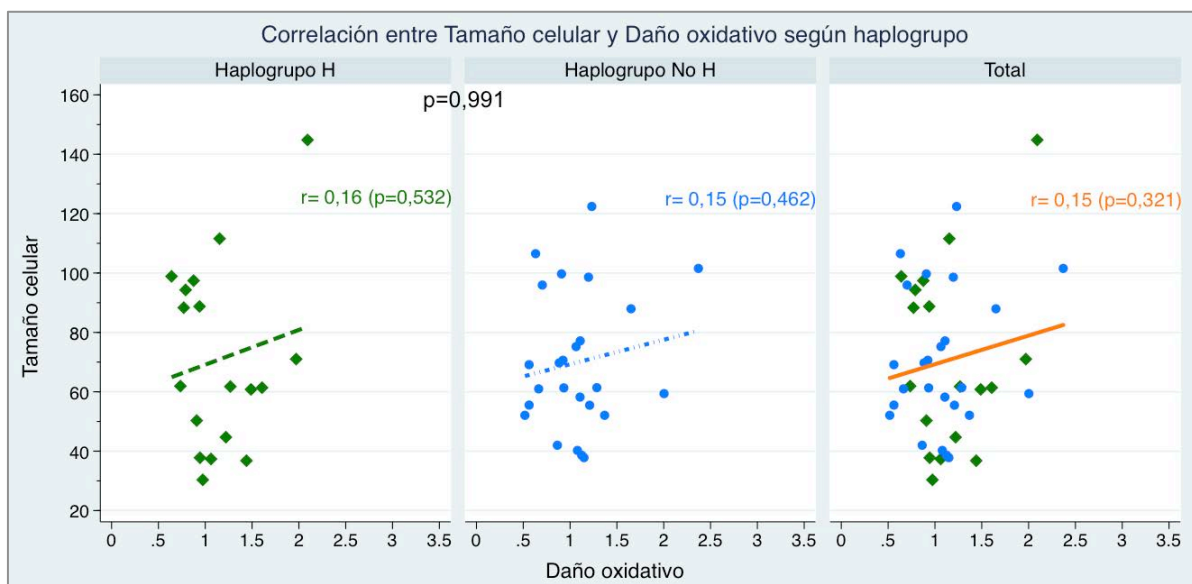
La estratificación por Grupos tampoco mostró diferencias: Grupo 1 vs 2 ( $p=0,782$ ), Grupo 2 vs 3 ( $p=0,576$ ) y Grupo 1 vs 3 ( $p=0,811$ ). (Figura 48).



**Figura 48.** Correlación entre Tamaño celular y Contenido relativo de ADNmt según el haplogrupo y ritmo cardiaco.

- Tamaño celular y Daño Oxidativo:

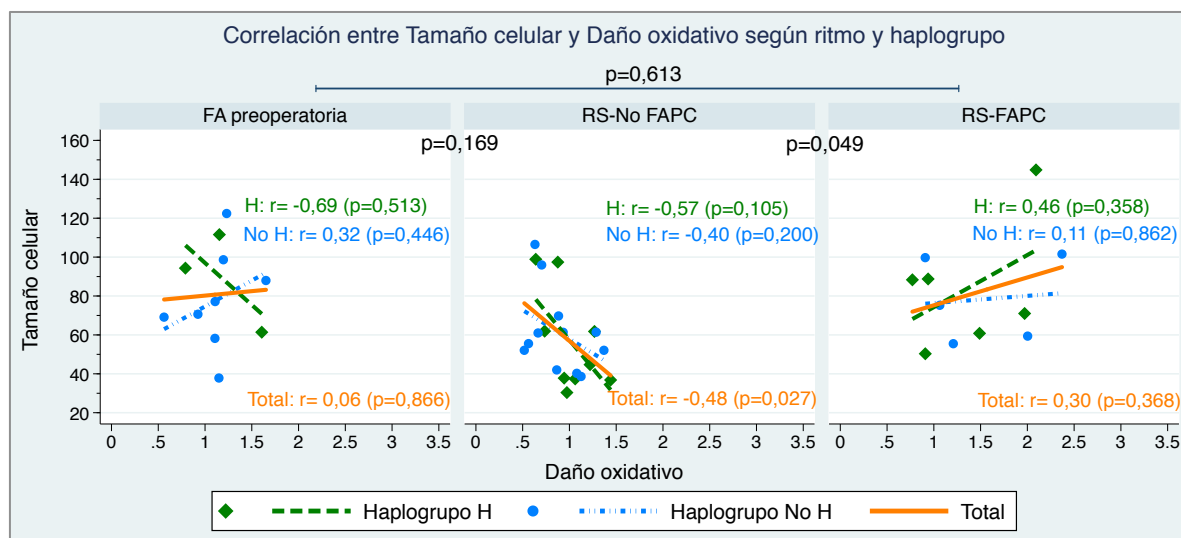
En la muestra total, la correlación entre el Tamaño celular y el Daño oxidativo fue positiva no significativa ( $r= 0,15, p=0,321$ ). Dicha correlación fue prácticamente igual entre Haplogrupos ( $p=0,991$ ). (Figura 49).



**Figura 49.** Correlación entre Tamaño celular y Daño oxidativo según el haplogrupo.

El análisis estratificado por ritmo cardiaco mostró una diferencia significativa ( $p=0,049$ ) entre el coeficiente del Grupo 2, que fue negativo y significativo ( $r= -0,48$ ,  $p=0,027$ ) y el coeficiente del Grupo 3, que fue positivo no significativo ( $r= 0,30$ ,  $p=0,368$ ).

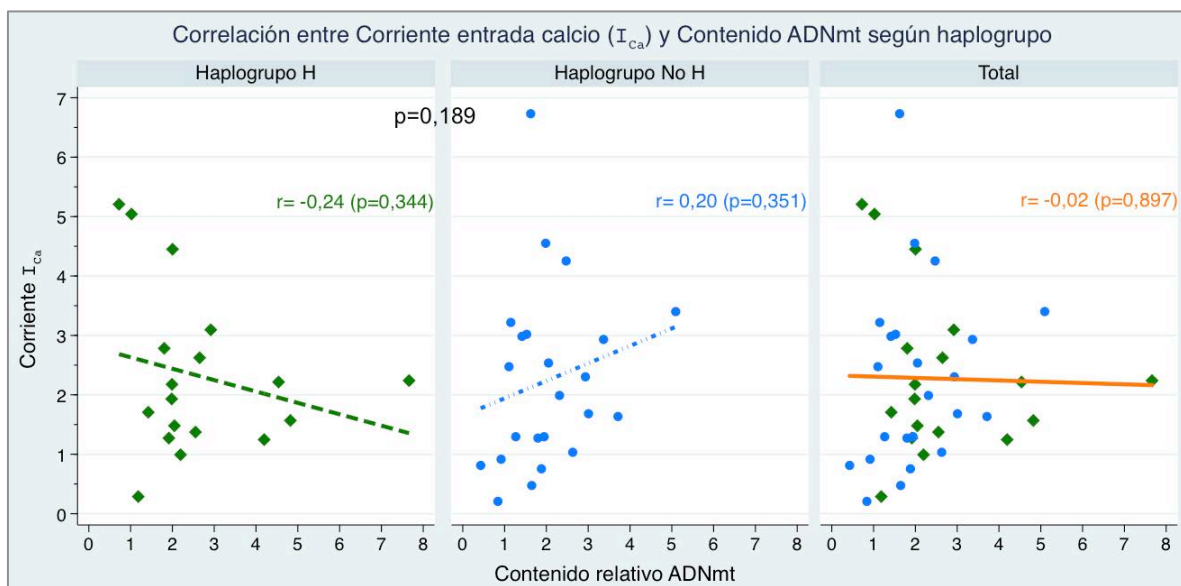
La correlación fue prácticamente nula en el global del Grupo 1 ( $r= 0,06$ ,  $p=0,866$ ); por el contrario, la diferencia entre los coeficientes por Haplogrupos en el Grupo 1 sí fue estadísticamente significativa (H:  $r= -0,69$  vs No H:  $r= 0,32$ ;  $p=0,008$ ).



**Figura 50.** Correlación entre Tamaño celular y Daño oxidativo según el haplogrupo y ritmo cardiaco.

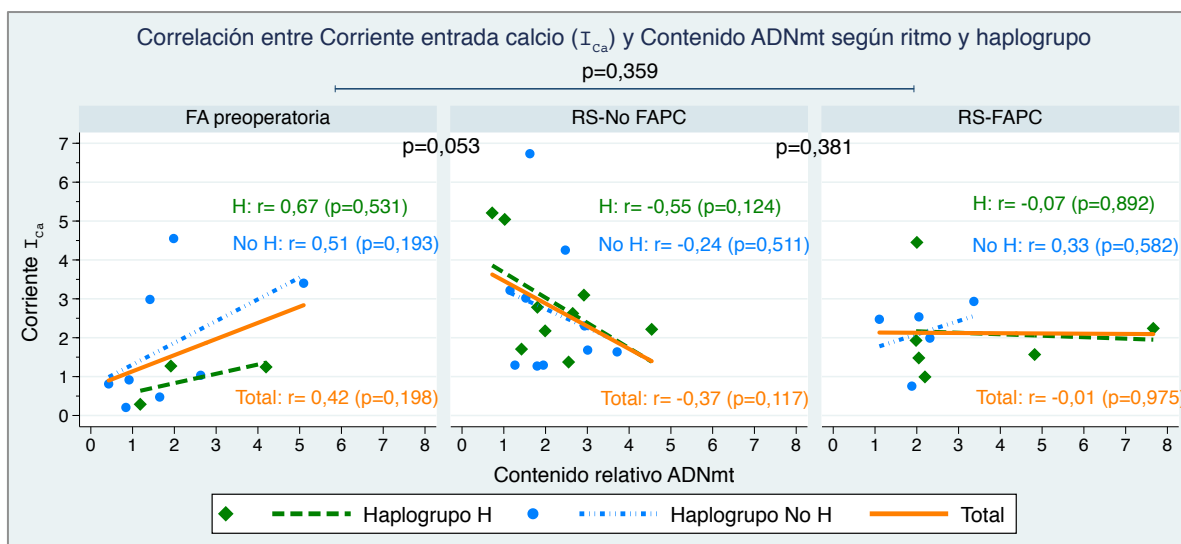
- Corriente de entrada de calcio y Contenido relativo de ADNmt:

La correlación entre dichas variables en la muestra total fue prácticamente nula ( $r= -0,02$ ,  $p=0,897$ ). Sin embargo, en el subanálisis por Haplogrupo mitocondrial el sentido de la correlación varió: en los pacientes con Haplogrupo H la correlación fue negativa no significativa ( $r= -0,24$ ,  $p=0,344$ ), mientras que en los pacientes con Haplogrupo No H la correlación fue positiva no significativa ( $r= 0,20$ ,  $p=0,351$ ), sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos coeficientes ( $p=0,189$ ). (Figura 51 – página siguiente).



**Figura 51.** Correlación entre Corriente de entrada de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo.

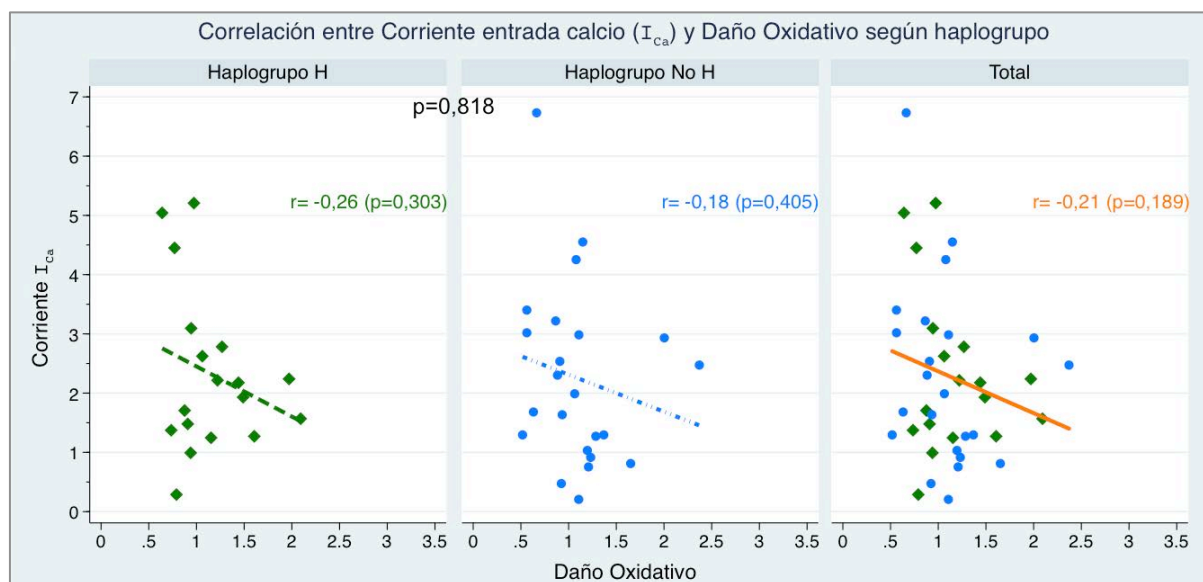
El subanálisis por ritmo cardíaco mostró que en el Grupo 1 la correlación fue positiva no significativa ( $r= 0,42, p=0,198$ ), en el Grupo 2 fue negativa no significativa ( $r=-0,37, p=0,117$ ) y en el Grupo 3 fue casi nula ( $r= -0,01, p=0,975$ ). No hubo diferencias significativas entre los coeficientes de los Grupos 1 vs 3 ( $p=0,359$ ) y Grupo 2 vs 3 ( $p=0,381$ ). No obstante, al comparar los Grupos 1 vs 2, la diferencia fue casi significativa ( $p=0,053$ ). (Figura 52).



**Figura 52.** Correlación entre la Corriente de entrada de calcio y el Contenido relativo de ADNmt según haplogrupo y ritmo cardíaco.

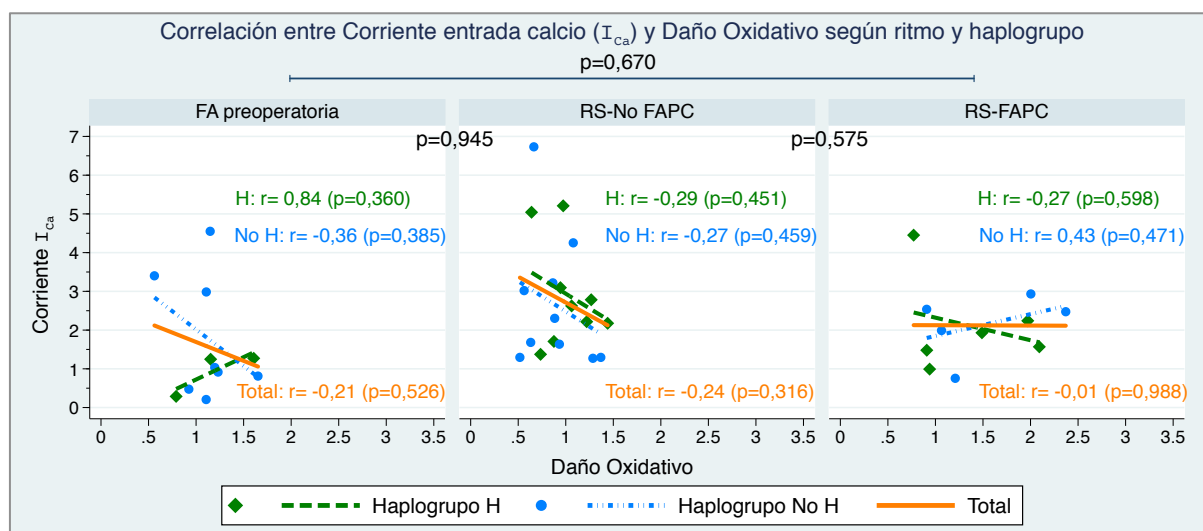
- Corriente de entrada de calcio y Daño oxidativo:

La correlación entre dichas variables en la muestra total fue negativa no significativa ( $r = -0,21$ ,  $p = 0,189$ ). El subanálisis por Haplogrupo mitocondrial no evidenció diferencias significativas (H:  $r = -0,26$ ,  $p = 0,303$ ; No H:  $r = -0,18$ ,  $p = 0,405$ ; prueba de significación entre coeficientes:  $p = 0,818$ ).



**Figura 53.** Correlación entre Corriente entrada calcio y el Daño oxidativo según haplogrupo.

El subanálisis por ritmo cardiaco tampoco mostró diferencias significativas entre los coeficientes de la correlación entre la Corriente  $I_{Ca}$  y el Daño oxidativo: Grupo 1:  $r = -0,21$  ( $p = 0,526$ ), Grupo 2:  $r = -0,24$  ( $p = 0,316$ ), y Grupo 3:  $r = -0,01$  ( $p = 0,988$ ). Prueba significación Grupo1 vs 2:  $p = 0,945$ ; Grupo 2 vs 3:  $p = 0,575$ ; y Grupo 1 vs 3:  $p = 0,670$ . Sí hubo diferencia significativa entre Haplogrupos dentro del Grupo 1 (H:  $r = 0,84$ , vs No H:  $r = -0,36$ ;  $p < 0,001$ ). (Figura 54).



**Figura 54.** Correlación entre  $I_{CaL}$  y el Daño oxidativo según haplogrupo y ritmo cardiaco.

- Liberación espontánea de calcio y Contenido relativo de ADNmt

La liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ) se correlacionó de forma positiva no significativa con el Contenido de ADNmt ( $r= 0,22, p=0,209$ ). En el subanálisis por haplogrupos, dicha correlación fue casi nula en los pacientes con Haplogrupo H ( $r= 0,03, p=0,912$ ); por el contrario, en aquellos con Haplogrupo No H fue positiva y casi significativa ( $r= 0,40, p=0,081$ ). Sin embargo, no había diferencias significativas entre los coeficientes por Haplogrupos ( $p=0,329$ ). (Figura 55).

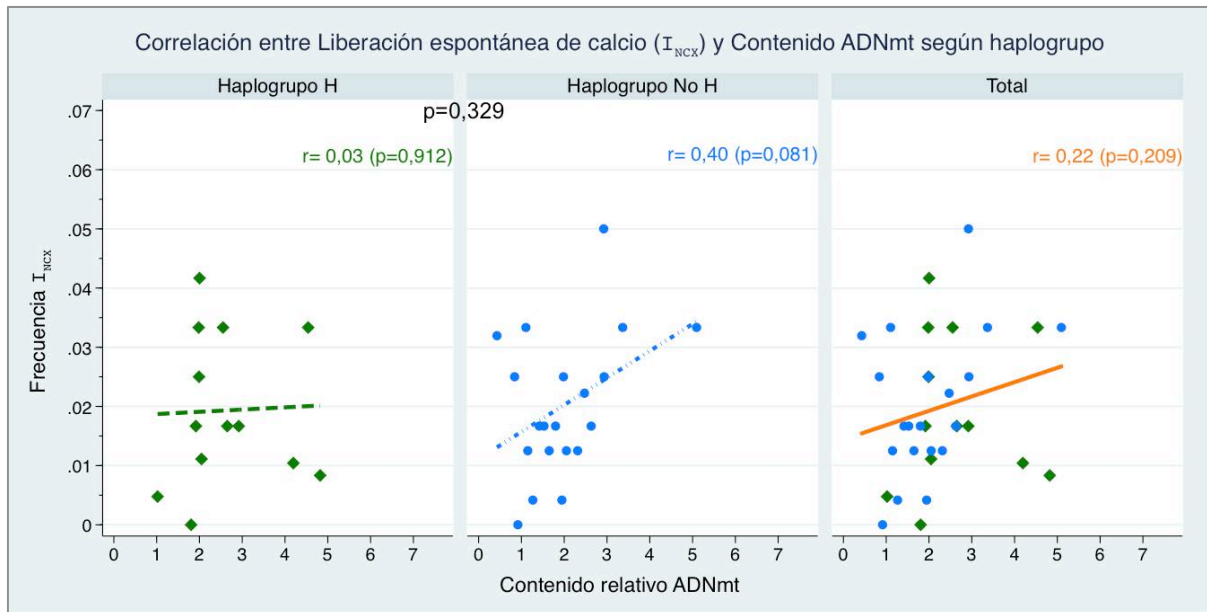


Figura 55. Correlación entre Liberación espontánea calcio y el Cont ADNmt según haplogrupo.

En el subanálisis por Grupos, la correlación fue significativamente diferente ( $p=0,022$ ) al comparar los Grupos 2 ( $r= 0,66, p=0,007$ ) vs 3 ( $r= -0,40, p=0,331$ ), pero no al comparar los Grupos 1 vs 2 ( $p=0,178$ ) o Grupos 1 vs 3 ( $p=0,326$ ). (Figura 56).

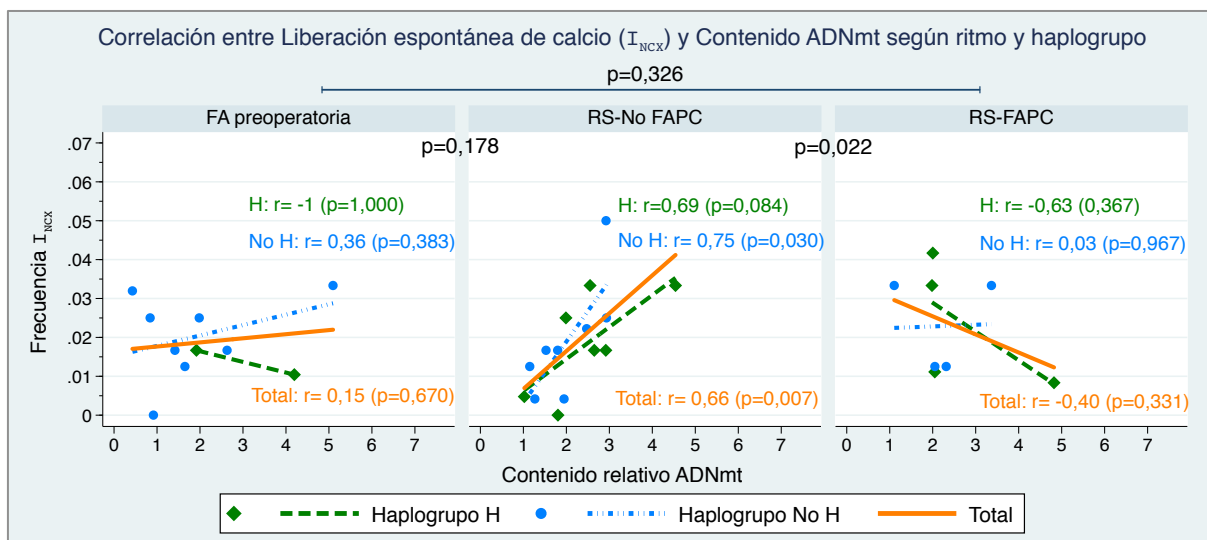
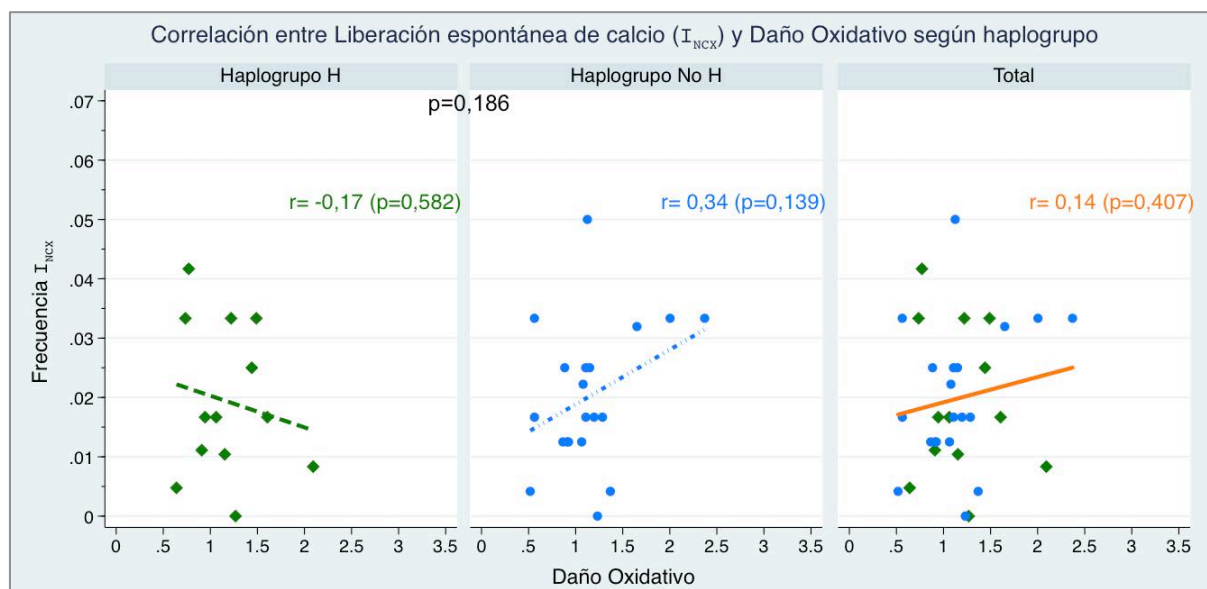


Figura 56. Correlación entre Liberación espontánea calcio y el Contenido de ADNmt según haplogrupo y ritmo cardíaco.

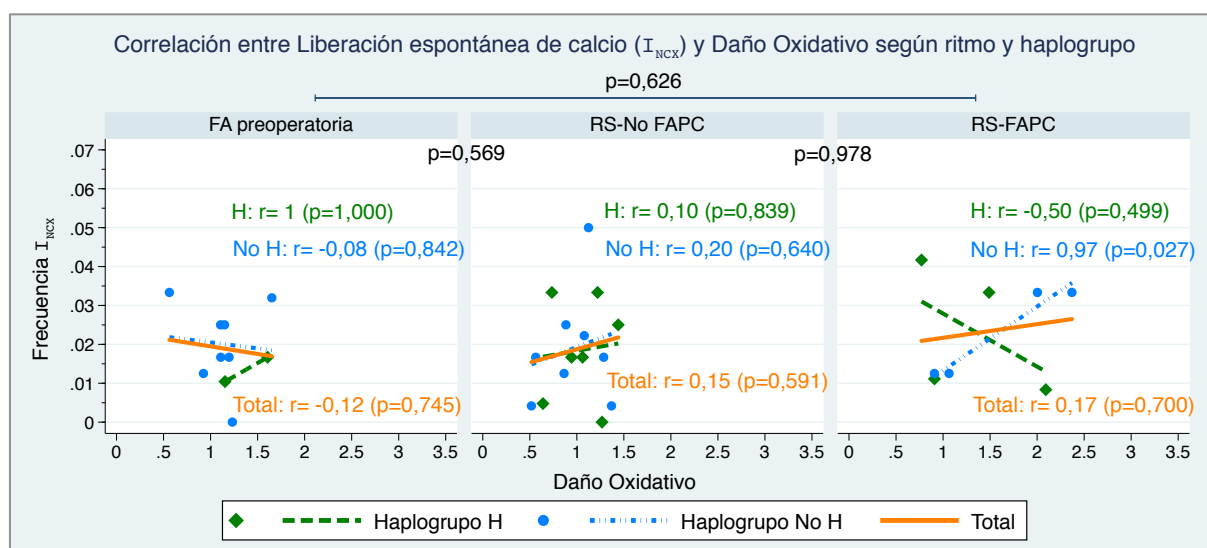
- Liberación espontánea de calcio y Daño Oxidativo

La correlación entre la liberación espontánea de calcio (frecuencia  $I_{NCX}$ ) y el Daño Oxidativo fue positiva no significativa ( $r= 0,14$ ,  $p=0,407$ ). Al estratificar por Haplogrupos, el sentido de la correlación fue negativo en el Haplogrupo H ( $r= -0,17$ ,  $p=0,582$ ) y positivo en los Haplogrupos No H ( $r= 0,34$ ,  $p=0,139$ ), sin diferencias significativas entre dichos coeficientes ( $p=0,186$ ). (Figura 57).



**Figura 57.** Correlación entre Liberación espontánea calcio y Daño oxidativo según haplogrupo.

La variación de la correlación según el ritmo cardiaco fue no significativa: Grupo 1 ( $r= -0,12$ ) vs Grupo 2 ( $r= 0,15$ ):  $p=0,569$ ; Grupo 2 vs 3 ( $r= 0,17$ ):  $p=0,978$ , y Grupo 1 vs 3:  $p=0,626$ . Los pacientes con Haplogrupo No H del Grupo 3 presentaron una correlación fuertemente positiva ( $r= 0,97$ ,  $p=0,027$ ), aunque no se disponía de los datos electrofisiológicos de los ocho pacientes con dichas características.



**Figura 58.** Correlación entre Lib espontánea calcio y Daño oxidativo según haplogrupo y ritmo.



**V.2.e. Valoración de la confusión del efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de FA postoperatoria:**

- Primera fase: Identificación de posibles confundidores: (Tabla 13)

Según el análisis univariante, las variables clínicas, mitocondriales, celulares y/o electrofisiológicas asociadas y potencialmente confundidoras ( $p < 0,20$ ) a la incidencia de FA postoperatoria en los pacientes con RS previo a la cirugía fueron:

## a) Preoperatorias:

- i. Sexo femenino (OR 5,8,  $p=0,008$ );
- ii. Edad mayor a 70 años (OR 4,29, Prueba de tendencia lineal M-H:  $p=0,045$ );
- iii. Diámetro aurícula izquierda mayor a 40 mm (OR 6,22,  $p=0,018$ ).

## b) Intraoperatorias:

- i. Cirugía combinada valvular y coronaria (OR 4,51,  $p=0,025$ );
- ii. Cirugía sobre la válvula mitral (OR 12,44,  $p=0,001$ );
- iii. Tiempo de isquemia cardiaca mayor a 90 minutos y menor o igual a 120 minutos (OR 7,0, Prueba de tendencia lineal M-H:  $p=0,032$ ).

## c) Postoperatorias:

- i. Insuficiencia renal aguda (OR 2,78,  $p=0,061$ );
- ii. AKIN grados I y III: (OR 2,15 y 3,13, Prueba de tendencia lineal M-H:  $p=0,134$ ).

## d) Mitocondriales:

- i. Contenido relativo ADNmt (OR 1,55,  $p=0,073$ ).
- ii. Contenido relativo ADNmt categorizado (OR 4,29,  $p=0,026$ ).

## e) Celulares y Electrofisiológicas:

- i. Tamaño celular (OR 1,04,  $p=0,036$ ).

- Otras variables asociadas a la FA postoperatoria, pero no confundidoras (falta de precedencia temporal):

## a) Postoperatorias:

- i. Estancia en UCI prolongada (> 3 días) (OR 4,60,  $p=0,016$ ).
- ii. Estancia postoperatoria total prolongada (> 14 días) (OR 4,50,  $p=0,034$ ).

**Tabla 13.** Variables asociadas con FA postoperatoria – Potenciales confundidores.

	OR	IC 95%	Valor p
<b>Preoperatorias</b>			
Sexo femenino	5,80	1,54-21,92	<b>0,008</b>
Edad (categorizada)			
< 60 años (referencia)	1,00	---	
60-69 años	1,00	0,11-8,56	rtrend
≥ 70 años	4,29	1,18-15,27	<b>0,045</b>
AI >40mm	6,22	1,34-(...)	<b>0,018</b>
<b>Intraoperatorias</b>			
Cirugía combinada	4,51	1,19-17,08	<b>0,025</b>
Cirugía mitral	12,44	2,41-(...)	<b>0,001</b>
Tiempo clampaje aórtico			
≤ 60 min (referencia)	1,00	---	
>60 y ≤ 90 min	1,87	0,39-8,93	rtrend
>90 y ≤ 120 min	7,0	1,18-41,36	<b>0,032</b>
> 120 min	4,67	0,22-97,50	
<b>Postoperatorias</b>			
IRA postoperatoria	2,78	0,83-9,40	<b>0,101</b>
Grado AKIN			
No IRA (referencia)	1,0		
AKIN I	2,50	0,54-11,63	rtrend
AKIN II	---	---	0,134
AKIN III	3,13	0,63-15,45	
<b>Mitocondriales</b>			
Contenido relativo ADNmt	1,55	0,96-2,52	<b>0,073</b>
Contenido ADNmt > mediana	4,29	1,18-15,27	<b>0,026</b>
<b>Celulares</b>			
Tamaño celular	4,50	1,11-18,18	<b>0,034</b>

ADNmt: ácido desoxirribonucleico mitocondrial; AI: aurícula izquierda; AKIN: acute kidney injury network; IRA: insuficiencia renal aguda; UCI: unidad cuidados intensivos

- Segunda fase: Valoración de los Criterios de confusión del efecto del Haplogrupo H sobre la FA postoperatoria: (Tabla 14)

- i. Primer criterio de confusión:

La segunda columna de la Tabla 14 muestra los valores de OR del primer criterio de los potenciales confundidores. Cumplieron el primer criterio todos los factores clínicos identificados, pero no el Contenido relativo de ADNmt ni el Tamaño celular.

- ii. Segundo criterio de confusión:

La tercera columna de la Tabla 14 muestra los valores de OR del segundo criterio de los potenciales confundidores. Cumplieron el segundo criterio 5 factores: el sexo femenino, edad mayor o igual a 70 años, aurícula izquierda dilatada, tiempo de isquemia cardiaca mayor a 90 minutos y la insuficiencia renal aguda postoperatoria.

- iii. Tercer criterio de confusión:

Todas las variables potencialmente confundidoras cumplían este criterio.

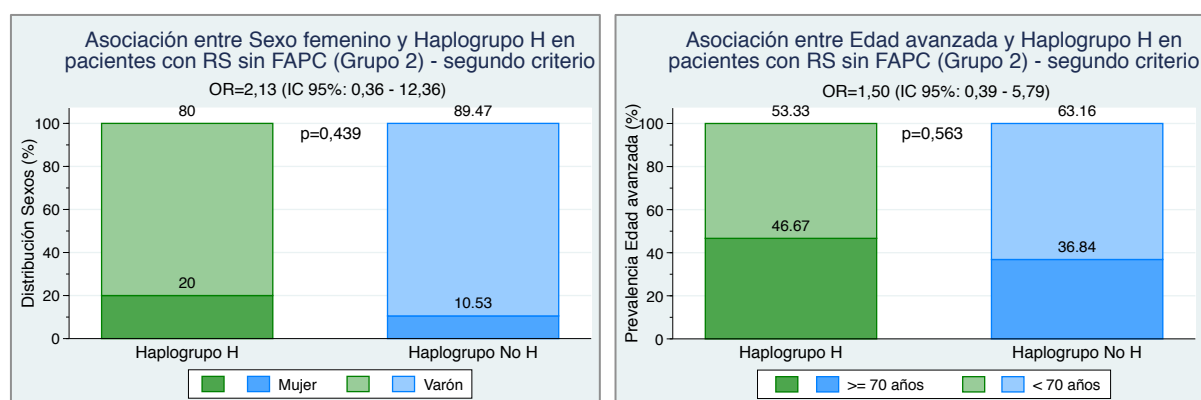
- Tercera fase: importancia clínica (cambio OR):

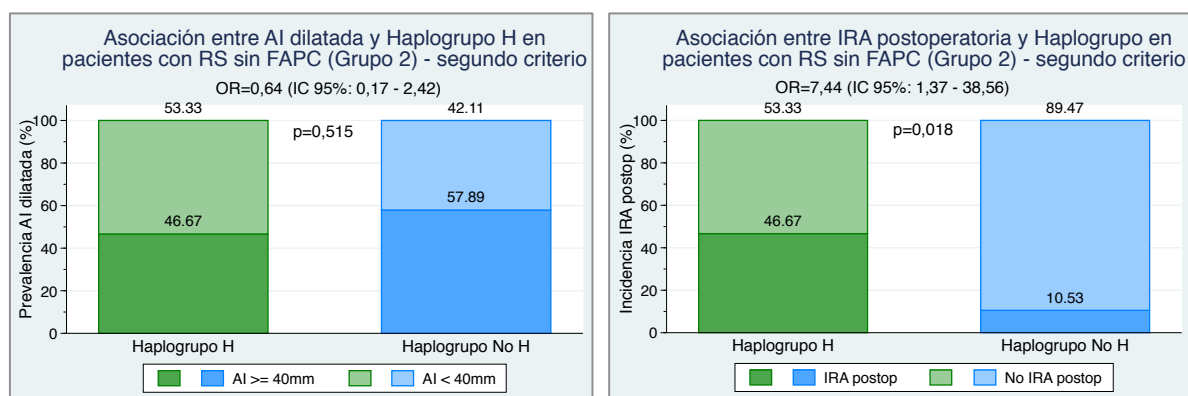
Se calculó el porcentaje de cambio de la OR cruda (sin ajustar) del efecto del Haplogrupo H respecto a la OR ajustada por la variable confundidora. De los 5 factores de confusión, sólo cuatro presentaban un cambio de OR clínicamente importante (>10%): el sexo femenino, edad mayor o igual a 70 años, aurícula izquierda dilatada, y la insuficiencia renal aguda postoperatoria.

**Tabla 14.** Valoración de los criterios de confusión y de la importancia clínica de los potenciales confundidores.

	OR del Primer criterio	OR del Segundo criterio	Cambio OR (%)	Pertinencia ajuste
<b>Preoperatorias</b>				
Sexo femenino	5,10	2,13	36,5%	<b>Sí</b>
Edad $\geq 70$ años	5,14	1,5	10,4%	<b>Sí</b>
AI $>40$ mm	5,09	0,64	12,3%	<b>Sí</b>
<b>Intraoperatorias</b>				
Cirugía combinada	5,33	0,82	---	No
Cirugía mitral	10,80	1,29	---	No
Tiempo isquemia $>90$ min	2,25	0,27	9,8%	No
<b>Postoperatorias</b>				
IRA postoperatoria	8,5	7,44	31,3%	<b>Sí</b>
<b>Mitocondriales</b>				
Contenido relativo ADNmt	1,43	0,92	---	No
<b>Celulares</b>				
Tamaño celular	1,04	0,99	---	No

ADNmt: ácido desoxirribonucleico mitocondrial; AI: aurícula izquierda; AKIN: acute kidney injury network; IRA: insuficiencia renal aguda.

**Figura 59.** Análisis del segundo criterio de confusión para el Sexo femenino (a la izquierda) y la Edad avanzada (a la derecha): Asociación entre dichas variables y el Haplogrupo H en pacientes sin FAPC (Grupo 2).



**Figura 60.** Análisis del segundo criterio de confusión para la AI dilatada (a la izquierda) y la IRA postoperatoria (a la derecha): Asociación entre dichas variables y el Haplogrupo H en pacientes sin FAPC (Grupo 2).

### V.2.f. Valoración de la interacción gen-ambiente:

El único factor de confusión adquirido fue la insuficiencia renal aguda postoperatoria. Se construyó la tabla de cálculo de las OR de los diferentes componentes genético y ambiental:

**Tabla 15.** Cálculo de OR de los componentes genético y adquirido.

IRA postop	Haplogrupo	Casos	Controles	OR
No	No H	A=4	B=17	Referencia
	H	C=4	D=8	$OR_{CompGen} = \frac{C \times B}{A \times D} = \frac{4 \times 17}{4 \times 8} = 2,13$
Sí	No H	E=4	F=2	$OR_{CompAmb} = \frac{E \times B}{A \times F} = \frac{4 \times 17}{4 \times 2} = 8,5$
	H	G=4	H=7	$OR_{Gen-Amb} = \frac{G \times B}{A \times H} = \frac{4 \times 17}{4 \times 7} = 2,43$

La OR de la Interacción Gen-Ambiente ( $OR_{Inter\ Gen-Amb}$ ) fue 0,13:

$$OR_{Inter\ Gen-Amb} = \frac{OR_{Gen-Amb}}{OR_{CompGen} \times OR_{CompAmb}} = \frac{2,43}{2,13 \times 8,5} = 0,13$$

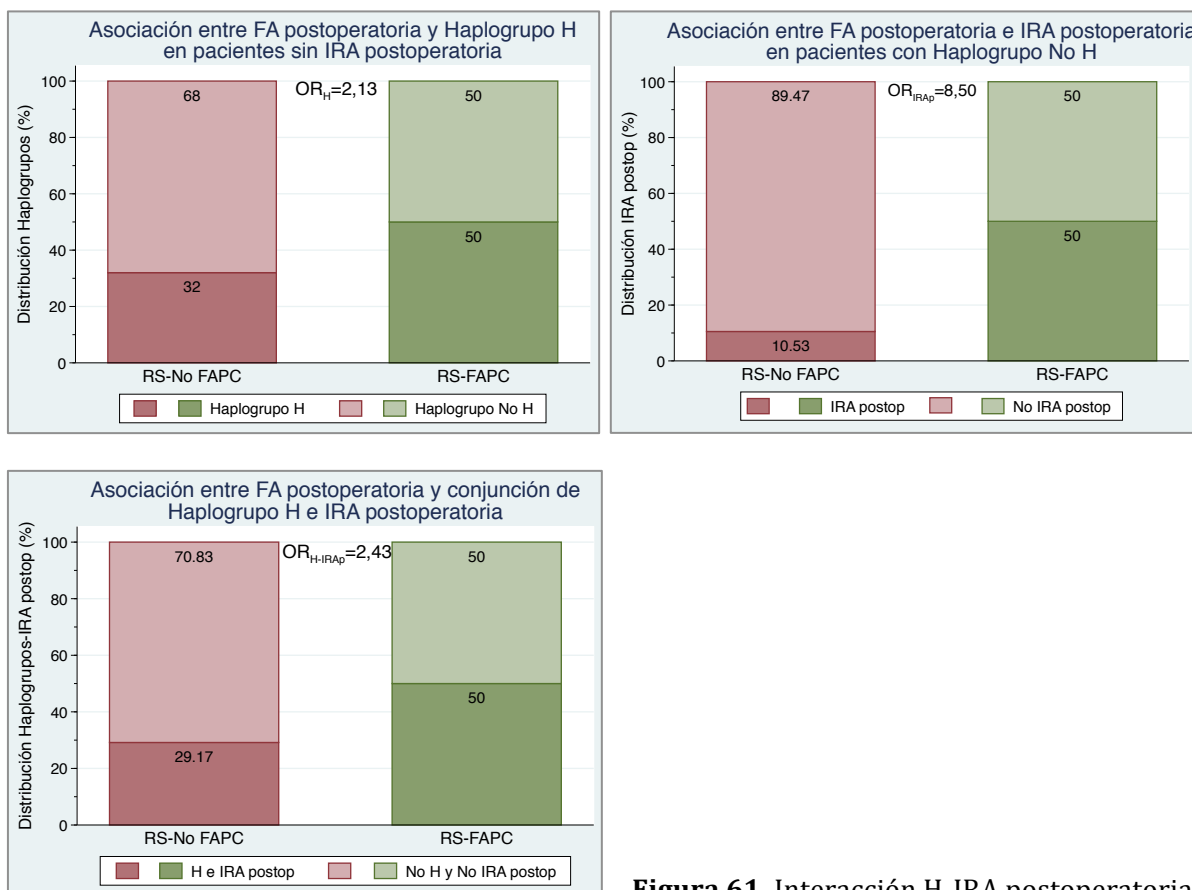


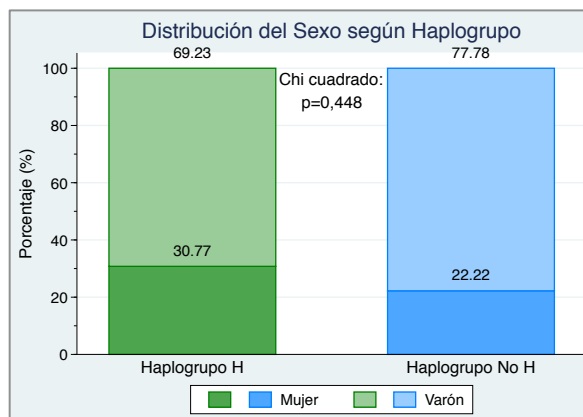
Figura 61. Interacción H-IRA postoperatoria.

**V.2.g. Valoración de los factores de confusión según el Haplogrupo H:**

- Sexo femenino:

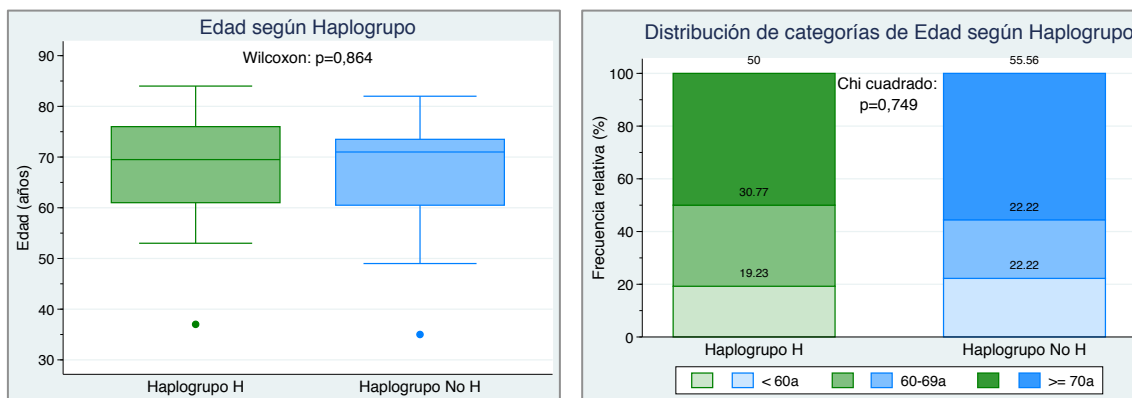
No se observaron diferencias significativas en la distribución del sexo en función del haplogrupo (H vs No H) (Prueba Chi cuadrado:  $p=0,448$ ). (Figura 62).

Figura 62. Distribución sexo según haplogrupo.



- Edad avanzada:

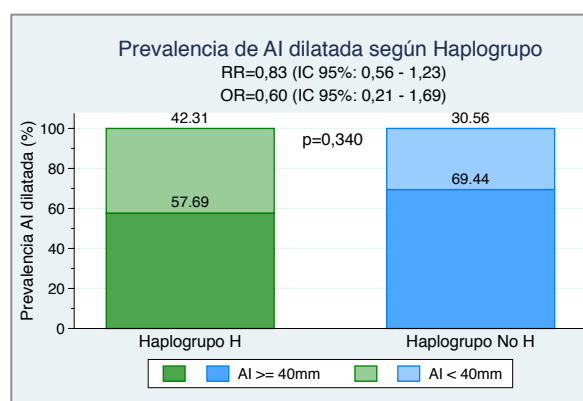
No se hallaron diferencias significativas en la mediana de edad (Wilcoxon:  $p=0,864$ ) ni en la distribución de las categorías de edad según el haplogrupo (Chi cuadrado:  $p=0,749$ ). (Figura 63).



**Figura 63.** Diferencia de distribución de edad según haplogrupo como variable continua (a la izquierda) o categórica (a la derecha).

- AI dilatada:

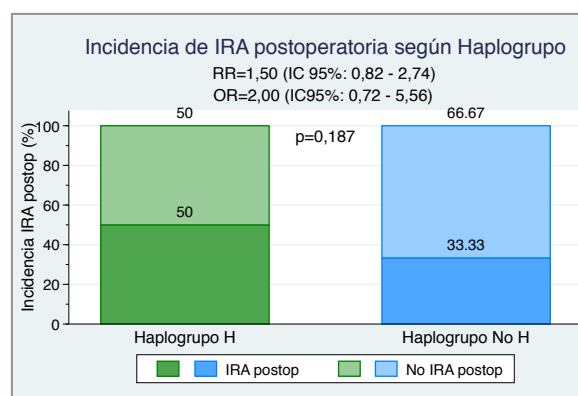
No se observó diferencia significativa en la frecuencia relativa de pacientes con AI dilatada ( $\geq 40$  mm) según el haplogrupo mitocondrial (Chi cuadrado:  $p=0,340$ ) (Figura 64).



**Figura 64.** Asociación entre la frecuencia de AI dilatada y el Haplogrupo H en la muestra total.

- IRA postoperatoria

Los pacientes con Haplogrupo H presentaron una tendencia a mayor incidencia de IRA en el postoperatorio, aunque la diferencia no fue significativa (RR=1,50; OR 2,00;  $p=0,187$ ).



**Figura 65.** Asociación entre la incidencia de IRA postoperatoria y el Haplogrupo H.

La asociación entre el Haplogrupo H y la incidencia de IRA postoperatoria en los pacientes con RS preoperatorio (Grupo 2 + 3) fue: RR=2,15 y OR 3,21 ( $p=0,057$ ). Al estratificar por la ausencia o presencia de FA postoperatoria, la asociación cambió: a) Grupo 2: OR 7,44 ( $p=0,018$ ), y b) Grupo 3: OR 1,00 ( $p=1,000$ ).

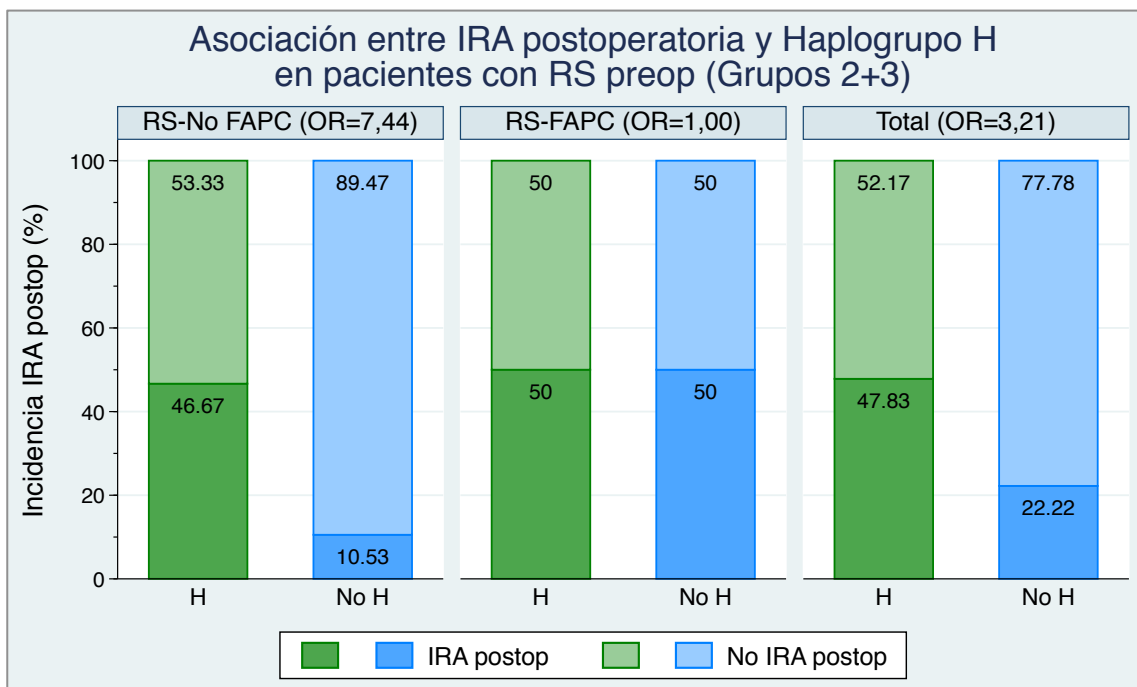


Figura 66. Asociación entre IRA postoperatoria y Haplogrupo H según el ritmo postoperatorio.

La siguiente gráfica muestra la interacción gen-ambiente (Haplogrupo H - IRA postoperatoria) mediante la asociación entre el haplogrupo H y la incidencia de FAPC en la muestra total con RS preoperatorio y estratificado por IRA postoperatoria.

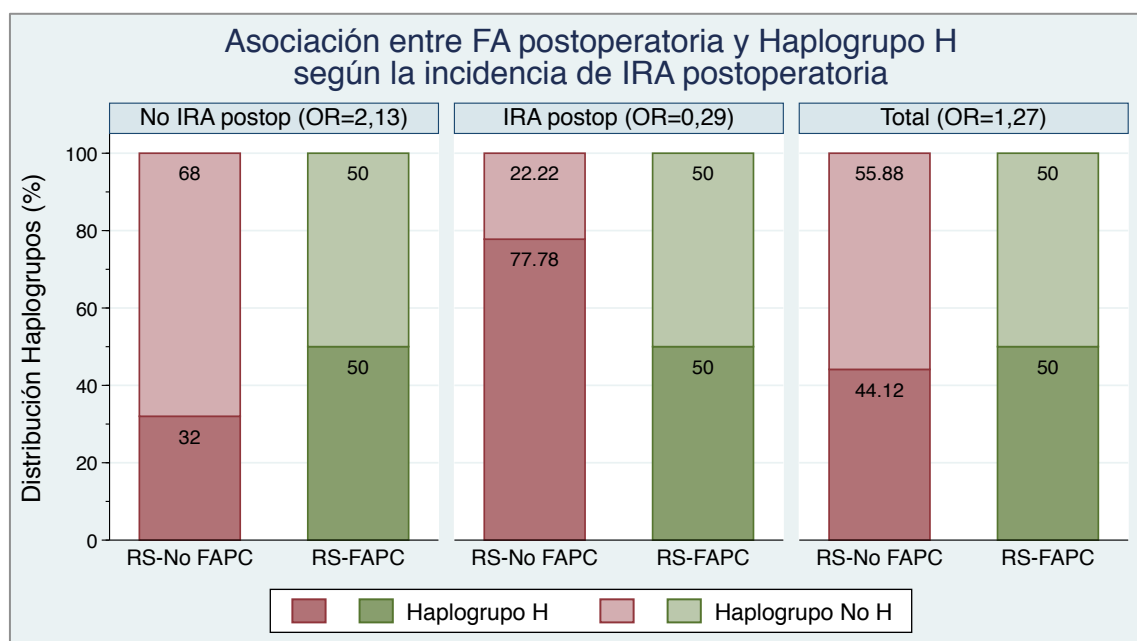


Figura 67. Efecto del Haplogrupo H sobre FAPC según la presencia o no de IRA postoperatoria.



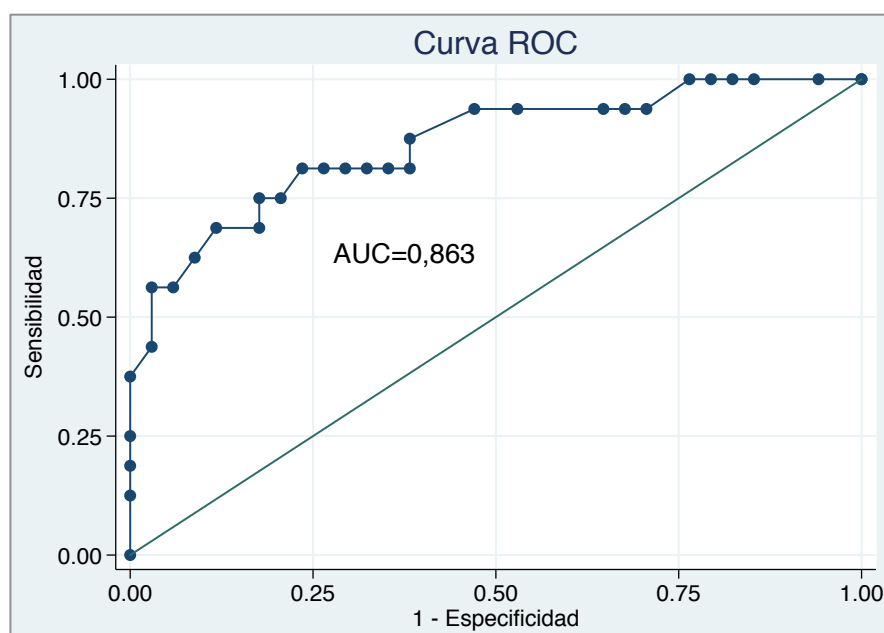
### V.2.h. Modelo de regresión del efecto del Haplogrupo H (fondo genético) y del Contenido de ADNmt (fondo genómico) sobre la incidencia de FAPC:

Los factores de confusión identificados como clínicamente importantes se incluyeron en el análisis mediante regresión logística multivariante. Así, el efecto (OR) ajustado del Haplogrupo H fue de 0,52 (IC 95%: 0,09-3,07) y el del Contenido relativo de ADNmt categorizado fue de 5,50 (IC 95%: 0,90-33,49). (Tabla 16).

**Tabla 16.** Análisis multivariante mediante regresión logística del efecto del Haplogrupo H y del Contenido de ADNmt mayor a la mediana sobre la incidencia de FAPC, ajustado por los factores de confusión.

	Efecto (OR)	IC 95% (exacto)	Valor p
<b>Haplogrupo H</b>	0,52	0,09-3,07	0,467
<b>Contenido relativo ADNmt mayor a la mediana</b>	5,50	0,90-33,49	0,065
<b>Sexo femenino</b>	5,74	0,71-46,21	0,100
<b>Edad <math>\geq 70</math> años</b>	1,70	0,33-8,89	0,530
<b>AI <math>&gt;40</math>mm</b>	14,01	1,62-120,87	<b>0,016</b>
<b>IRA postoperatoria</b>	5,43	0,90-33,49	0,093

Este modelo clasificó correctamente el 82% de los casos, con un valor predictivo positivo de 73,3% y negativo de 85,7%. El AUC de la curva ROC fue de 0,863 (IC 95%: 0,748-0,978). (Figura 68).



**Figura 68.** Curva ROC del modelo ajustado del efecto del Haplogrupo H y Contenido relativo de ADNmt sobre la incidencia de FA postoperatoria.

### V.2.i. Valoración de la relación de los factores mitocondriales, celulares y electrofisiológicos con los factores de confusión identificados:

- Sexo femenino:

i. Contenido relativo ADNmt: Tabla 17. (Figuras 69 y 70).

El Contenido de ADNmt fue significativamente mayor en las mujeres de la muestra total ( $p=0,016$ ). Esta diferencia entre hombres y mujeres permaneció significativa en los pacientes con Haplogrupo No H ( $p=0,048$ ); no obstante, era no significativa en aquellos con Haplogrupo H ( $p=0,165$ ) y en el subanálisis por ritmo cardiaco (Grupo 1:  $p=0,405$ ; Grupo 2:  $p=0,395$  y Grupo 3:  $p=0,172$ ).

ii. Daño oxidativo: Tabla 18. (Figuras 71 y 72).

El Daño oxidativo tendió a ser menor en las mujeres, con diferencia casi significativa en la muestra total ( $p=0,064$ ) y en los individuos con Haplogrupo No H ( $p=0,062$ ). En el análisis estratificado por ritmo cardiaco, el Daño oxidativo fue significativamente menor en las mujeres en el Grupo 1 ( $p=0,034$ ), pero la diferencia no fue significativa en el resto de Grupos (Grupo 2:  $p=0,715$ ; y Grupo 3:  $p=0,142$ ).

iii. Tamaño celular: Tabla 19. (Figuras 73 y 74).

Las mujeres tendían a presentar mayor Tamaño celular en la muestra total ( $p=0,373$ ), en el subanálisis por Haplogrupos (H:  $p=0,223$ , No H:  $p=1,000$ ) y en el Grupo 3 ( $p=0,273$ ), mientras que en los Grupos 1 y 2, los hombres presentaron mayor Tamaño celular (Grupo 1:  $p=0,157$ ; Grupo 2:  $p=0,920$ ), sin diferencias significativas.

iv. Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ): Tabla 20. (Figuras 75 y 76).

Se observó una tendencia no significativa a presentar mayor Corriente de entrada de calcio en las mujeres en la muestra total ( $p=0,444$ ) y en casi todos los subgrupos (No H:  $p=0,502$ ; Grupo 1:  $p=0,814$  y Grupo 2:  $p=0,180$ ). En cambio, los hombres con Haplogrupo H y aquellos del Grupo 3 tenían un  $I_{Ca}$  mayor, aunque no significativa, que los pacientes del sexo femenino (H:  $p=0,851$  y Grupo 3:  $p=0,855$ ).

v. Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ): Tabla 21. (Figuras 77 y 78).

No hubo diferencias significativas en la Liberación espontánea de calcio entre hombres y mujeres en el análisis global ni en el estratificado.

Tabla 17. Comparación del Contenido relativo de ADNmt según el Sexo.

Contenido relativo ADNmt	Sexo		Valor p
	Masculino	Femenino	
<b>Total muestra</b>	1,81 [1,22-2,63]	2,39 [2,03-3,86]	<b>0,016</b>
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,87 [1,18-2,65]	2,12 [1,93-3,86]	0,165
Haplogrupo No H	1,80 [1,24-2,51]	2,48 [2,18-4,03]	<b>0,048</b>
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,64 [1,18-1,98]	2,96 [0,84-5,10]	0,405
2: RS preop sin FAPC	1,81 [1,42-2,65]	2,47 [1,87-2,49]	0,395
3: RS preop con FAPC	1,93 [1,08-2,88]	2,26 [2,05-4,00]	0,172

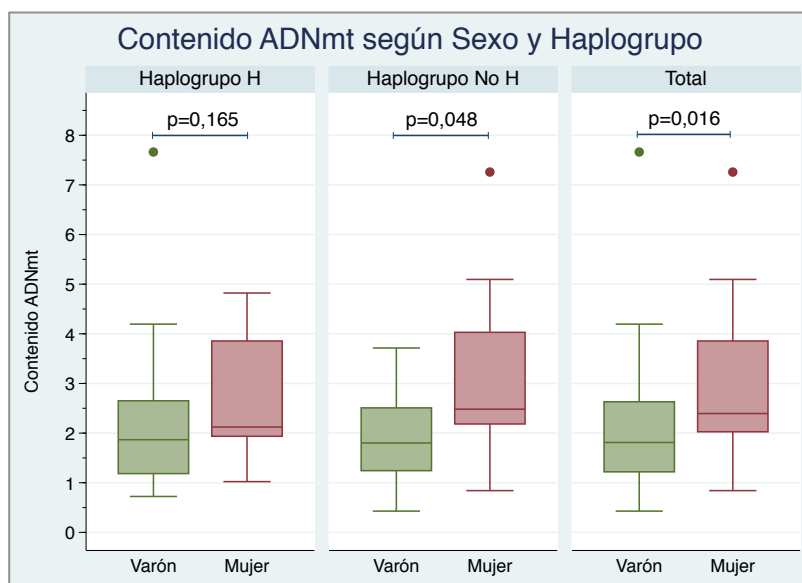


Figura 69. Contenido de ADNmt según el sexo y haplogrupo.

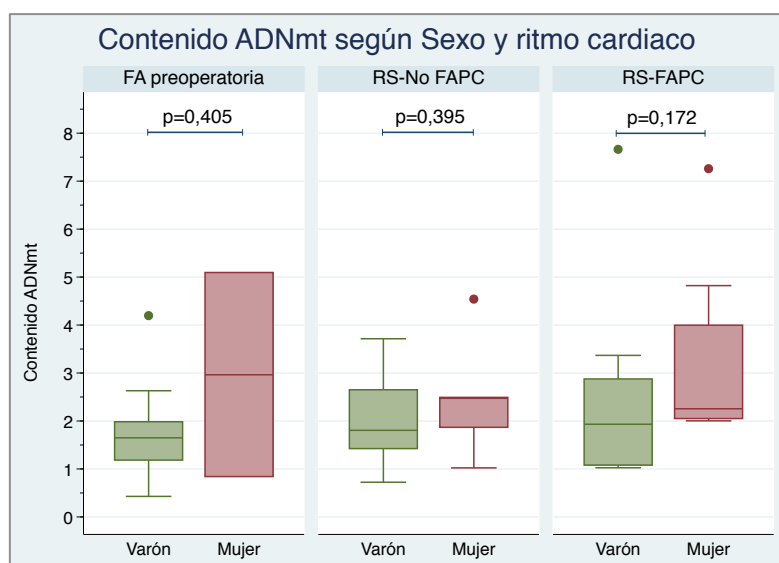
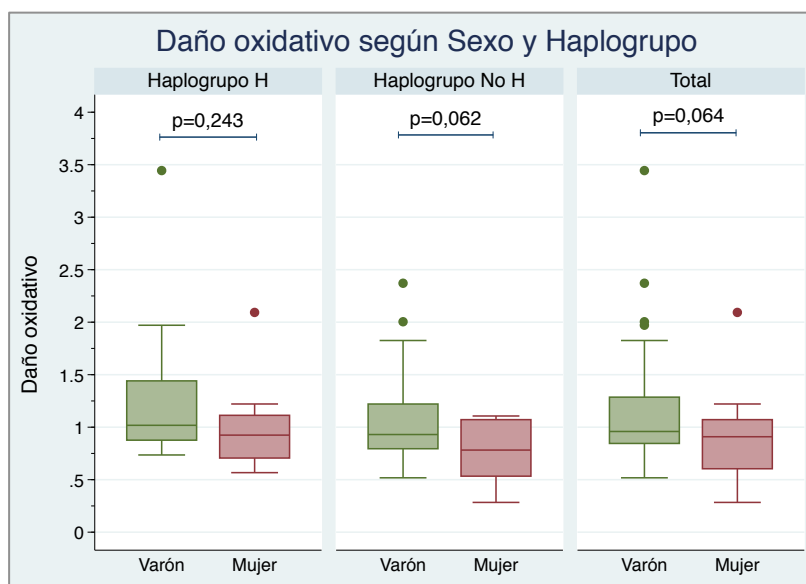
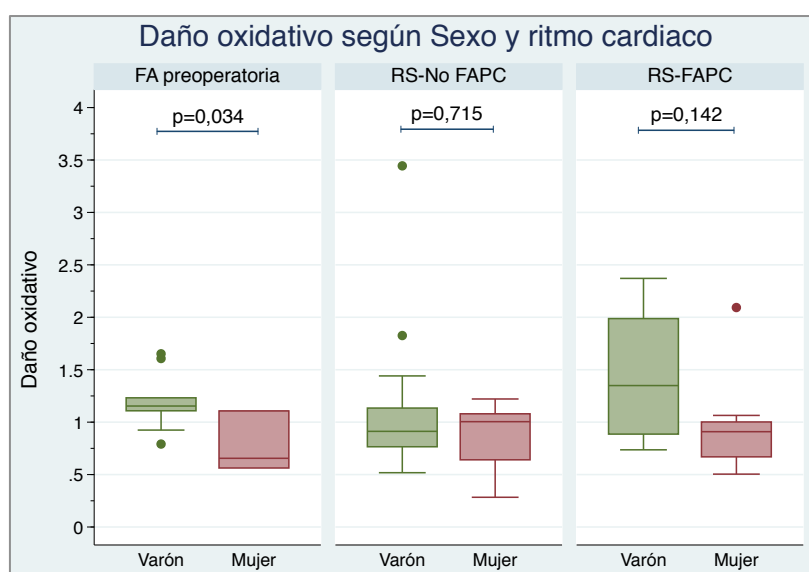


Figura 70. Contenido de ADNmt según el sexo y ritmo cardiaco.

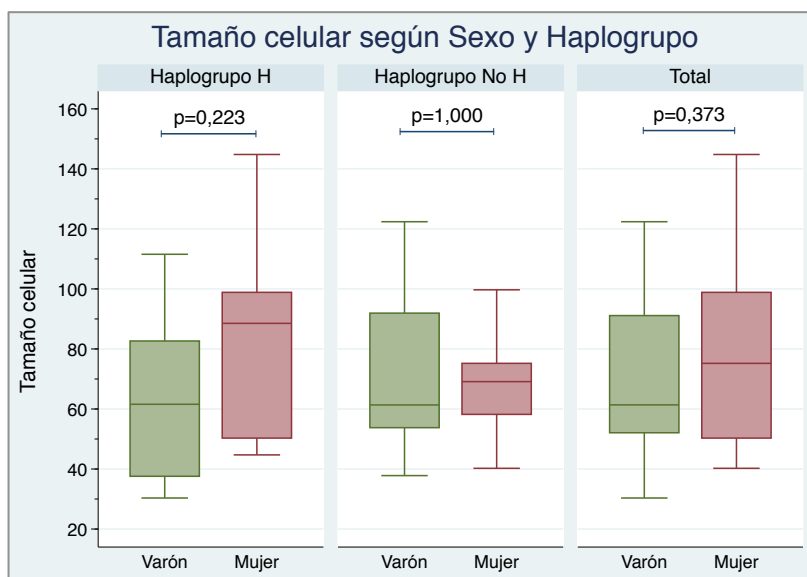
**Tabla 18.** Comparación del Daño oxidativo según el Sexo.

Daño oxidativo	Sexo		Valor <i>p</i>
	Masculino	Femenino	
<b>Total muestra</b>	0,96 [0,85-1,29]	0,91 [0,60-1,07]	0,064
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,02 [0,88-1,44]	0,92 [0,71-1,11]	0,243
Haplogrupo No H	0,93 [0,79-1,22]	0,78 [0,53-1,07]	0,062
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,15 [1,11-1,23]	0,66 [0,56-1,11]	<b>0,034</b>
2: RS preop sin FAPC	0,91 [0,76-1,13]	1,00 [0,64-1,08]	0,715
3: RS preop con FAPC	1,35 [0,89-1,99]	0,91 [0,67-1,00]	0,142

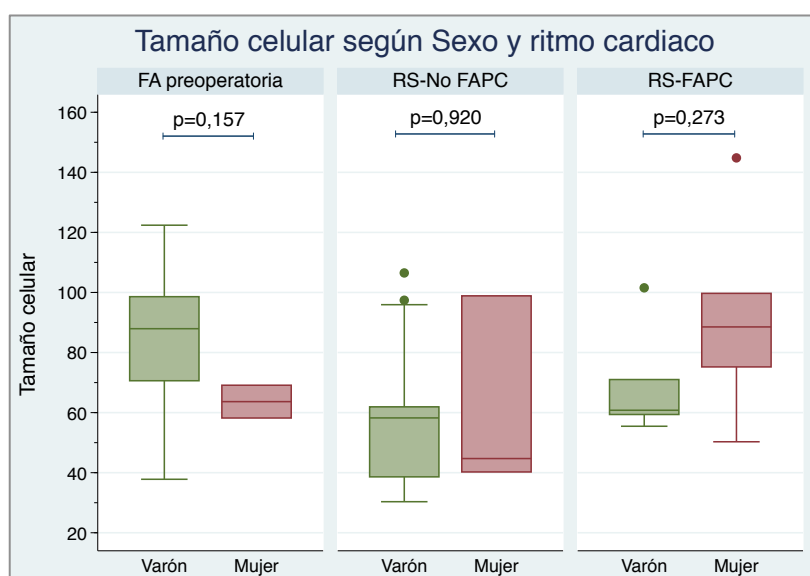
**Figura 71.** Daño oxidativo según el sexo y haplogrupo.**Figura 72.** Daño oxidativo según el sexo y ritmo cardiaco.

**Tabla 19.** Comparación del Tamaño celular según el Sexo.

Tamaño celular ( $\mu\text{m}$ )	Sexo		Valor <i>p</i>
	Masculino	Femenino	
<b>Total muestra</b>	61,37 [52,07-91,12]	75,21 [50,29-98,87]	0,373
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	61,57 [37,57-82,65]	88,53 [50,29-98,87]	0,223
Haplogrupo No H	61,34 [53,77-91,93]	69,11 [58,19-75,21]	1,000
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	87,93 [70,60-98,60]	63,65 [58,19-69,11]	0,157
2: RS preop sin FAPC	58,24 [38,60-61,91]	44,70 [40,22-98,87]	0,920
3: RS preop con FAPC	60,79 [59,36-71,00]	88,53 [75,21-99,71]	0,273



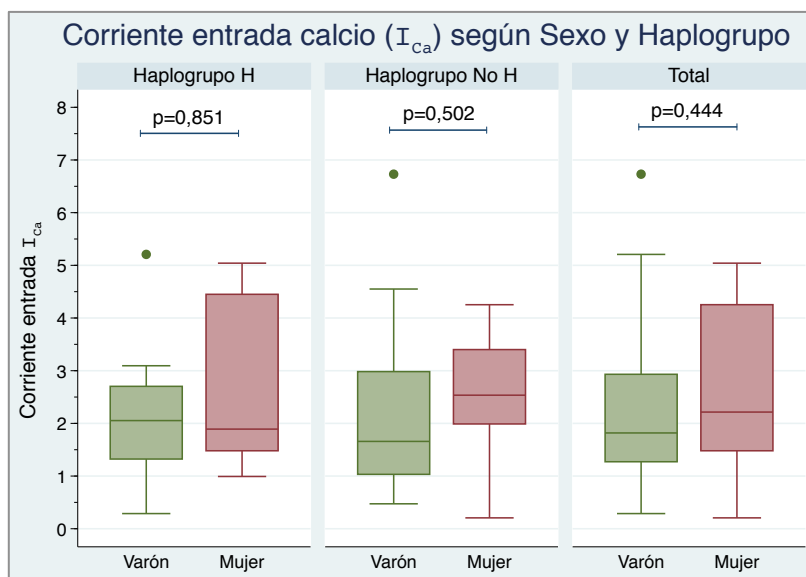
**Figura 73.** Tamaño celular según el sexo y haplogrupo.



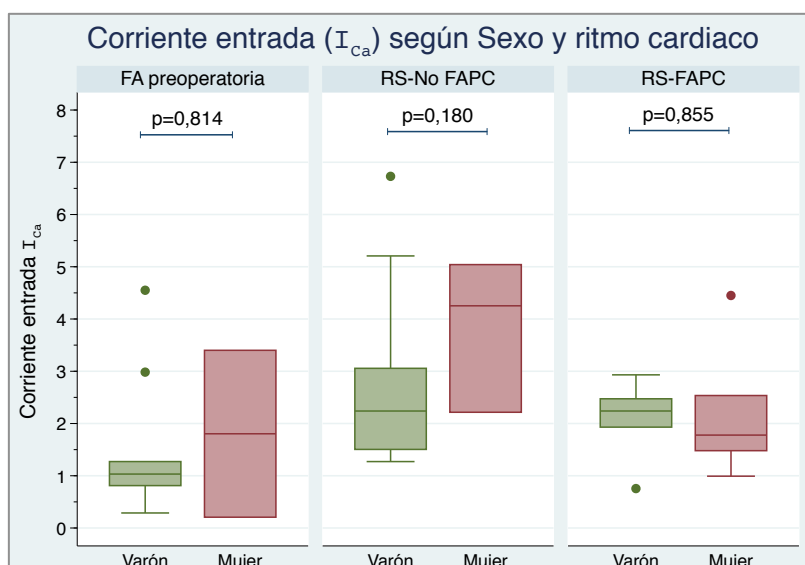
**Figura 74.** Tamaño celular según el sexo y ritmo cardiaco.

**Tabla 20.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según el Sexo.

Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ) (pA/pF)	Sexo		Valor <i>p</i>
	Masculino	Femenino	
<b>Total muestra</b>	1,82 [1,27-2,93]	2,21 [1,48-4,19]	0,444
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	2,05 [1,32-2,70]	1,89 [1,48-4,45]	0,851
Haplogrupo No H	1,66 [1,03-2,98]	2,54 [1,99-3,40]	0,502
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,03 [0,81-1,27]	1,80 [0,21-3,40]	0,814
2: RS preop sin FAPC	2,24 [1,50-3,06]	4,25 [2,21-5,04]	0,180
3: RS preop con FAPC	2,24 [1,92-2,47]	1,78 [1,48-2,54]	0,855



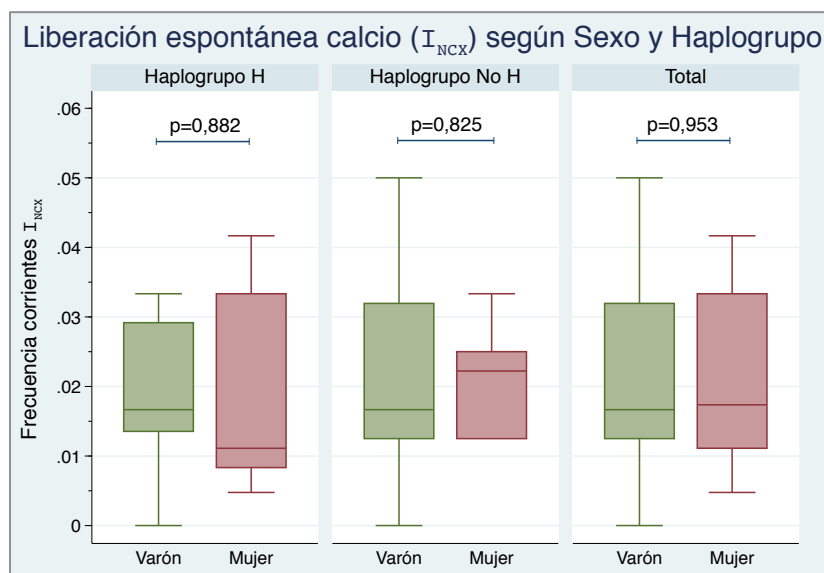
**Figura 75.** Corriente de entrada de calcio según el sexo y haplogrupo.



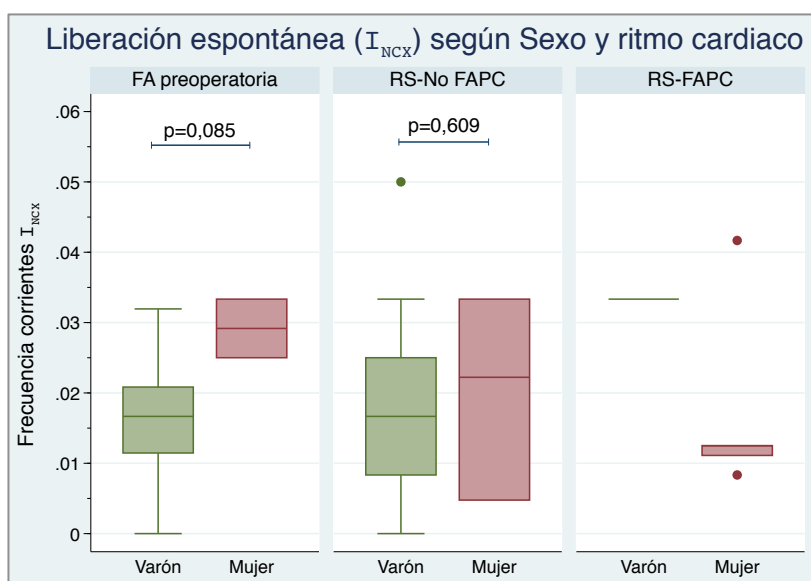
**Figura 76.** Corriente de entrada de calcio según el sexo y ritmo cardiaco.

**Tabla 21.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según el Sexo.

Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ )	Sexo		Valor <i>p</i>
	Masculino	Femenino	
<b>Total muestra</b>	0,017 [0,013-0,032]	0,017 [0,011-0,033]	0,953
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,017 [0,014-0,029]	0,011 [0,008-0,033]	0,882
Haplogrupo No H	0,017 [0,013-0,032]	0,022 [0,013-0,025]	0,825
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,017 [0,011-0,021]	0,029 [0,025-0,033]	0,085
2: RS preop sin FAPC	0,017 [0,008-0,025]	0,022 [0,005-0,033]	0,609
3: RS preop con FAPC	0,033 [0,033-0,033]	0,013 [0,011-0,033]	---



**Figura 77.** Liberación espontánea de calcio según el sexo y haplogrupo.



**Figura 78.** Liberación espontánea de calcio según el sexo y ritmo cardiaco.

- Edad avanzada ( $\geq 70$  años):

i. Contenido relativo ADNmt: Tabla 22. (Figuras 79 y 80).

El Contenido relativo de ADNmt fue mayor, aunque sin diferencia significativa, en los pacientes con edad mayor o igual a 70 años en la muestra total ( $p=0,293$ ), y en el análisis estratificado por haplogrupos y por ritmo cardiaco.

ii. Daño oxidativo: Tabla 23. (Figuras 81 y 82).

El Daño oxidativo era muy similar al comparar los pacientes con edad avanzada con los menores de 70 años tanto en la muestra total, como en los subanálisis. Sólo en las muestras del Grupo 1 (FA preoperatoria), el daño oxidativo tendió a ser menor en los pacientes con edad avanzada ( $p=0,062$ ).

iii. Tamaño celular: Tabla 24. (Figuras 83 y 84).

No se observaron diferencias significativas en el Tamaño celular cuando se compararon los pacientes con edad avanzada con los pacientes sin edad avanzada, tanto en la muestra total, como en el subanálisis por Haplogrupos y ritmo cardiaco.

iv. Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ): Tabla 25. (Figuras 85 y 86).

Se observó una tendencia no significativa a presentar mayor  $I_{CaL}$  en los pacientes de edad avanzada en la muestra total ( $p=0,475$ ). La  $I_{CaL}$  fue casi significativamente mayor en los pacientes  $\geq 70$  años con Haplogrupo H ( $p=0,051$ ). Sin embargo, en las muestras con Haplogrupo No H, la  $I_{CaL}$  tendía a ser menor en aquellos de edad avanzada, siendo la diferencia no significativa ( $p=0,637$ ). Por otro lado, la  $I_{CaL}$  tendía a ser mayor en los pacientes menores de 70 años con ritmo sinusal preoperatorio (Grupos 2 y 3), aunque las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas ( $p=0,773$  y  $p=0,186$ , respectivamente).

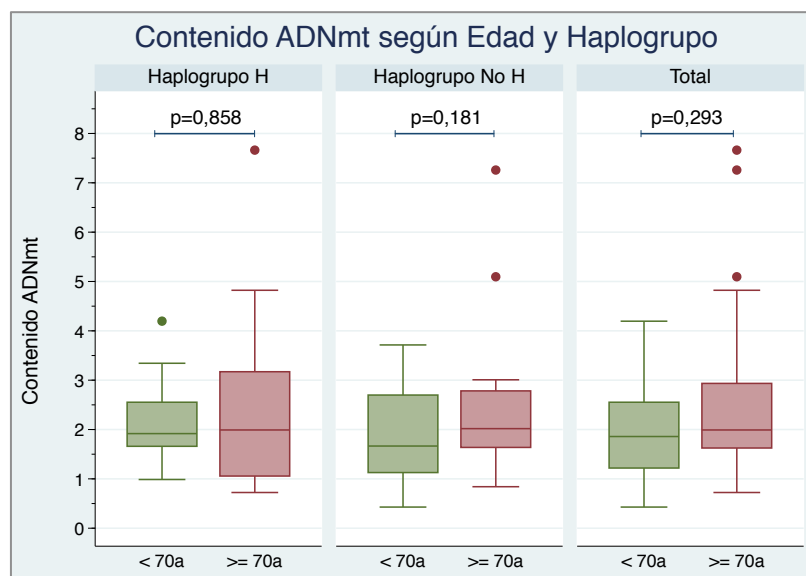
v. Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ): Tabla 26. (Figuras 87 y 88).

La Liberación espontánea de calcio fue discretamente mayor en los pacientes menores de 70 años en el análisis global y por haplogrupos y significativamente mayor en el Grupo 3 (FAPC;  $p=0,043$ ). No obstante, en el Grupo 1 (FA preoperatoria), la  $I_{NCX}$  fue ligeramente mayor en los pacientes  $\geq 70$  años ( $p=0,279$ ).

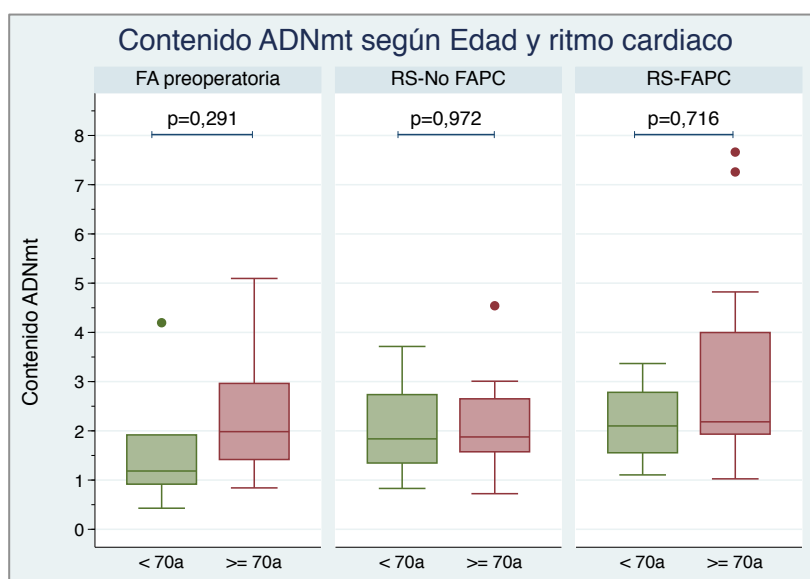


**Tabla 22.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según el grupo de Edad.

Contenido relativo ADNmt	Edad		Valor <i>p</i>
	< 70 años	≥ 70 años	
<b>Total muestra</b>	1,86 [1,22-2,55]	1,99 [1,62-2,93]	0,293
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,92 [1,66-2,55]	1,99 [1,06-3,17]	0,858
Haplogrupo No H	1,67 [1,13-2,70]	2,02 [1,64-2,78]	0,181
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,18 [0,92-1,92]	1,98 [1,42-2,96]	0,291
2: RS preop sin FAPC	1,84 [1,35-2,74]	1,88 [1,57-2,65]	0,972
3: RS preop con FAPC	2,10 [1,55-2,78]	2,18 [1,93-4,00]	0,716



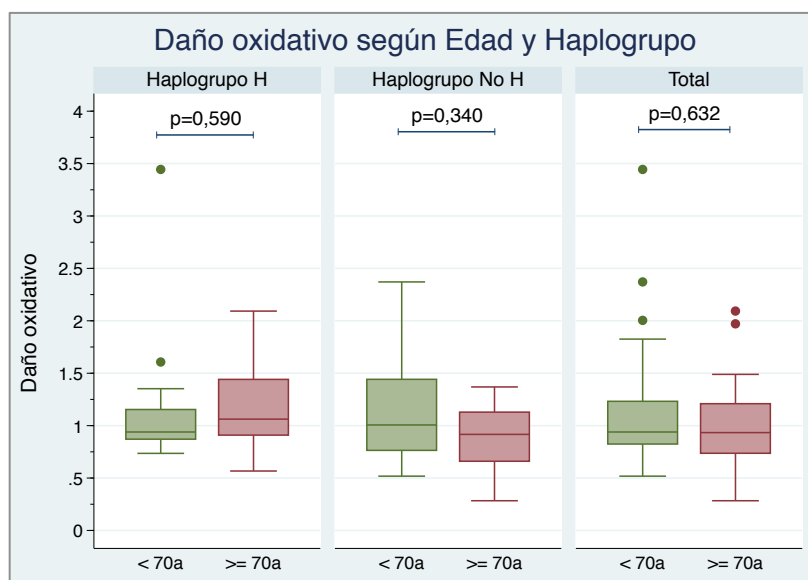
**Figura 79.** Contenido de ADNmt según la edad y haplogrupo.



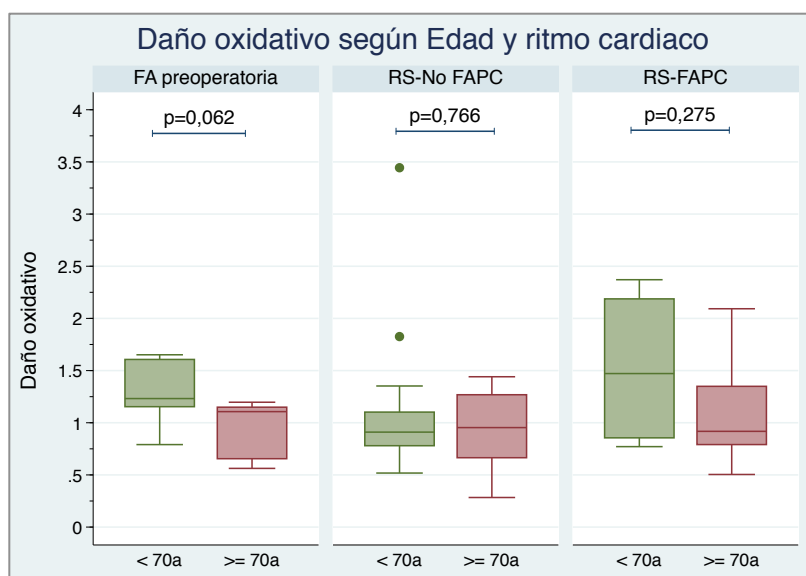
**Figura 80.** Contenido de ADNmt según la edad y ritmo cardiaco.

**Tabla 23.** Comparación del Daño oxidativo según el grupo de Edad.

Daño oxidativo	Edad		Valor <i>p</i>
	< 70 años	≥ 70 años	
<b>Total muestra</b>	0,94 [0,82-1,23]	0,93 [0,74-1,21]	0,632
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,94 [0,87-1,15]	1,06 [0,91-1,44]	0,590
Haplogrupo No H	1,01 [0,76-1,44]	0,92 [0,66-1,13]	0,340
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,23 [1,15-1,61]	1,11 [0,66-1,15]	0,062
2: RS preop sin FAPC	0,91 [0,78-1,10]	0,95 [0,66-1,27]	0,766
3: RS preop con FAPC	1,47 [0,86-2,19]	0,92 [0,79-1,34]	0,275



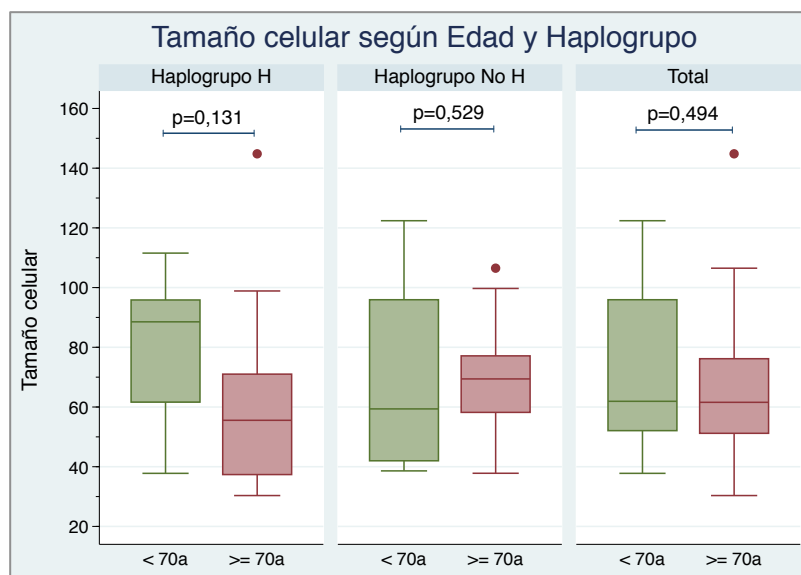
**Figura 81.** Daño oxidativo según la edad y haplogrupo.



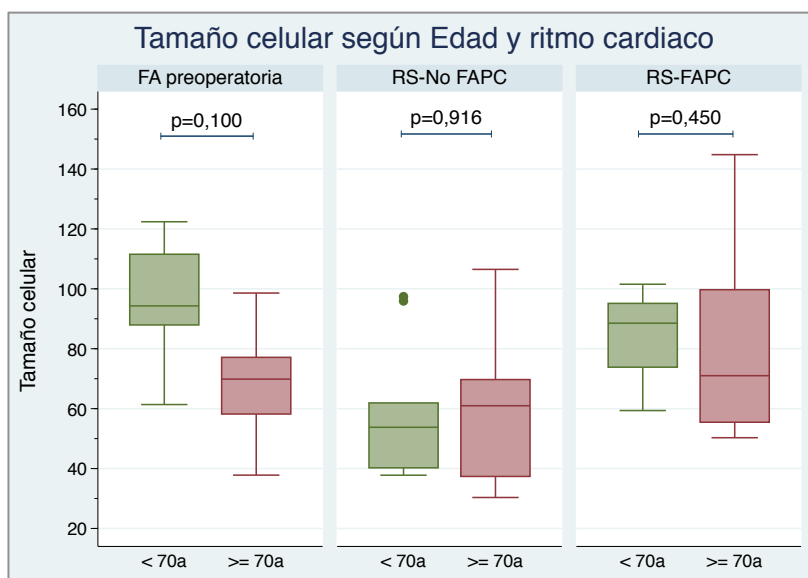
**Figura 82.** Daño oxidativo según la edad y ritmo cardiaco.

**Tabla 24.** Comparación del Tamaño celular según el grupo de Edad.

Tamaño celular (µm)	Edad		Valor p
	< 70 años	≥ 70 años	
<b>Total muestra</b>	61,91 [52,07-95,93]	61,57 [51,18-76,17]	0,494
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	88,53 [61,64-95,85]	55,54 [37,36-71,00]	0,131
Haplogrupo No H	59,36 [41,98-95,93]	69,40 [58,19-77,13]	0,529
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	94,30 [87,93-111,55]	69,86 [58,19-77,13]	0,100
2: RS preop sin FAPC	53,79 [40,23-61,91]	60,97 [37,36-69,71]	0,916
3: RS preop con FAPC	88,53 [73,84-95,14]	71,00 [55,46-99,71]	0,450



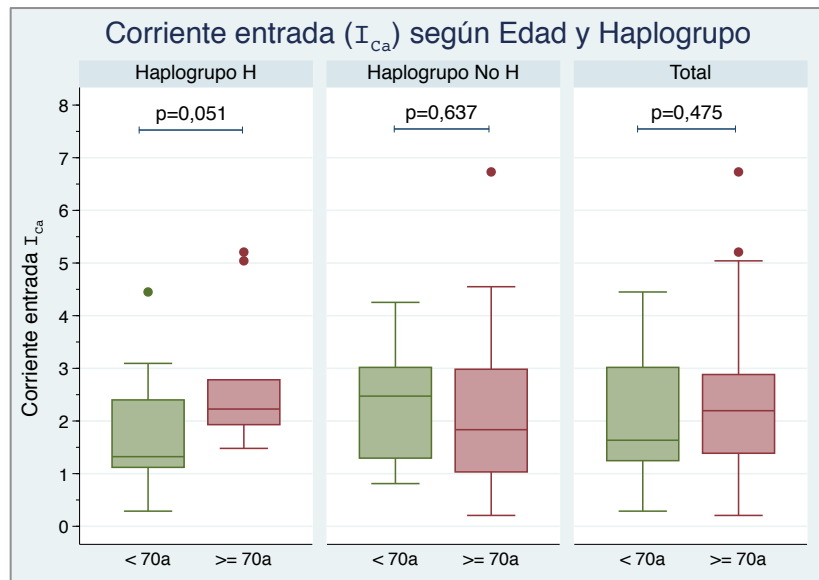
**Figura 83.** Tamaño celular según la edad y haplogrupo.



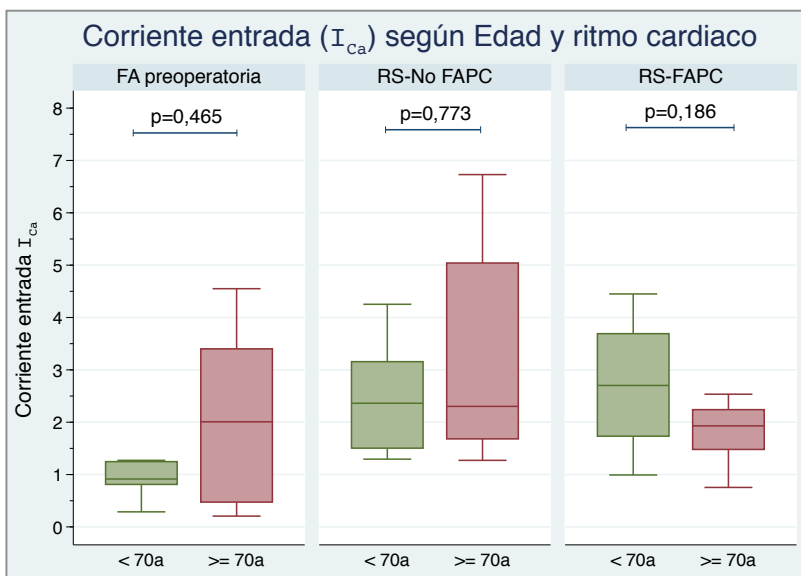
**Figura 84.** Tamaño celular según la edad y ritmo cardiaco.

**Tabla 25.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según el grupo de Edad.

Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ) (pA/pF)	Edad		Valor <i>p</i>
	< 70 años	≥ 70 años	
<b>Total muestra</b>	1,63 [1,25-3,02]	2,20 [1,39-2,88]	0,475
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,32 [1,12-2,40]	2,23 [1,93-2,78]	<b>0,051</b>
Haplogrupo No H	2,47 [1,29-3,02]	1,83 [1,03-2,98]	0,637
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,92 [0,81-1,25]	2,01 [0,47-3,40]	0,465
2: RS preop sin FAPC	2,36 [1,50-3,16]	2,30 [1,68-5,04]	0,773
3: RS preop con FAPC	2,70 [1,73-3,69]	1,93 [1,48-2,24]	0,186



**Figura 85.** Corriente de entrada de calcio según la edad y haplogrupo.



**Figura 86.** Corriente de entrada de calcio según la edad y ritmo cardiaco.

Tabla 26. Comparación de la Liberación espontánea de calcio según el grupo de Edad.

Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ )	Edad		Valor <i>p</i>
	< 70 años	≥ 70 años	
<b>Total muestra</b>	0,019 [0,013-0,033]	0,017 [0,011-0,025]	0,303
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,017 [0,017-0,033]	0,014 [0,007-0,029]	0,300
Haplogrupo No H	0,022 [0,013-0,033]	0,017 [0,013-0,025]	0,539
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,014 [0,005-0,024]	0,029 [0,017-0,025]	0,279
2: RS preop sin FAPC	0,017 [0,013-0,033]	0,017 [0,004-0,025]	0,558
3: RS preop con FAPC	0,033 [0,033-0,042]	0,013 [0,011-0,013]	<b>0,046</b>

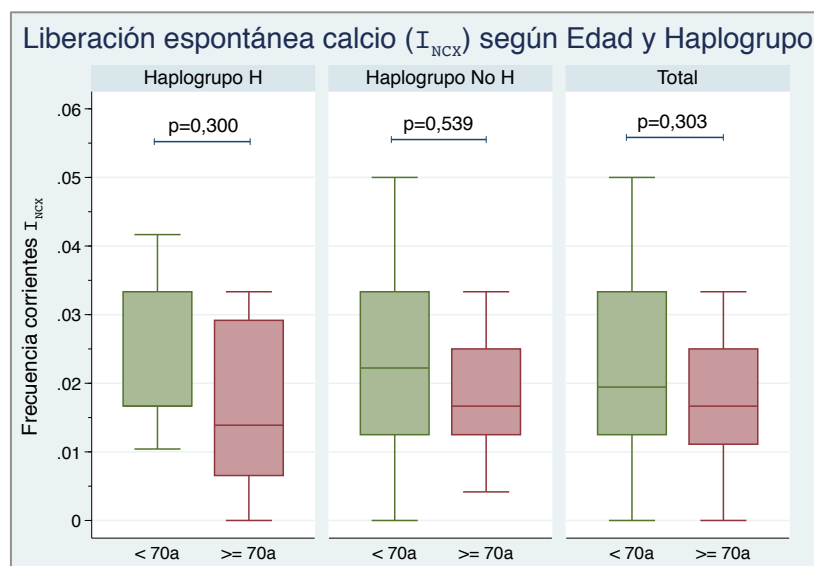


Figura 87. Liberación espontánea de calcio según la edad y haplogrupo.

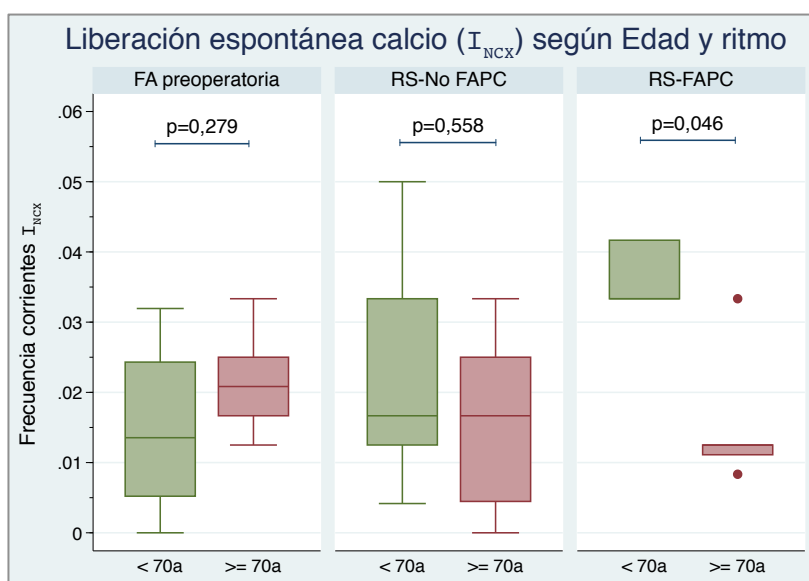


Figura 88. Liberación espontáneas de calcio según la edad y ritmo cardiaco.

- Aurícula izquierda dilatada (>40 mm):

i. Contenido relativo ADNmt: Tabla 27. (Figuras 89 y 90).

El Contenido relativo de ADNmt tendía a ser mayor en los pacientes con aurícula izquierda no dilatada, siendo casi significativo en el Grupo 3 (FAPC;  $p=0,057$ ).

ii. Daño oxidativo: Tabla 28. (Figuras 91 y 92).

El Daño Oxidativo tendía a ser mayor en los pacientes con aurícula izquierda no dilatada, sin encontrar diferencias significativas en el análisis global ( $p=0,702$ ) y subanálisis por haplogrupos y ritmo cardiaco.

iii. Tamaño celular: Tabla 29. (Figuras 93 y 94).

Los pacientes con AI dilatada presentaron una tendencia a mayor tamaño del miocardiocito auricular, pero con gran variabilidad interindividual en ambos grupos (AI no dilatada: 61,57 [41,98-77,13]  $\mu\text{m}$ ; y AI dilatada: 69,71 [55,50-98,60]  $\mu\text{m}$ ), por lo que las diferencias halladas no fueron significativas.

iv. Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ): Tabla 30. (Figuras 95 y 96).

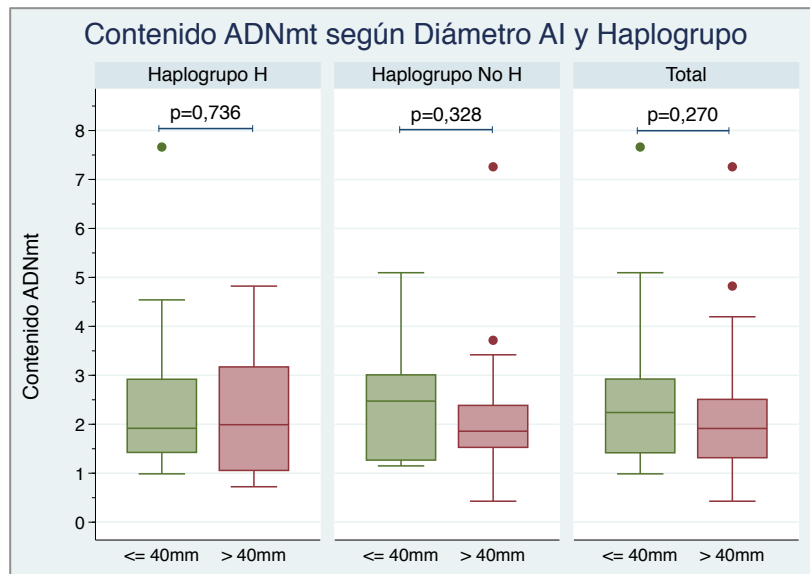
La  $I_{CaL}$  tendió a ser mayor en los pacientes sin dilatación auricular, siendo la diferencia casi significativa únicamente en los pacientes con Haplogrupo No H ( $p=0,057$ ).

v. Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ): Tabla 31. (Figuras 97 y 98).

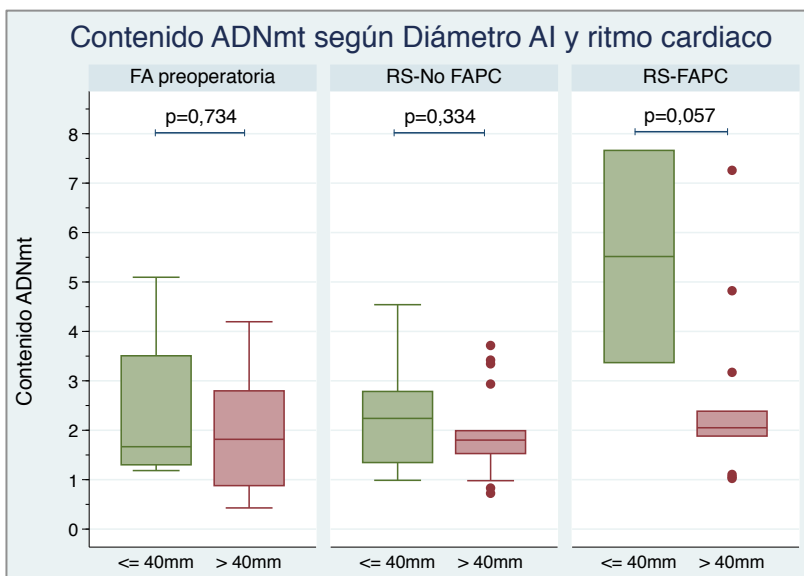
No se hallaron diferencias significativas en la  $I_{NCX}$  al comparar los pacientes con y sin AI dilatada, tanto en la muestra global como en el subanálisis por haplogrupos y por ritmo cardiaco.

**Tabla 27.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según la dilatación de AI.

Contenido relativo ADNmt	Diámetro aurícula izquierda		Valor <i>p</i>
	≤ 40 mm	> 40 mm	
<b>Total muestra</b>	2,24 [1,42-2,92]	1,91 [1,32-2,51]	0,270
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,92 [1,42-2,92]	1,99 [1,06-3,17]	0,736
Haplogrupo No H	2,47 [1,27-3,01]	1,86 [1,53-2,39]	0,328
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,67 [0,30-3,51]	1,82 [0,88-2,80]	0,734
2: RS preop sin FAPC	2,24 [1,35-2,78]	1,80 [1,53-1,99]	0,334
3: RS preop con FAPC	5,51 [3,37-7,66]	2,05 [1,88-2,39]	<b>0,057</b>



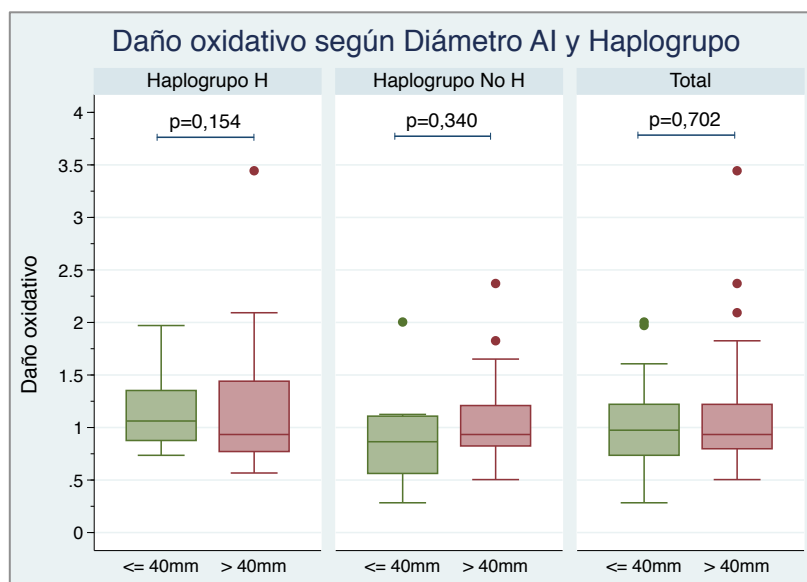
**Figura 89.** Contenido de ADNmt según la dilatación AI y haplogrupo.



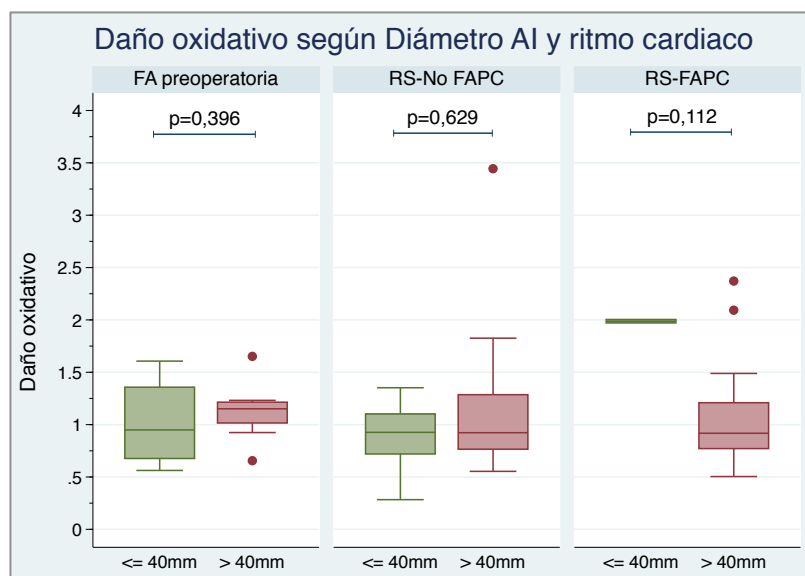
**Figura 90.** Contenido de ADNmt según la dilatación AI y ritmo cardiaco.

**Tabla 28.** Comparación del Daño oxidativo según la dilatación de AI.

Daño oxidativo	Diámetro aurícula izquierda		Valor <i>p</i>
	≤ 40 mm	> 40 mm	
<b>Total muestra</b>	0,97 [0,74-1,22]	0,93 [0,80-1,22]	0,702
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,06 [0,88-1,35]	0,93 [0,77-1,44]	0,154
Haplogrupo No H	0,86 [0,56-1,11]	0,93 [0,82-1,21]	0,340
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,95 [0,68-1,36]	1,15 [1,02-1,21]	0,396
2: RS preop sin FAPC	0,93 [0,72-1,10]	0,92 [0,76-1,29]	0,629
3: RS preop con FAPC	1,99 [1,97-2,00]	0,92 [0,77-1,21]	0,112



**Figura 91.** Daño oxidativo según la dilatación AI y haplogrupo.

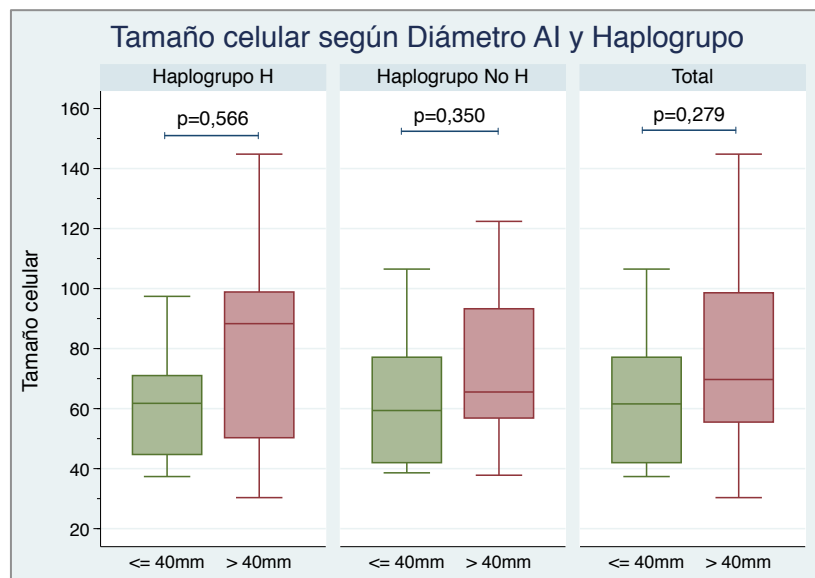


**Figura 92.** Daño oxidativo según la dilatación AI y ritmo cardiaco.

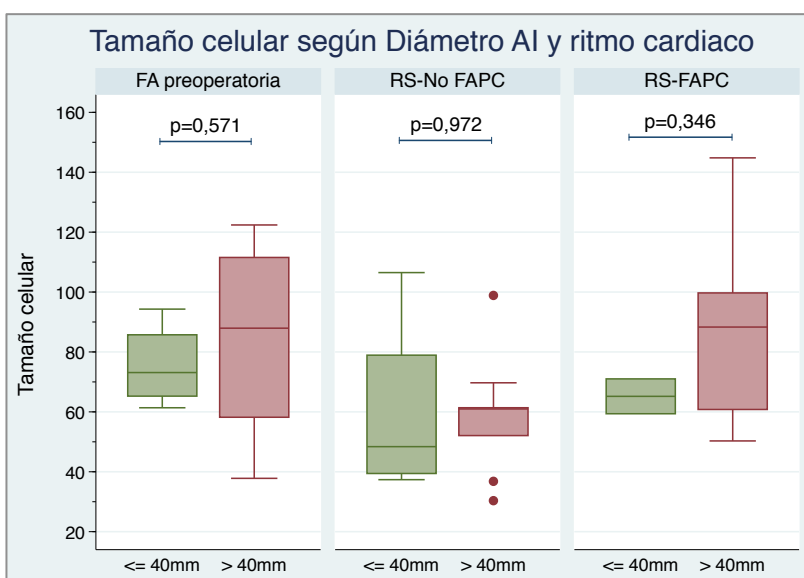


**Tabla 29.** Comparación del Tamaño celular según la dilatación de AI.

Tamaño celular (µm)	Diámetro aurícula izquierda		Valor p
	≤ 40 mm	> 40 mm	
<b>Total muestra</b>	61,57 [41,98-77,13]	69,71 [55,50-98,60]	0,279
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	61,76 [44,70-71,00]	88,31 [50,29-98,87]	0,566
Haplogrupo No H	59,36 [41,98-77,13]	65,54 [56,85-93,27]	0,350
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	73,12 [65,24-85,71]	87,93 [58,19-111,55]	0,571
2: RS preop sin FAPC	48,39 [39,42-78,92]	60,97 [52,07-61,37]	0,972
3: RS preop con FAPC	65,18 [59,36-71,00]	88,31 [60,79-99,71]	0,346



**Figura 93.** Tamaño celular según la dilatación AI y haplogrupo.

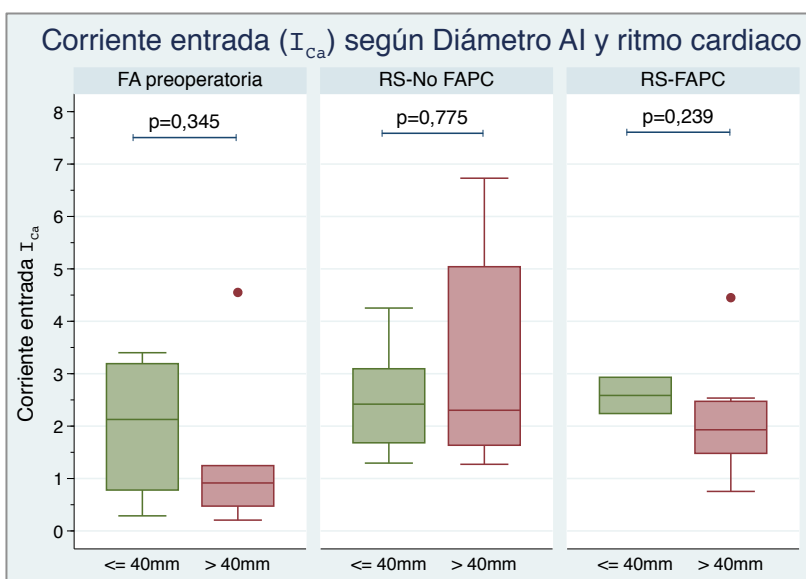
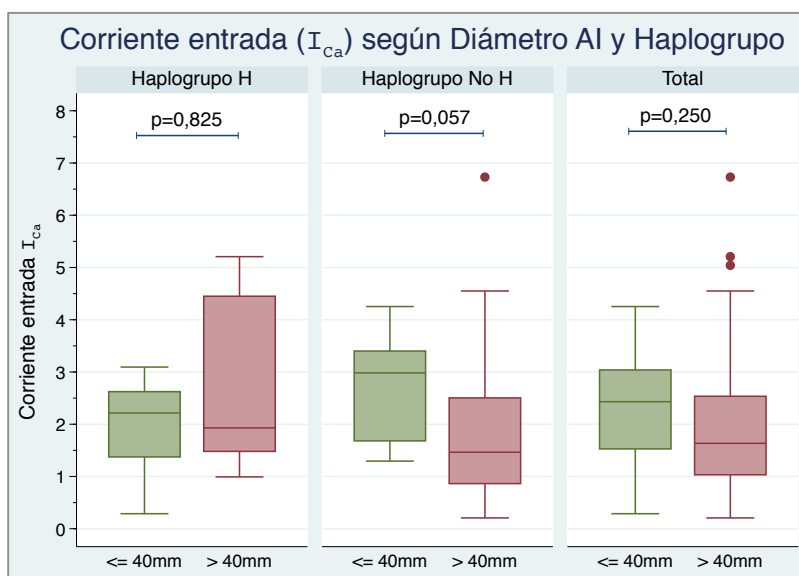


**Figura 94.** Tamaño celular según la dilatación AI y ritmo cardiaco.

**Tabla 30.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según la dilatación de AI.

Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ) (pA/pF)	Diámetro aurícula izquierda		Valor <i>p</i>
	≤ 40 mm	> 40 mm	
<b>Total muestra</b>	2,43 [1,53-3,04]	1,63 [1,03-2,54]	0,250
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	2,21 [1,37-2,62]	1,93 [1,48-4,45]	0,825
Haplogrupo No H	2,98 [1,68-3,40]	1,46 [0,86-2,50]	<b>0,057</b>
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	2,13 [0,78-3,19]	0,92 [0,47-1,25]	0,345
2: RS preop sin FAPC	2,42 [1,68-3,09]	2,30 [1,63-5,04]	0,775
3: RS preop con FAPC	2,59 [2,24-2,93]	1,93 [1,48-2,47]	0,239

**Figura 95.** Corriente de entrada de calcio según la dilatación AI y haplogrupo.

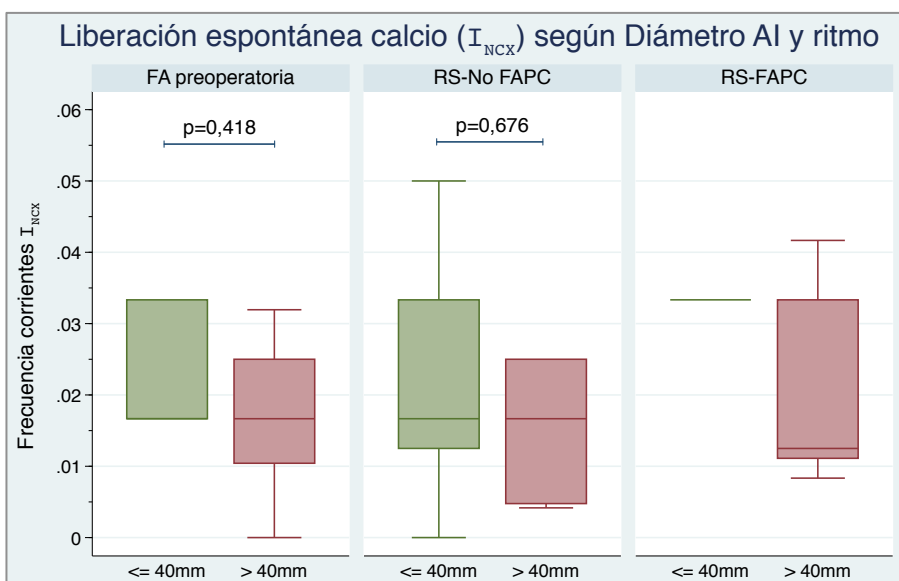
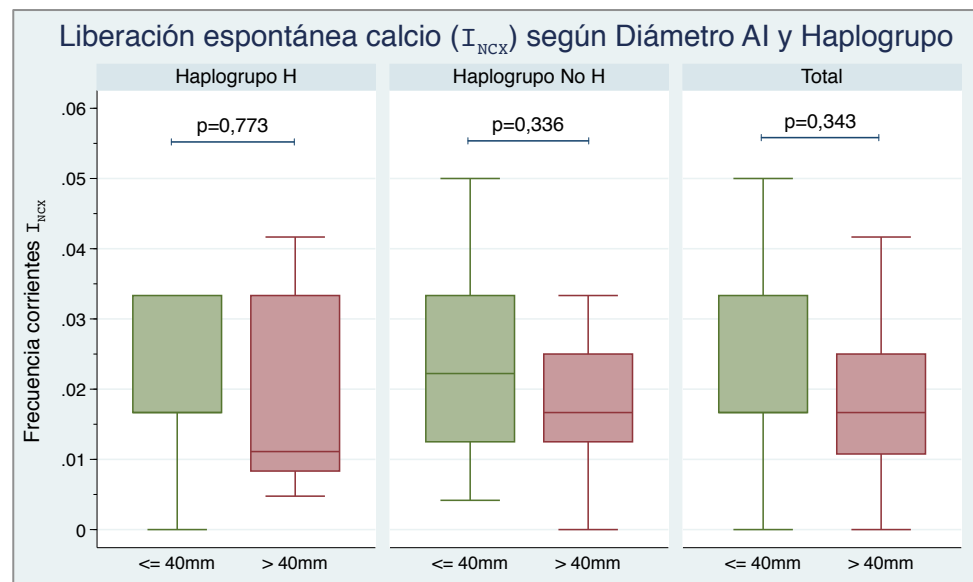


**Figura 96.** Corriente de entrada de calcio según la dilatación AI y ritmo cardiaco.

**Tabla 31.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según la dilatación de AI.

Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ )	Diámetro aurícula izquierda		Valor <i>p</i>
	≤ 40 mm	> 40 mm	
<b>Total muestra</b>	0,017 [0,017-0,033]	0,017 [0,011-0,025]	0,343
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,017 [0,017-0,033]	0,011 [0,008-0,033]	0,773
Haplogrupo No H	0,017 [0,013-0,033]	0,017 [0,013-0,025]	0,336
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,017 [0,017-0,033]	0,017 [0,010-0,025]	0,418
2: RS preop sin FAPC	0,017 [0,013-0,033]	0,017 [0,005-0,025]	0,676
3: RS preop con FAPC	0,033 [0,033-0,033]	0,013 [0,011-0,033]	---

**Figura 97.** Liberación espontánea de calcio según la dilatación AI y haplogrupo.



**Figura 98.** Liberación espontánea de calcio según la dilatación AI y ritmo cardiaco.

- Insuficiencia renal aguda postoperatoria:

i. Contenido relativo ADNmt: Tabla 32. (Figuras 99 y 100).

Los pacientes que no presentaron IRA postoperatoria tendieron a mostrar un mayor Contenido relativo de ADNmt que aquellos con fallo renal agudo tras la cirugía. Esta diferencia fue casi significativa en los pacientes con Haplogrupo No H ( $p=0,065$ ) y significativa en aquellos con FA preoperatoria ( $p=0,042$ ).

ii. Daño oxidativo: Tabla 33. (Figuras 101 y 102).

El Daño oxidativo tendió a ser mayor en los pacientes que presentaron IRA postoperatoria, siendo la diferencia significativa en la muestra global ( $p=0,049$ ), pero no significativa en los subanálisis por haplogrupos y por ritmo cardiaco.

iii. Tamaño celular: Tabla 34. (Figuras 103 y 104).

Las muestras de los pacientes con IRA postoperatoria tendieron a presentar mayor tamaño celular en el análisis global ( $p=0,503$ ). Sin embargo, esta diferencia se modificó según el subgrupo analizado. En el grupo con Haplogrupo H, en los pacientes del Grupo 1 (FA preoperatoria) y del Grupo 2 (RS preoperatorio sin FAPC) el miocardiocito tendía a ser mayor en los pacientes que no presentaron IRA postoperatoria, aunque sin diferencias significativas. Por el contrario, en los pacientes con Haplogrupo No H y aquellos con FAPC (Grupo 3) seguían la misma tendencia que la muestra global ( $p=0,020$  y  $p=0,100$ , respectivamente).

iv. Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ): Tabla 35. (Figuras 105 y 106).

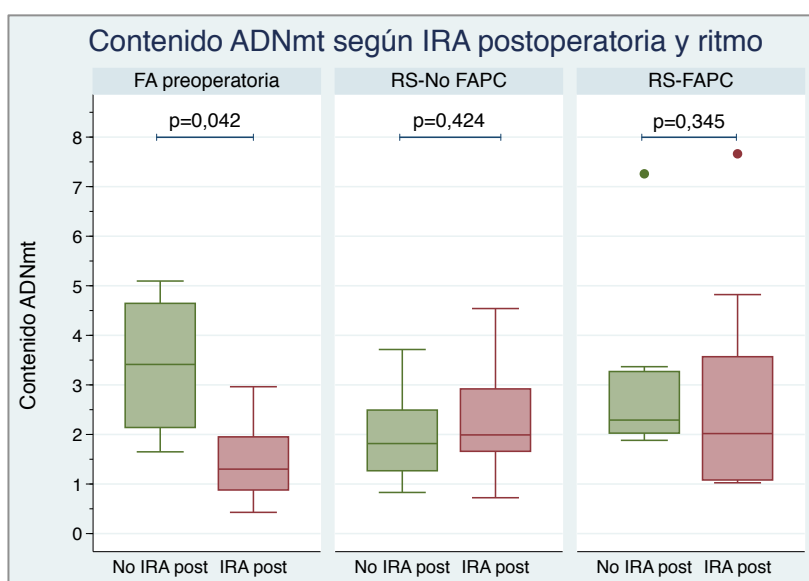
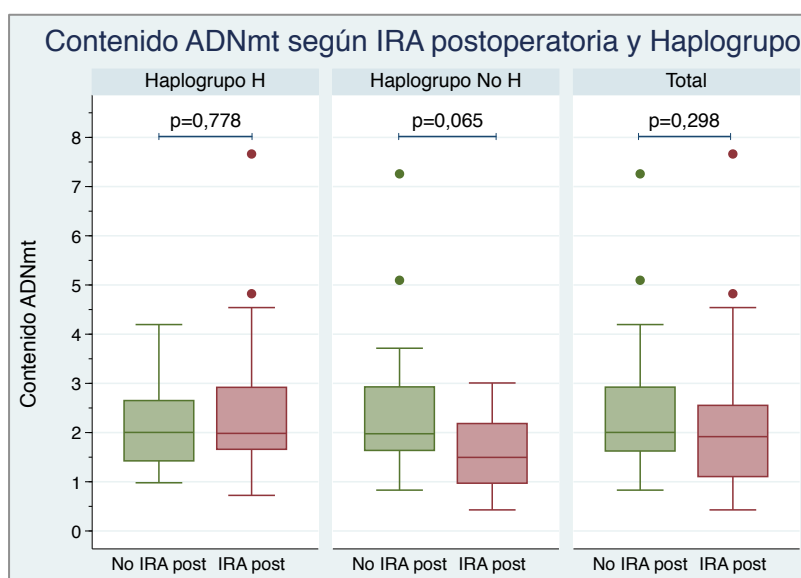
La  $I_{CaL}$  tendió a ser ligeramente mayor en los pacientes con IRA postoperatoria. No obstante, la diferencia no fue estadísticamente significativa en el análisis global o en los subanálisis.

v. Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ): Tabla 36. (Figuras 107 y 108).

No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de  $I_{NCX}$  al comparar presencia o no de IRA postoperatoria, aunque tendía a ser mayor en el grupo que sí presentaba la complicación postoperatoria.

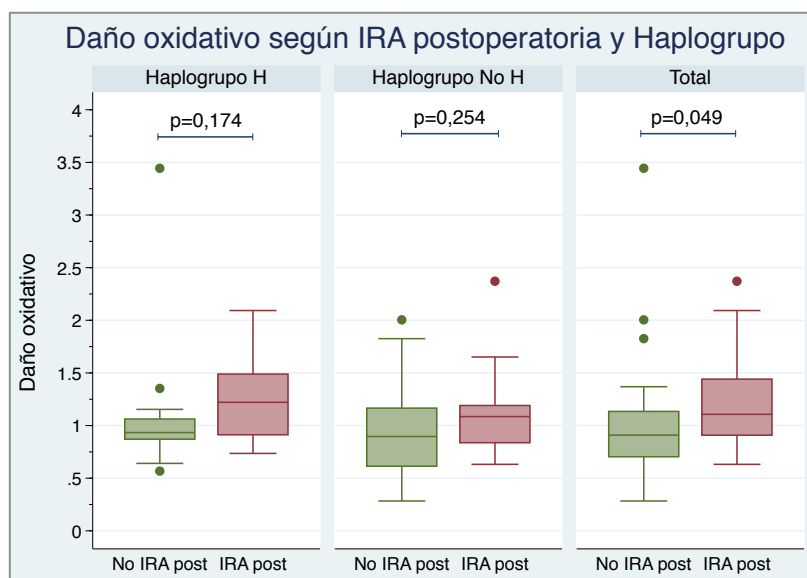
**Tabla 32.** Comparación del Contenido relativo de ADNmt según IRA postoperatoria.

Contenido relativo ADNmt	IRA postoperatoria		Valor <i>p</i>
	No	Sí	
<b>Total muestra</b>	2,00 [1,62-2,92]	1,92 [1,11-2,55]	0,298
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	2,00 [1,42-2,65]	1,98 [1,66-2,92]	0,778
Haplogrupo No H	1,98 [1,64-2,93]	1,50 [0,97-2,18]	0,065
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	3,41 [2,14-4,56]	1,30 [0,88-1,95]	<b>0,042</b>
2: RS preop sin FAPC	2,82 [1,27-2,78]	1,99 [1,66-2,92]	0,424
3: RS preop con FAPC	2,29 [2,03-3,27]	2,02 [1,08-3,57]	0,345

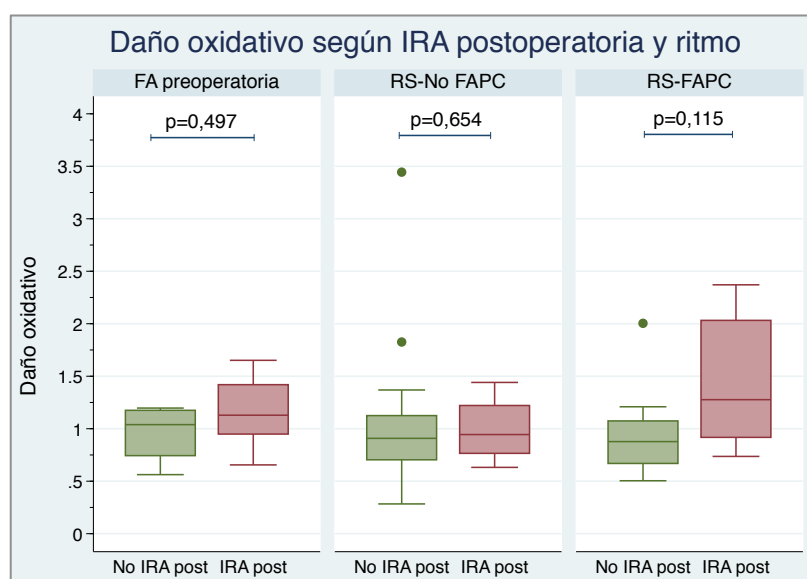
**Figura 99.** Contenido de ADNmt según IRA postoperatoria y haplogrupo.**Figura 100.** Contenido de ADNmt según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.

**Tabla 33.** Comparación del Daño oxidativo según IRA postoperatoria.

Daño oxidativo	IRA postoperatoria		Valor <i>p</i>
	No	Sí	
<b>Total muestra</b>	0,91 [0,70-1,13]	1,11 [0,91-1,44]	<b>0,049</b>
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,93 [0,87-1,06]	1,22 [0,91-1,49]	0,174
Haplogrupo No H	0,90 [0,61-1,17]	1,09 [0,84-1,19]	0,254
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,04 [0,74-1,18]	1,13 [0,95-1,42]	0,497
2: RS preop sin FAPC	0,91 [0,70-1,12]	0,94 [0,76-1,22]	0,654
3: RS preop con FAPC	0,88 [0,67-1,07]	1,28 [0,92-2,03]	0,115



**Figura 101.** Daño oxidativo según IRA postoperatoria y haplogrupo.



**Figura 102.** Daño oxidativo según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.

Tabla 34. Comparación del Tamaño celular según IRA postoperatoria.

Tamaño celular (µm)	IRA postoperatoria		Valor p
	No	Sí	
<b>Total muestra</b>	61,31 [52,07-88,74]	66,46 [51,45-97,00]	0,503
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	88,74 [50,29-98,87]	61,37 [37,78-71,00]	0,160
Haplogrupo No H	60,17 [52,07-69,41]	87,93 [75,21-101,54]	<b>0,020</b>
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	84,60 [69,86-105,08]	77,13 [58,19-94,30]	0,450
2: RS preop sin FAPC	58,24 [41,98-69,71]	44,70 [36,79-61,91]	0,455
3: RS preop con FAPC	59,36 [55,46-88,31]	87,46 [71,00-101,54]	0,100

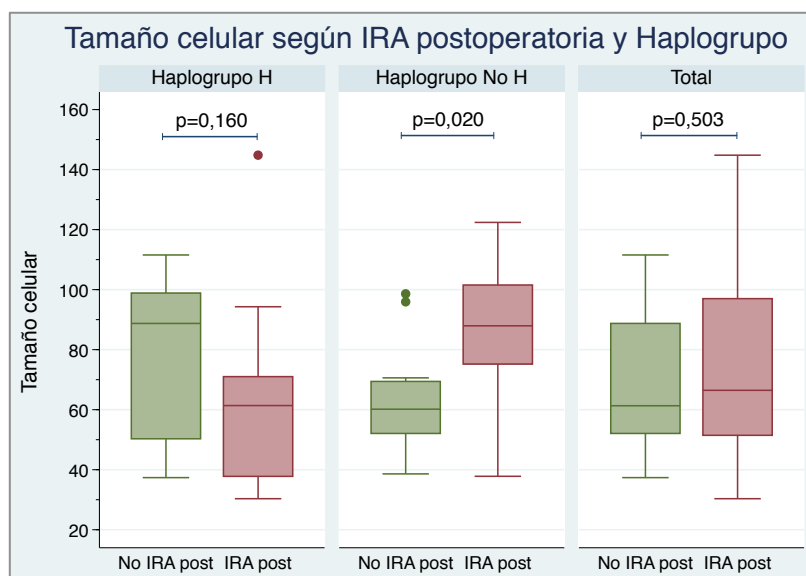


Figura 103. Tamaño celular según IRA postoperatoria y haplogrupo.

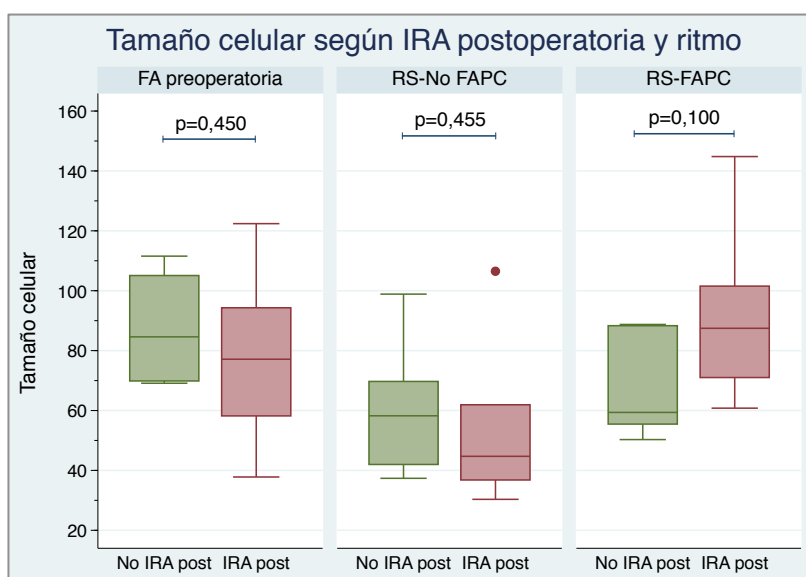
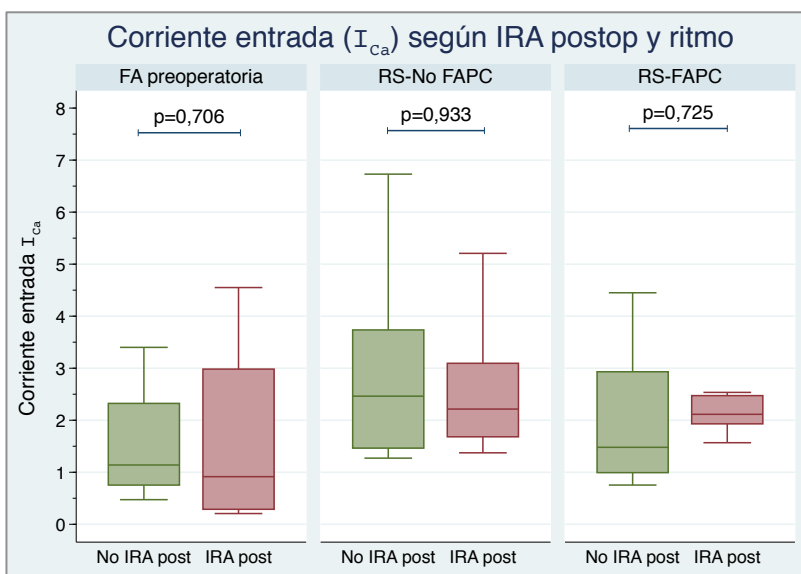
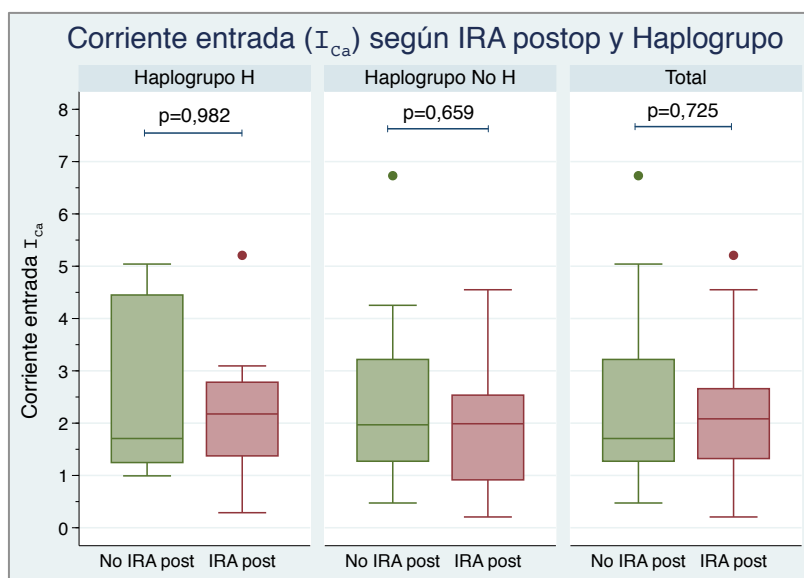


Figura 104. Tamaño celular según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.

**Tabla 35.** Comparación de la Corriente de entrada de calcio según IRA postoperatoria.

Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ) (pA/pF)	IRA postoperatoria		Valor <i>p</i>
	No	Sí	
<b>Total muestra</b>	1,71 [1,27-3,22]	2,08 [1,32-2,66]	0,725
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	1,71 [1,25-4,45]	2,18 [1,37-2,78]	0,892
Haplogrupo No H	1,97 [1,27-3,22]	1,99 [0,92-2,54]	0,659
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	1,14 [0,75-2,32]	0,92 [0,29-2,98]	0,706
2: RS preop sin FAPC	2,46 [1,46-3,74]	2,21 [1,68-3,09]	0,933
3: RS preop con FAPC	1,48 [0,99-2,93]	2,11 [1,93-2,47]	0,584

**Figura 105.** Corriente de entrada de calcio según IRA postoperatoria y haplogrupo.



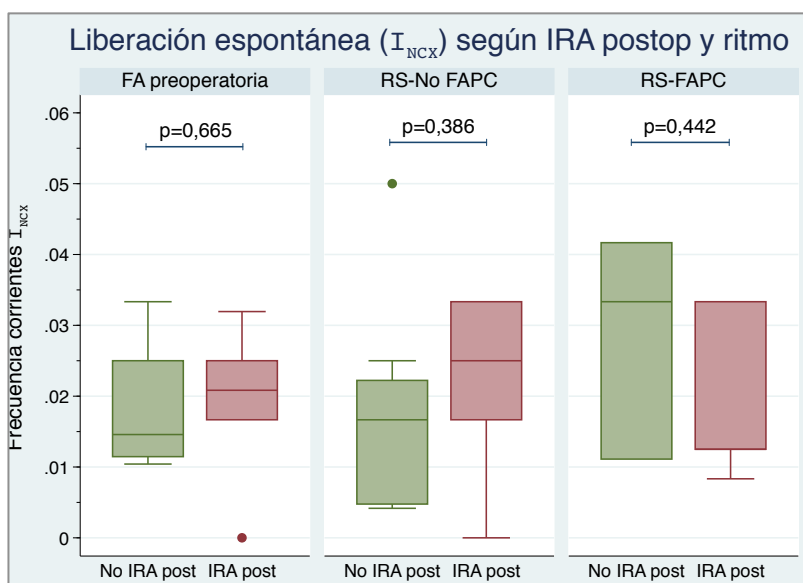
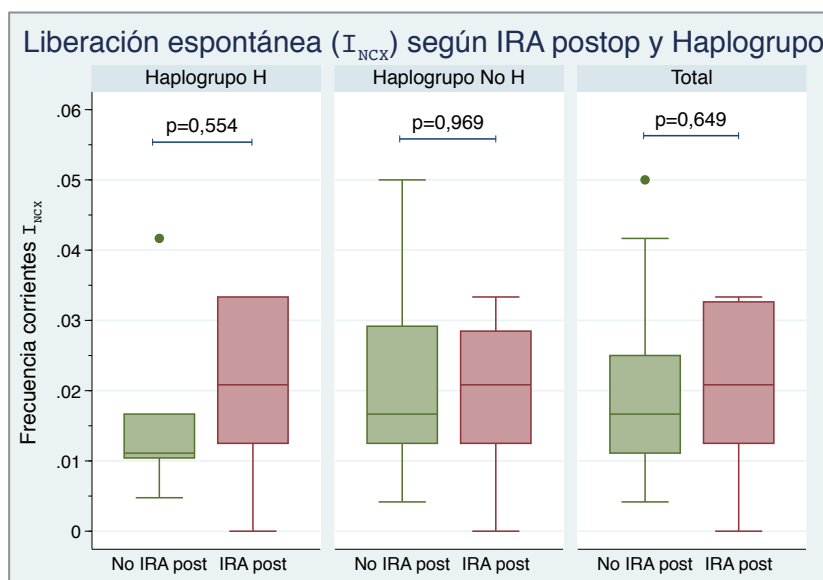
**Figura 106.** Corriente de entrada de calcio según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.



**Tabla 36.** Comparación de la Liberación espontánea de calcio según IRA postoperatoria.

Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ )	IRA postoperatoria		Valor <i>p</i>
	No	Sí	
<b>Total muestra</b>	0,017 [0,011-0,025]	0,021 [0,013-0,033]	0,649
<b>Haplogrupo mitocondrial</b>			
Haplogrupo H	0,011 [0,010-0,017]	0,021 [0,013-0,033]	0,554
Haplogrupo No H	0,017 [0,013-0,029]	0,021 [0,013-0,028]	0,969
<b>Grupo: ritmo cardiaco</b>			
1: FA preoperatoria	0,015 [0,011-0,025]	0,021 [0,017-0,025]	0,665
2: RS preop sin FAPC	0,017 [0,005-0,022]	0,025 [0,017-0,033]	0,386
3: RS preop con FAPC	0,033 [0,011-0,042]	0,013 [0,013-0,033]	0,442

**Figura 107.** Liberación espontánea de calcio según IRA postoperatoria y haplogrupo.



**Figura 108.** Liberación espontánea de calcio según IRA postoperatoria y ritmo cardiaco.

## VI.DISCUSIÓN

---



El trabajo de esta tesis aborda el estudio de una de las complicaciones más frecuentes tras cirugía cardíaca: la fibrilación auricular. Se conocen diversos factores clínicos y electrofisiológicos que influyen en el desarrollo de esta patología, siendo el metabolismo intracelular del calcio, muy dependiente de los niveles de ATP, uno de los más importantes. Por otro lado, el estrés oxidativo también ha sido propuesto como un factor que contribuye a su aparición (16, 33, 46, 56, 64, 65, 68, 72, 73).

La mitocondria es el principal suministrador de ATP de la célula, y es generadora de ROS. Por ello, el ADNmt está en el punto de mira de investigadores de muchas patologías, sobre todo las que afectan a tejidos o células con gran demanda energética, como pueden ser espermatozoides, tejido nervioso, riñones o el músculo estriado.

En este trabajo se ha descartado el estudio de las mutaciones patológicas mitocondriales, que, por su gravedad, serían responsables de graves problemas desde el nacimiento o la primera infancia. Por el contrario, se ha centrado en las variantes no patológicas, es decir, los haplogrupos mitocondriales que, por su diferente eficiencia energética pueden asociarse, como ya ha sido demostrado, con el envejecimiento (134) y con el desarrollo de algunas enfermedades como miocardiopatías (139-142), astenozoospermia (133, 143), Alzheimer (144), entre otras.

Además, la mitocondria, como orgánulo semiautónomo, tiene capacidad para responder a las necesidades fisiológicas concretas del tejido/célula correspondiente, modificando la dosis genómica mitocondrial. De esta manera puede suministrar suficientes unidades de la cadena respiratoria y proporcionar, por tanto, la cantidad de ATP demandado en cada caso. Asimismo, se ha observado que las alteraciones en el número de copias de ADNmt son un marcador indirecto de disfunción mitocondrial, que puede predisponer a enfermedades (145-147).

Teniendo en cuenta todo lo anterior, este trabajo abordó el estudio de la aparición de FA en pacientes tras cirugía cardíaca, relacionándola con diversos parámetros fisio(pato)lógicos, y con las variantes genéticas y genómicas mitocondriales.

Se ha estudiado, en concreto, el efecto del haplogrupo mitocondrial (fondo genético), sobre la incidencia de fibrilación auricular post-cirugía cardíaca. Además, se ha analizado la influencia del contenido genómico mitocondrial (fondo genómico), daño oxidativo y otras variables celulares y electrofisiológicas relacionadas con la homeostasis del calcio que podrían intervenir en su fisiopatogenia. Por último también se han estudiado factores clínicos asociados a la fibrilación auricular postoperatoria que podrían actuar como potenciales confundidores de la asociación haplogrupo-fibrilación auricular postoperatoria.

## VI.1. REPRESENTATIVIDAD:

### VI.1.a. De la población de referencia:

La cohorte de referencia sobre la que se recogieron las muestras presentaba una incidencia de FAPC (23,1%) dentro del intervalo previamente publicado (16-46%) (80).

Algunos de los factores predictores de FAPC hallados en la cohorte de referencia de este estudio también se han identificado como factores de riesgo en otras publicaciones: edad (82), uso de IECAs en el preoperatorio (124, 125), cirugía valvular y cirugía combinada (24), cirugía sobre la válvula mitral e insuficiencia renal postoperatoria-hipervolemia (148).

### VI.1.b. De la población de las muestras:

La distribución de los haplogrupos mitocondriales de las muestras auriculares se asemejaba a la distribución publicada en otras series. La frecuencia de Haplogrupo H fue del 41,96% en este estudio frente al 40,5% publicado con anterioridad (44).

Teniendo en cuenta que las características de la población de pacientes estudiada están dentro de la normalidad publicada por otros autores, se excluye que los resultados puedan presentar algún sesgo de partida.

## VI.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS EN LA COHORTE DE MUESTRAS:

En la Tabla 9 se ha mostrado la distribución de las comorbilidades por Grupos de ritmo cardiaco. La única que presentó diferencias significativas fue la EPOC, que era más frecuente en el Grupo 1 ( $p=0,027$ ).

Se conoce que la prevalencia de FA aumenta con la edad (20, 22), lo que explicaría la mayor media de edad de los pacientes de los Grupos 1 y 3 (Grupo 2 vs 3:  $p=0,082$ ).

Por otro lado se observó que el porcentaje de mujeres era mayor en los Grupos 1 y 3 ( $p=0,029$ ). En nuestra cohorte de referencia, la cirugía de la válvula mitral, sobre todo la de origen reumático, era más frecuente en mujeres. Además, se conoce que la valvulopatía mitral se relaciona con dilatación auricular izquierda secundaria a aumento crónico de la presión auricular, lo cual predispone a FA (24). En nuestra muestra, los pacientes con FA, tanto preoperatoria como postoperatoria presentaba una mayor prevalencia de aurícula izquierda dilatada (prueba de  $\chi^2$  entre los 3:  $p=0,058$ ; Grupo 2 vs 3:  $p=0,018$ ). Estos dos hechos justificarían por qué los Grupos 1 (FA

preoperatoria) y 3 (FA postoperatoria) presentaban una mayor prevalencia de cirugía valvular, bien fuera aislada (prueba de  $\chi^2$  entre los 3 Grupos:  $p=0,474$ ; Grupo 2 vs 3:  $p=0,222$ ) o combinada (prueba de  $\chi^2$  entre los 3 Grupos:  $p=0,073$ ; Grupo 2 vs 3:  $p=0,025$ ). Sin embargo, la prevalencia de AI dilatada no era significativamente mayor en mujeres frente a hombres ( $p=0,681$ ).

Asimismo, el porcentaje de pacientes que presentaron insuficiencia renal postoperatoria fue significativamente mayor en los pacientes con FA preoperatoria y postoperatoria (prueba de  $\chi^2$  entre los 3 Grupos:  $p=0,033$ ). Dentro de los pacientes con RS preoperatorio, la frecuencia de IRA postoperatoria era mayor en los pacientes que presentaron FAPC (Grupo 2 vs 3:  $p=0,101$ ).

Otras variables clínicas asociadas a la FAPC fueron: a) Tiempo de isquemia cardiaca mayor a 90 y menor o igual a 120 minutos (**OR 7,00**; IC 95%: 1,18-41,36;  $p=0,032$ ); b) Estancia en UCI mayor a 72 horas (**OR 4,60**; IC 95%: 1,32-15,95;  $p=0,016$ ); y c) Estancia postoperatoria total mayor a 14 días (**OR 4,50**; IC 95%: 1,11-18,18;  $p=0,034$ ). Estas dos últimas fueron consecuencia de la mayor morbilidad postoperatoria en los pacientes del Grupo 3; además, si los episodios de FAPC son repetidos, prolongados o no revierten a ritmo sinusal, se debe iniciar tratamiento anticoagulante, lo que difiere el alta hospitalaria hasta alcanzar correctos niveles de anticoagulación (INR).

### VI.2.a. Identificación de factores de confusión:

Cuatro de las variables clínicas asociadas con FAPC fueron identificadas como factores de confusión del efecto del Haplogrupo H sobre el desarrollo de FA en el postoperatorio. La siguiente Tabla muestra la asociación, según análisis univariante, entre los factores de confusión y la incidencia de FAPC:

**Tabla 37.** Asociación entre los factores de confusión y la FAPC mediante análisis univariante.

	OR univariante	IC 95%	Valor <i>p</i>
<b>Sexo femenino</b>	5,80	1,54-21,92	<b>0,008</b>
<b>Edad <math>\geq</math> 70 años</b>	4,29	1,18-15,27	<b>0,045</b>
<b>AI &gt;40mm</b>	6,22	1,34- $\infty$	<b>0,018</b>
<b>IRA postoperatoria</b>	2,78	0,83-9,40	<b>0,101</b>

AI: aurícula izquierda; IRA: insuficiencia renal aguda.

La identificación de dichos factores de confusión permitió conocer el verdadero efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de FAPC, como se explica más adelante.

### VI.3. ANÁLISIS DE LOS FACTORES MITOCONDRIALES:

#### VI.3.a. Delección común:

La delección común (delección de 4977 pb) estaba presente en todas las muestras menos una. Algunos grupos han observado una asociación entre dicha alteración y la FA (53), que en este estudio no se ha podido demostrar. Se sospecha que sea la edad avanzada de los pacientes (70,5 [61-74] años), más que el ritmo cardiaco, la que justifique la presencia generalizada de la delección común en esta cohorte, incluido el grupo de ritmo sinusal postoperatorio (Grupo 2), ya que se ha visto que esta delección se relaciona también con la edad (54).

#### VI.3.b. Daño oxidativo:

Según estudios previos, el Haplogrupo H tiene una mayor actividad intrínseca mitocondrial (49), probablemente porque codifique proteínas de la cadena respiratoria que se acoplan mejor, resultando una cadena respiratoria más eficiente energéticamente, pero que generaría más radicales libres y, por tanto, induciría más estrés oxidativo (50). En nuestro estudio, a pesar de que los pacientes con Haplogrupo H tendían a presentar mayor daño oxidativo que aquellos con Haplogrupo No H, la diferencia no era estadísticamente significativa ( $p=0,217$ ). Esto se justificaría por el tamaño muestral. Pequeños cambios en la eficiencia de la cadena respiratoria entre los haplogrupos requerirían mayor tamaño de muestra, hecho difícil de conseguir debido a que la Colección de la que proceden las muestras no disponía de más fragmentos con suficiente tejido para los estudios mitocondriales.

Por otro lado, diversos investigadores han hallado que el estrés oxidativo está implicado en la fisiopatogenia de la fibrilación auricular (46, 53, 103, 108, 110, 116). En el presente estudio, los pacientes del Grupo 3 (FAPC) presentaban mayor daño oxidativo que los otros dos Grupos, pero de manera no significativa (prueba de Kruskal-Wallis:  $p=0,407$ ; prueba de Wilcoxon Grupo 2 vs 3:  $p=0,360$ ). Tampoco era significativa la diferencia de daño oxidativo entre los pacientes con FA preoperatoria (Grupo 1) y los del Grupo 2 ( $p=0,220$ ). La explicación es similar a la del apartado anterior. Hay que tener en cuenta que cuanto menor sea su contribución al desarrollo de la patología, mayor tamaño de muestra se requiere. En cualquier caso, la intención de la autora es continuar aumentando el tamaño de la muestra en el futuro, para averiguar si se confirma significativamente la tendencia observada.

El daño oxidativo fue menor en las mujeres frente a los varones, tanto en el total de la muestra ( $p=0,064$ ), como en los pacientes con Haplogrupo No H ( $p=0,062$ ) y también

en el Grupo 1 - FA preoperatoria - ( $p=0,034$ ). El menor daño oxidativo en mujeres, en general, podría deberse al papel protector de los estrógenos durante la vida fértil de las mujeres (149-152), efecto que disminuiría a partir de la menopausia.

Fue mayor en los pacientes con IRA postoperatoria en el total de la muestra ( $p=0,049$ ). Estudios previos han comprobado el papel del estrés oxidativo en el desarrollo de fallo renal agudo tras cirugía cardíaca (153-155). La fuerte asociación entre la IRA postoperatoria y la FAPC encontrada en este estudio (**OR 2,78**) puede explicarse por el mayor daño oxidativo que presentan los pacientes con fallo renal agudo tras la cirugía cardíaca. Sin embargo, no se halló relación entre mayor daño oxidativo y FAPC, probablemente porque los pacientes con Haplogrupo H presenten mejores mecanismos antioxidantes, neutralizando el efecto de la IRA postoperatoria (Efecto de IRA postoperatoria sobre FAPC: en pacientes con Haplogrupo H: OR 1,14; en pacientes con Haplogrupo No H: OR 8,50).

### VI.3.c. Contenido relativo de ADNmt:

Analizado como variable continua, no hubo diferencias significativas entre Haplogrupos ( $p=0,669$ ), y tampoco entre Grupos de ritmo cardíaco (prueba de Kruskal-Wallis:  $p=0,230$ ; prueba de Wilcoxon, Grupo 2 vs 3:  $p=0,114$ ).

La mediana del Contenido de ADNmt fue significativamente mayor en las mujeres en el total de la muestra ( $p=0,016$ ). Este hallazgo puede explicarse por papel protector de los estrógenos frente al daño oxidativo sufrido por el ADNmt de las mujeres (156). Sin embargo, el subanálisis por haplogrupos mostró que la diferencia entre sexos se mantenía significativa en los pacientes con Haplogrupo No H ( $p=0,048$ ), pero no en los pacientes con Haplogrupo H ( $p=0,165$ ). Esto puede deberse a que los individuos con haplogrupo H compensan el daño oxidativo aumentando el contenido de ADNmt, independientemente del sexo.

Por otro lado, en los pacientes con ritmo sinusal preoperatorio (Grupos 2 y 3) el Contenido de ADNmt era menor en los que la aurícula izquierda estaba dilatada frente a los que no presentaban dilatación auricular, siendo esta diferencia casi significativa solamente en los pacientes con FAPC (Grupo 3;  $p=0,057$ ), y no significativa en el Grupo 2 ( $p=0,334$ ).

No obstante, analizando el contenido genómico mitocondrial como variable dicotómica, la categoría mayor a la mediana se asociaba de manera significativa con la incidencia de FAPC (**OR 4,29**; IC 95%: 1,18-15,27;  $p=0,026$ ). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el porcentaje de pacientes con Contenido de ADNmt mayor a la mediana entre los Grupos 1 y 2 ( $p=0,976$ ).



Existe controversia en la relación entre el daño oxidativo y el número de copias de ADNmt. Por un lado, Marcuello *et al* (2005) evidenciaron que en el músculo esquelético, inmediatamente después de realizado un ejercicio extenuante, se producía un aumento significativo del daño oxidativo y una caída también significativa del ADNmt. Sin embargo, a partir de las 48h la cantidad de ADNmt se recuperaba (157). Por el contrario, Ji (2000) observó que el contenido de ADNmt aumentaba en el corazón ante el estrés oxidativo, probablemente por una mayor capacidad compensatoria antioxidante de este órgano (158). Publicaciones posteriores han demostrado que el daño oxidativo inducía la síntesis de copias de ADNmt (145-147). En el presente estudio se observó que la correlación entre el Daño oxidativo y el Contenido relativo de ADNmt era diferente según el Haplogrupo mitocondrial. Los pacientes con Haplogrupo No H, al generar menor daño oxidativo, posiblemente no alcanzan el umbral de estímulo suficiente para activar la biogénesis mitocondrial por lo que, en este haplogrupo, un aumento del daño oxidativo provoca una caída en el número de copias de ADNmt, justificando la correlación negativa y significativa encontrada entre ambos parámetros (Coeficiente de Pearson  $r = -0,35$ ;  $p = 0,034$ ). Sin embargo, los pacientes con Haplogrupo H, con mayor daño oxidativo, parecen superar el umbral mínimo de estímulo de la biogénesis mitocondrial induciendo un incremento en el nº de ADNmt y justificando de esta forma la correlación positiva y significativa encontrada en estos pacientes (Coeficiente de Pearson  $r = +0,47$ ;  $p = 0,016$ ).

Asimismo, la correlación entre el Contenido de ADNmt y el Daño Oxidativo era positiva en los pacientes sin dilatación auricular ( $r = +0,37$ ;  $p = 0,089$ ) y neutra en los pacientes con AI dilatada ( $r = -0,02$ ;  $p = 0,904$ ). De estos hallazgos se puede deducir que la dilatación auricular podría ser un indicador y, por tanto, una consecuencia, de que el mecanismo antioxidante de biogénesis de ADNmt no funcione correctamente. Lo mismo ocurría con la correlación entre Contenido de ADNmt y la edad (AI no dilatada:  $r = +0,38$ ;  $p = 0,079$ ; AI dilatada:  $r = -0,06$ ;  $p = 0,714$ ).

Todos estos resultados parecen sugerir que, ante el deterioro progresivo del tejido cardíaco por edad, daño oxidativo, remodelado auricular (dilatación auricular) o la asociación con otras patologías, las mitocondrias de las fibras musculares cardíacas tratan de “compensar” las dificultades aumentando la biogénesis mitocondrial para incrementar el potencial energético celular. Si el ADNmt, ya está dañado (delección común presente en todos los pacientes, menos uno, por ejemplo), es un esfuerzo baldío, puesto que no se lograría el objetivo. El mecanismo subyacente exacto no ha podido ser probado con los datos disponibles.

### VI.3.d. Haplogrupo mitocondrial:

El análisis univariante inicial mostró una ligera tendencia del Haplogrupo H a aumentar el riesgo de FAPC (OR 1,27; IC 95%: 0,39–4,07;  $p=0,697$ ). En este caso, debería considerarse que, si el Haplogrupo H *per se* tiene un pequeño efecto sobre la aparición de FAPC, sería necesario un tamaño muestral mucho mayor para ponerlo en evidencia, algo impensable en el presente estudio, dado que no se disponían de más muestras adecuadas en la Colección. No obstante, un diseño prospectivo de recogida de muestras quizá permita demostrar, o descartar, definitivamente la posible influencia del Haplogrupo mitocondrial.

El análisis estratificado por Haplogrupos del efecto del Contenido de ADNmt mayor a la mediana sobre el riesgo de FAPC mostró que en los pacientes con Haplogrupo H, dicha asociación era todavía mayor (OR 10,5; IC 95%: 1,24-∞;  $p=0,029$ ), mientras que en los pacientes con Haplogrupo No H la asociación disminuía (OR 2,29; IC 95%: 0,45-11,46;  $p=0,333$ ). Estas observaciones confirmarían el **efecto potenciador del Haplogrupo H sobre la asociación Contenido ADNmt mayor a la mediana y FAPC**, como resultado, posiblemente, del mayor daño oxidativo generado en la cadena respiratoria de este haplogrupo.

Hay que tener en cuenta que el daño oxidativo provoca todo tipo de daños en las diferentes biomoléculas de las células (ADNmt, lípidos de membrana y proteínas), por lo que, a pesar del esfuerzo de la célula por compensar ese daño, aumentando el número de copias de ADNmt, muchas de ellas pueden contener mutaciones que provoquen disminución de la eficiencia de la cadena respiratoria. Si se considera, además, el daño generado sobre lípidos y proteínas de membrana, las fibras musculares cardíacas en pacientes con Haplogrupo H podrían llegar a presentar alteraciones fisiológicas suficientes como para favorecer la aparición de FAPC.

En el caso de la IRA postoperatoria, el análisis estratificado por Haplogrupos observó lo contrario. El efecto de la IRA postoperatoria sobre la FAPC se acercaba a la unidad en los pacientes con Haplogrupo H (OR 1,15; IC 95%: 0,22-5,97;  $p=0,879$ ), mientras que en los pacientes con Haplogrupo No H, esta asociación aumentaba (OR 8,50; IC 95%: 1,28-55,96;  $p=0,024$ ). Esto podría deberse al efecto protector de la interacción Haplogrupo H-IRA postoperatoria ( $OR_{Int.H-IRAp}=0,13$ ), es decir, que **el Haplogrupo H aparentemente “neutralizaba” el efecto de la IRA postoperatoria**.

#### VI.4. ANÁLISIS DE LOS FACTORES CELULARES Y ELECTROFISIOLÓGICOS:

##### VI.4.a. Tamaño celular:

La dilatación auricular suele producirse por un “estiramiento” de las células miocárdicas, es decir, que los miocardiocitos aumentan de tamaño, como consecuencia del aumento crónico de la presión y volumen auricular. Este hecho explicaría que el Tamaño celular fuera significativamente mayor en los pacientes con FA, Grupos 1 y 3, frente a los pacientes con RS, Grupo 2 (prueba de Kruskal-Wallis:  $p=0,025$ ; prueba de Wilcoxon Grupo 2 vs 3:  $p=0,034$ ). Esta diferencia entre los Grupos 2 y 3 también se mantenía casi significativa en la categoría de pacientes con Contenido de ADNmt mayor a la mediana ( $p=0,052$ ), sugiriendo, una vez más, que el daño oxidativo pueda ser un factor contribuyente en el desarrollo de esta arritmia.

Por otro lado, en los pacientes con Haplogrupo No H, el Tamaño celular era significativamente mayor en los que presentaron IRA postoperatoria frente a los que la función renal se mantuvo correcta tras la cirugía ( $p=0,020$ ). Este hallazgo se podría explicar porque el mayor tamaño celular suele indicar la presencia de un tejido cardiaco más enfermo con, por ejemplo, peor fracción de eyección, y son estos pacientes los que tienden a presentar más complicaciones postoperatorias, como el fallo renal agudo.

##### VI.4.b. Corriente de entrada de calcio ( $I_{CaL}$ ):

En este estudio se observó que la corriente de entrada de  $Ca^{2+}$  a través de los canales tipo-L era menor en los individuos con FA preoperatoria frente a aquellos con RS preoperatorio (Grupo 1 vs 2+3;  $p=0,015$ ). Este hecho se debía sobre todo a la diferencia entre los Grupos 1 y 2 ( $p=0,009$ ); sin embargo, no se encontraron diferencias entre los Grupos 2 y 3 ( $p=0,272$ ), ni tampoco entre los dos tipos de FA, pre- y postoperatoria ( $p=0,158$ ). Estos resultados confirman lo publicado por Patel *et al* (2008), que también habían observado una infrarregulación de las corrientes de calcio a través de los canales tipo L en los individuos con FA, que a su vez perpetuaba la arritmia (94). **Estos datos hacen suponer que la  $I_{CaL}$  influiría en la perpetuación de la FA, pero no en su génesis.**

Además, la menor  $I_{CaL}$  observada en los pacientes del Grupo 1 frente al 2 se daba sobre todo en la categoría de pacientes con Contenido de ADNmt menor a la mediana ( $p=0,004$ ), pero no en la categoría mayor a la mediana ( $p=0,877$ ). Estos resultados tienen sentido considerando que el flujo de  $Ca^{2+}$  es dependiente de los niveles de ATP celular e indirectamente, por ello, de la cantidad de ADNmt. De esta manera se podría

deducir que **la disfunción mitocondrial**, representada por un Contenido de ADNmt mayor a la mediana, **neutralizaría el efecto compensador de que disponen las células miocárdicas en FA permanente para disminuir la  $I_{CaL}$  como consecuencia del acúmulo de calcio intracelular.**

Por otro lado, la  $I_{CaL}$  era mayor en los pacientes con edad avanzada ( $\geq 70$  años) frente a los de edad no avanzada ( $p=0,051$ ), sólo en aquellos pertenecientes al Haplogrupo H que, como varios autores han propuesto, presentarían una mayor eficiencia de la cadena respiratoria.

Por el contrario, en los pacientes con Haplogrupo No H, la  $I_{CaL}$  era menor en los que tenía dilatación auricular frente a los que el tamaño auricular era normal ( $p=0,057$ ), resultado coherente puesto que una menor eficiencia de la cadena respiratoria propia de haplogrupos No H, justificaría menor producción de ATP y, por ello, también una contractilidad disminuida, con el consecuente remodelado auricular.

Sin embargo, no se observó diferencia significativa en la corriente de entrada de calcio entre sexos.

#### VI.4.c. Liberación espontánea de calcio ( $I_{NCX}$ ):

Hove *et al* (2004) concluyeron con sus estudios que la liberación espontánea de  $Ca^{2+}$ , determinada de manera indirecta por medio de la frecuencia de corriente de entrada a través del intercambiador  $Na^+-Ca^{2+}$  ( $I_{NCX}$ ), era mayor en los individuos con FA permanente que en los pacientes con RS preoperatorio (31). El presente estudio no confirmó estas observaciones al comparar FA preoperatoria y RS preoperatorio (Grupo 1 vs 2+3:  $p=0,859$ ), posiblemente porque el tamaño muestral es muy diferente. Futuros trabajos deberán resolver estos resultados controvertidos. Tampoco se hallaron diferencias en las comparaciones parciales: Grupo 1 vs 2 ( $p=0,910$ ), Grupo 1 vs 3 ( $p=0,560$ ) y Grupo 2 vs 3 ( $p=0,515$ ).

No obstante, la correlación entre  $I_{NCX}$  y la dosis genómica mitocondrial era positiva ( $r= +0,22$ ;  $p=0,209$ ). De hecho, la  $I_{NCX}$  fue significativamente mayor en los pacientes con Contenido de ADNmt mayor a la mediana frente a menor a la mediana ( $p=0,023$ ). **Por esta razón, se podría suponer que la disfunción mitocondrial, medida como Contenido de ADNmt mayor a la mediana, influiría en la homeostasis del calcio, aumentando la liberación espontánea de calcio desde los orgánulos intracelulares.** Esta diferencia era más evidente dentro de los pacientes del Grupo 2 ( $p=0,002$ ), pero se invertía en los pacientes que presentaron FAPC: la  $I_{NCX}$  se correlacionó negativamente con el Contenido de ADNmt ( $r= -0,40$ ;  $p=0,331$ ). Estos resultados confirman las propuestas de los últimos párrafos, sugiriendo que en los

pacientes con ritmo sinusal normal tras cirugía (Grupo 2), el comportamiento es normal de acuerdo a lo esperado (más ADNmt conlleva más ATP y éste, un flujo normal de  $\text{Ca}^{2+}$ ). Sin embargo, en pacientes con FAPC, los diversos factores que contribuyen a esa patología parecen distorsionar el patrón esperado.

Respecto a las diferencias entre sexos, las mujeres tendían a presentar mayor  $I_{\text{NCX}}$  dentro de los pacientes con FA preoperatoria ( $p=0,085$ ), observación que no se encontró en los otros dos Grupos de ritmo cardiaco ( $p=0,609$  y  $p=0,167$ , respectivamente). Por el contrario, la  $I_{\text{NCX}}$  disminuía con la edad ( $r= -0,32$ ,  $p=0,067$ ), observación coherente con la progresiva pérdida de eficiencia energética celular. Esta correlación se hacía más significativa en los pacientes que desarrollaron FA postoperatoria, ( $r= -0,71$ ,  $p=0,049$ ;  $\geq 70\text{a}$  vs  $< 70\text{a}$ :  $p=0,046$ ), pero se invertía en los que presentaban FA preoperatoria ( $r= +0,36$ ,  $p=0,306$ ), lo que permite suponer que el proceso quirúrgico puede contribuir, mediante estrés celular, a alteraciones metabólico-electrolíticas complejas (80).

#### VI.5. RECOPILACIÓN DE LOS DATOS Y ELABORACIÓN DEL MODELO AJUSTADO:

Mediante análisis multivariante se estudió el efecto del Haplogrupo H sobre la incidencia de FAPC, ajustando por los cuatro factores de confusión identificados y por el Contenido de ADNmt categorizado (mayor o menor a la mediana). Se identificó al **Haplogrupo H** como un **factor protector** (OR 0,52; IC 95%: 0,09-3,07,  $p=0,467$ ) y al **Contenido de ADNmt mayor a la mediana** como **factor de riesgo** (OR 5,50; IC 95%: 0,90-33,49;  $p=0,065$ ).

El AUC de la Curva ROC del modelo fue de 0,863 (IC 95%: 0,748-0,978).

#### VI.6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO:

La principal limitación de este trabajo es el pequeño número de muestras. Esto se debe a que la recogida de las mismas no fue prospectiva, sino que se utilizaron fragmentos de muestras que se habían extraído para estudios previos electrofisiológicos y que habían sido conservadas en Colección. Desafortunadamente, aunque el número de muestras con análisis electrofisiológicos es mucho mayor, de sólo 62 se pudo recuperar fragmentos de tamaño suficiente para los estudios mitocondriales. Sin embargo, esta Tesis proporciona una primera orientación de cómo los haplogrupos mitocondriales y el contenido de ADNmt pueden influir en la aparición de fibrilación auricular tras cirugía cardiaca.

## **VII. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS**

---



## VII.1. CONCLUSIONES:

### VII.a. Derivadas del Objetivo primario:

1. En el análisis no ajustado, el **Haplogrupo H** tiende a ser un factor de riesgo de aparición de fibrilación auricular postoperatoria.
2. En el análisis no ajustado, la presencia de **Contenido relativo de ADN mitocondrial mayor a la mediana** en miocito auricular es un factor de riesgo de aparición de fibrilación auricular postoperatoria.
3. Los **factores de confusión** del efecto del Haplogrupo H son: sexo femenino, edad mayor o igual a 70 años, aurícula izquierda dilatada e insuficiencia renal aguda postoperatoria.
4. En el **análisis multivariante ajustado** por los factores de confusión, el **Haplogrupo H** se presenta como **factor protector**, mientras que el **Contenido relativo de ADN mitocondrial mayor a la mediana** es un **factor de riesgo** de incidencia de fibrilación auricular postoperatoria de nueva aparición.

### VII.b. Derivadas del Objetivo secundario:

1. No se detectaron diferencias significativas en la cuantificación del **Daño oxidativo** en miocito auricular según el ritmo cardiaco pre y postoperatorio.
2. No se detectaron diferencias significativas en la proporción de pacientes con **Deleción común de 4977 pares de bases del genoma mitocondrial** en el miocito auricular según el ritmo cardiaco pre y postoperatorio.
3. El **Tamaño celular** del miocardiocito auricular es significativamente mayor en los pacientes con fibrilación auricular, tanto preoperatoria como postoperatoria.
4. Los pacientes con fibrilación auricular preoperatoria presentaron **Corrientes de entrada de calcio** en miocito auricular de menor amplitud que aquellos con ritmo sinusal preoperatorio (Grupos 2 y 3). **La  $I_{CaL}$  influiría en la perpetuación de la fibrilación auricular, pero no en la génesis. La disfunción mitocondrial** (medida como Contenido de ADNmt mayor a la mediana) **neutralizaría el efecto compensador sobre las  $I_{CaL}$  de los miocardiocitos en fibrilación auricular** como consecuencia del acúmulo de calcio intracelular.
5. No hubo diferencias significativas en la **Liberación espontánea de calcio** según el ritmo cardiaco. Ésta fue significativamente mayor en el grupo con



Contenido de ADN mitocondrial mayor a la mediana. **La disfunción mitocondrial**, medida como Contenido de ADNmt mayor a la mediana, **influiría en la homeostasis del calcio, aumentando la liberación espontánea de calcio desde el retículo sarcoplasmático.**

## VII.1. CONCLUSIONS:

### VII.a. Derived from Main objective:

1. In non-adjusted analysis, **Haplogroup H** tends to be a risk factor for new onset of postoperative atrial fibrillation.
2. In non-adjusted analysis, presence of **mitochondrial DNA relative content higher than median** in atrial myocyte is a risk factor for new onset of postoperative atrial fibrillation.
3. **Confounding factors** of the effect of Haplogroup H are: female gender, age equal to or older than 70 years, dilated left atrium and postoperative acute renal failure.
4. In **multivariate analysis**, when **adjusting** for confounding factors **Haplogroup H** presents as a **protection factor**, whereas **mitochondrial DNA relative Content higher than median** is a **risk factor** for the development of new onset of postoperative atrial fibrillation.

### VII.b. Derived from Secondary objective:

5. No significant differences in the quantification of **Oxidative damage** in atrial myocyte were found according to pre- and postoperative heart rhythm.
6. No significant differences in the proportion of patients presenting with **common Deletion of 4977 base pairs in the mitochondrial genome** in atrial myocyte were found according to pre- and postoperative heart rhythm.
7. **Cell size** of atrial myocyte was significantly higher in patients with atrial fibrillation, either preoperative or postoperative.
8. Atrial myocytes from patients with preoperative atrial fibrillation presented with an **inward calcium current** amplitude lower than those with preoperative sinus rhythm (Groups 2 and 3). **I<sub>CaL</sub> would influence on perpetuation of atrial fibrillation, rather than its genesis. Mitochondrial dysfunction** (measured as mtDNA content higher than median) **would neutralize the compensating effect over I<sub>CaL</sub> currents** of cardiomyocytes in **atrial fibrillation**, as a consequence of accumulation of intracellular calcium.
9. There were no significant differences in **Spontaneous calcium release** according to heart rhythm. Its frequency was significantly higher in the group of patients with mitochondrial DNA content higher than median. **Mitochondrial dysfunction**, measured as mtDNA content higher than median,

would influence on calcium homeostasis, by increasing spontaneous calcium release from sarcoplasmic reticulum.

## **VIII. ANEXO: CONCEPTOS Y DEFINICIONES**

---



## VIII.1. DEFINICIONES SOBRE VARIABLES

### VIII.1.a. Clínicas:

- Disnea: sensación subjetiva de falta de aire. El origen puede ser cardiológico, respiratorio o mixto.
- Insuficiencia cardiaca: anomalía en la estructura o en la función cardiaca que condiciona un fallo o imposibilidad del corazón para llevar la cantidad de oxígeno adecuada para los requerimientos metabólicos de los tejidos, a pesar de presiones de llenado normales, o que sólo es capaz de aportar el oxígeno necesario para los tejidos a expensas de aumentar las presiones de llenado del corazón.

Los síntomas típicos de la insuficiencia cardiaca son: sensación de falta de aire, sudoración y fatiga. Algunos signos asociados a la insuficiencia cardiaca son: presión venosa yugular elevada, crepitantes pulmonares (como representante de congestión pulmonar) o latido desplazado hacia el apex (159).

La *New York Heart Association* (NYHA) estableció una clasificación funcional de la insuficiencia cardiaca en función de la severidad de los síntomas y la actividad física (160):

Clase funcional	Definición
Clase I	No limitación de la actividad física. La actividad ordinaria no ocasiona excesiva fatiga, palpitaciones o disnea
Clase II	Ligera limitación de la actividad física. Confortables en reposo. La actividad ordinaria ocasiona fatiga, palpitaciones o disnea
Clase III	Moderada limitación de la actividad física. Confortables en reposo. Actividad física menor que la ordinaria ocasiona fatiga, palpitaciones o disnea
Clase IV	Incapacidad para llevar a cabo cualquier actividad física sin disconfort. Los síntomas de insuficiencia cardiaca pueden estar presentes incluso en reposo. Si se realiza cualquier actividad física, el disconfort aumenta

La contractilidad cardiaca se valora con la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, explicada en el apartado VIII.1.b. En la insuficiencia cardiaca la fracción de eyección suele verse afectada.

- Angina: síndrome clínico caracterizado por malestar en el pecho, mandíbulas, hombros, espalda o brazos, que aparece con el ejercicio o estrés emocional y remite con el descanso o con la administración de nitroglicerina. Con menos frecuencia, el malestar puede aparecer en la zona epigástrica.

Habitualmente este término se confina a los casos en los que el síndrome es atribuido a isquemia miocárdica. El diagnóstico diferencial debe realizarse con alteraciones en el esófago, pulmones o en la pared torácica. Por ello, el dolor torácico puede clasificarse de manera clínica en tres tipos:

Tipos de dolor torácico	Definición
Angina típica (confirmada)	Cumple 3 de las siguientes características: Malestar retroesternal de duración y tipo característicos Causado por ejercicio o estrés emocional Cede con reposo y/o nitroglicerina
Angina atípica (probable)	Cumple 2 de las características
Dolor torácico no cardiaco	Cumple una o ninguna de las características citadas

Las causas de isquemia miocárdica son: la aterosclerosis coronaria (la más común), miocardiopatía hipertrófica o dilatada, estenosis aórtica u otras enfermedades cardiacas raras en ausencia de enfermedad coronaria ateromatosa obstructiva (161).

La *Canadian Cardiovascular Society* (CCS) estableció un sistema de gradación de la angina estable según la severidad de los síntomas y la actividad física (162):

Clase funcional	Definición
Clase I	La actividad física ordinaria, como caminar y subir escaleras, no causa angina. Angina secundaria a ejercicio extenuante, rápido o prolongado.
Clase II	Ligera limitación de la actividad normal. La angina se presenta al andar o al subir escaleras rápidamente, subir cuevas o con el ejercicio después de las comidas, a temperaturas frías, con estrés emocional o sólo durante las primeras horas después de despertarse
Clase III	Marcada limitación de la actividad física normal. La angina se presenta al caminar una o 2 manzanas en llano o un tramo de escaleras a velocidad normal y en condiciones normales
Clase IV	Incapacidad para realizar cualquier actividad física sin malestar. La angina puede aparecer en reposo

- Síndrome de bajo gasto cardiaco (SBGC): el gasto cardiaco es (GC) el volumen de sangre eyectado por el corazón en un minuto. Existen diferentes fórmulas para su cálculo, y los valores normales oscilan entre 4,5 y 6 L/min, según el tamaño de la persona. Si se divide por la superficie corporal se obtiene el Índice cardiaco (InC), cuyo valor normal debe estar por encima de 2,2 L/min/m<sup>2</sup>.

De esta manera el GC/IC representa la capacidad funcional del corazón. Por ello el SBGC es un estado hemodinámico definido como la necesidad de soporte inotrópico o de balón de contrapulsación intraaórtico para mantener un índice cardiaco mayor a 2,2 L/min/m<sup>2</sup>. Puede deberse a fracaso ventricular izquierdo y/o derecho y asociar o no congestión pulmonar. Puede cursar con tensión arterial normal o baja. El cuadro clínico compatible con bajo GC es: oliguria (diuresis inferiores a 0,5ml/kg/h), saturación venosa central menor al 60% (con saturación arterial normal) y/o lactato mayor a 3 mmol/l, sin hipovolemia relativa (163).

- Shock cardiogénico: estado más grave del SBGC que asocia una inadecuada perfusión tisular a pesar de volumen intravascular adecuado. Los criterios hemodinámicos que lo definen son: hipotensión arterial sostenida (presión arterial sistólica menor a 90 mmHg durante al menos 30 minutos) e índice



cardiaco reducido (menor a 2,2 L/min/m<sup>2</sup>) asociado a elevación de presión capilar pulmonar (mayor a 15 mmHg). Se presenta clínicamente con disfunción orgánica (renal, hepática, neurológica y/o gastrointestinal...), habitualmente oliguria (163, 164).

- Infarto de miocardio perioperatorio: el término infarto de miocardio agudo (IAM) se utiliza cuando hay evidencia de necrosis (muerte celular) miocárdica en contexto de clínica compatible con isquemia miocárdica aguda. Se diagnostica como IAM cuando cumple las siguientes condiciones:

Elevación de marcadores miocárdicos (preferiblemente Troponina C, con al menos un valor por encima del percentil 99 sobre el límite de referencia) asociada a:

- Síntomas de isquemia (angina).
- Alteraciones en el electrocardiograma compatibles con isquemia miocárdica (supra o infradesnivelación del segmento ST, bloqueo de rama izquierda de nueva aparición, establecimiento de ondas Q).
- Evidencia por imagen (ecocardiograma o resonancia cardiaca) de pérdida de miocardio viable o aparición de nueva alteración de la movilidad regional del miocardio.
- Identificación angiográfica o por autopsia de trombo intracoronario.

El IAM se clasifica en 5 tipos, siendo el tipo V el IAM relacionado con cirugía de revascularización miocárdica y se define como la elevación de los valores de Troponina C 10 veces por encima del percentil 99, asociado a i) nueva onda Q patológica o nuevo bloqueo de rama izquierda en el ECG, ii) confirmación angiográfica de nueva oclusión de injerto coronario o de arteria coronaria nativa, o iii) evidencia ecocardiográfica de pérdida de miocardio viable o aparición de nueva alteración segmentaria de la contractilidad miocárdica (165).

Los criterios diagnósticos del IAM tipo V son aplicables al periodo perioperatorio de cualquier tipo de cirugía cardiaca: valvular, coronaria, combinada, de trasplante...

- Enfermedad cerebrovascular: todo trastorno en el cual un área del encéfalo se afecta de forma transitoria o permanente por una isquemia o hemorragia,

estando uno o más vasos sanguíneos cerebrales afectados por un proceso patológico. Se puede clasificar de diferentes maneras:

- Según su naturaleza puede ser:
  - Hemorrágico: presencia de sangre en el parénquima cerebral o en el interior de los ventrículos cerebrales (hemorragia cerebral), o en el espacio subaracnoideo (hemorragia subaracnoidea).
  - Isquémico: disminución del aporte sanguíneo, que puede afectar de forma total (isquemia global) o parcial (isquemia focal).
- Según su duración, la isquemia focal se diferencia en:
  - Accidente isquémico transitorio (AIT): si dura menos de 24 horas y no presenta lesiones radiológicas. Normalmente dura entre 2 y 15 minutos y no deja déficit residual.
  - Infarto cerebral o Ictus isquémico: si dura más de 24 horas. También se considera ictus si dura menos de 24 horas pero se objetiva daño cerebral en pruebas de imagen.
- El término Ictus o Accidente cerebrovascular (ACV) se refiere a un déficit neurológico focal de más de 24 horas o con lesión radiológica confirmada, cuya causa puede ser isquémica (infarto cerebral) o hemorrágica (ictus hemorrágico). (166, 167)

- Fallo renal agudo: según la escala AKIN (*Acute Kidney Injury Network*). (168)

Grado	Criterio creatinina	Criterio urinario
I	Aumento de la creatinina $\geq 0,3$ mg/dl ( $\geq 26,4$ $\mu\text{mol/l}$ ) o aumento de 1,5 a 2 veces sobre el valor basal.	Débito urinario $< 0,5$ ml/Kg/h durante $> 6$ h.
II	Aumento de la creatinina $> 2$ a 3 veces sobre el valor basal	Débito urinario $< 0,5$ ml/Kg/h durante $> 12$ h.
III	Aumento de la creatinina $> 3$ veces sobre el valor basal o Creatinina $> 4$ mg/dl ( $> 354$ $\mu\text{mol/l}$ ) + aumento agudo $\geq 0,5$ mg/dl ( $\geq 44$ $\mu\text{mol/l}$ ) o Necesidad de terapia de reemplazo renal.	Débito urinario $< 0,3$ ml/Kg/h durante 24h o Anuria durante 12h.

**VIII.1.b. Ecocardiográficas:**

- Volumen sistólico (VS): es el volumen de sangre que eyecta el ventrículo en cada latido. Se calcula restando el volumen al final de la diástole menos el volumen al final de la sístole.
- Volumen telediastólico (VTD): volumen al final de la diástole.
- Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI): es una proporción expresada en forma de porcentaje que relaciona el volumen sistólico con el volumen telediastólico.

$$FEVI = \frac{VS}{VTDVI}$$

siendo *VS* el volumen sistólico (volumen de sangre eyectado durante la sístole) y *VTDVI* el volumen telediastólico del ventrículo izquierdo (Volumen de sangre que hay en el ventrículo izquierdo a l final de la diástole).

El grado de función ventricular izquierda se clasifica según la FEVI:

<b>Función del Ventrículo izquierdo</b>	<b>Definición</b>
Normal	FEVI ≥ 60%
Disfunción ligera	FEVI 50-59%
Disfunción moderada	FEVI 30-49%
Disfunción severa	FEVI < 30%

A efectos prácticos en la mayor parte de los estudios se considera dentro de la normalidad cuando es mayor al 50%.

- Dilatación del ventrículo izquierdo: es un mecanismo compensatorio del ventrículo izquierdo para aumentar el volumen sistólico eyectado. Se valora con el diámetro telediastólico (DTDVI). El valor medio normal del DTDVI es 48mm (con rango 36-54mm) (169). En este estudio se consideró dilatado por encima de 55 mm.

- Dilatación de la aurícula izquierda: la aurícula izquierda se dilata para compensar el exceso de volumen y de presión, que suele ser consecuencia del retorno de sangre desde el ventrículo izquierdo a través de la válvula mitral cuando ésta es incompetente (regurgitación mitral). Se considera que la aurícula izquierda está dilatada cuando su diámetro es mayor a 40 mm (170).

## VIII.2. CONCEPTOS SOBRE MATERIAL Y TÉCNICAS:

### VIII.2.a. **Reactivos y kits:**

- **Primers**: los *primers* o cebadores son pequeñas piezas de ADN que se anillan a secuencias específicas en los extremos opuestos del gen del ARN ribosómico 16S, uno en cada hebra de ADN. Una vez que los "primers" se anillan, la enzima ADN polimerasa "copia" y extiende el ADN desde el extremo 5' hasta el 3' final. Los *primers* se seleccionan de manera que cuando se forman las dos nuevas copias, ellos se superponen ("*overlap*") en la región de interés.

### VIII.2.b. **Equipamiento:**

- TERMOCICLADOR PARA PCR EN TIEMPO-REAL (RT-PCR): (171)

Un termociclador es un aparato utilizado para amplificar fragmentos de ADN (o ARN), mediante *polymerase chain reaction*.

Existen diferentes tipos de termocicladores. El que permite la *RT-PCR* es capaz de detectar la fluorescencia de una longitud de onda específica que emite un fluorocromo que se une a la muestra.

- Componentes:
  - **Bloque de resistencia eléctrica**: distribuye una temperatura homogénea a través de una placa durante tiempos que pueden ser programables, normalmente con rangos de temperatura de 4°C a 96°C donde ocurre la desnaturalización, hibridación y extensión de una molécula de ADN
  - **Tecnología o Efecto Peltier**: creación de una diferencia de temperatura debido a un voltaje eléctrico. Ofrece mejor uniformidad en la temperatura y rampas de incremento y decremento de la

temperatura mucho más pronunciadas, obteniendo mejores resultados en los procesos de la PCR

- Aplicaciones:
  - Cuantificación de la expresión genética.
  - Uso diagnóstico: detección de cáncer, enfermedades infecciosas.
  - Cuantificación de la transcripción genética.
  - Genotipado.
  - Detección de organismos modificados genéticamente.

- AMPLIFICADOR EPC-10 (HEKA ELEKTRONIK) (172, 173):

Es un sistema que, combinado con el software Patchmaster y Fitmaster de HEKA, permite la adquisición y análisis de datos electrofisiológicos obtenidos mediante *patch-clamp*: análisis de la curva corriente-voltaje, análisis de corrientes y potenciales espontáneos y evocados, análisis simple de canales, análisis del potencial de acción, histograma de amplitud, ajuste de curva dosis-respuesta y análisis de espectros de potencia.



**Figura 109.** Amplificador EPC-10 HEKA.

- Componentes del Hardware:

Consiste en un *Headstage* o sonda y la unidad principal de amplificación, que incluye el equipo electrónico de procesamiento de señales, los convertidores analógico-digital y digital-analógico, y los conectores de entrada y salida de las señales analógica y digital.

- Ventajas:
  - Permite el acceso y almacenamiento de las variables que configuran un experimento.
  - El control mediante ordenador permite al usuario automatizar los experimentos.

### VIII.2.c. Técnicas:

- Polymerase chain reaction (PCR):

Es una técnica de biología molecular para producir un aumento exponencial del número de copias de un fragmento específico de ADN mediante ciclismo térmico a través de dos o tres temperaturas diferentes (174, 175).

- Real Time-PCR (RT-PCR):

Es una variación de la técnica de PCR convencional que permite cuantificar la cantidad de un fragmento específico de ADN presente en la muestra. Para ello se utiliza una sonda fluorescente que se une al fragmento diana. La cuantificación se realiza en base al cálculo del umbral de intensidad de fluorescencia dependiendo del número de fragmentos de ADN amplificados en cada ciclo térmico durante la PCR (174, 175).

- Cycle threshold (Ct):

Es el número de ciclos necesarios para que la señal fluorescente supere el umbral. Los niveles de Ct son inversamente proporcionales a la cantidad de ácido nucleico a estudiar, es decir, cuanto menor es el nivel de Ct, mayor cantidad de ADN hay en la muestra.

## VIII.3. FORMULARIO: "HOJA DE RECOGIDA DE DATOS":

ESTUDIO FAPC-MITOCONDRIA Y HOMEOSTASIS CALCIO							
Datos paciente:		Fecha IQ		Código identificación:			
- Nombre:							
- NHC:							
- Edad:							
Peso/	Kg.	Talla/	cm.	Sup. Corporal/	m2.	IMC/	Kg/m2
Raza: <input type="checkbox"/> Caucásico <input type="checkbox"/> Africano <input type="checkbox"/> Oriental <input type="checkbox"/> Otros							
<b>ANTECEDENTES</b>							
<input type="checkbox"/> HTA <input type="checkbox"/> DM <input type="checkbox"/> DLP <input type="checkbox"/> Tabaquismo <input type="checkbox"/> EPOC <input type="checkbox"/> Arteriopatía periférica							
Síntomatología: NYHA CF Angina CCS							
Ecocardiografía: FEVI DTdVI mm Dilatación AI (> 40mm): <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No mm							
Ritmo previo: <input type="checkbox"/> RS							
<input type="checkbox"/> FA: <input type="checkbox"/> Paroxística. Ritmo al ingreso: <input type="checkbox"/> RS <input type="checkbox"/> FA							
<input type="checkbox"/> Persistente							
<input type="checkbox"/> Permanente							
<input type="checkbox"/> Marcapasos							
<input type="checkbox"/> BAV: <input type="checkbox"/> 1er G <input type="checkbox"/> 2º G <input type="checkbox"/> 3er G							
IRC: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Creatinina basal: µmol/L FG: ml/min Diálisis: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No							
<b>TRATAMIENTO PREVIO</b>							
<input type="checkbox"/> AAS <input type="checkbox"/> Anticoagulantes <input type="checkbox"/> IECAS <input type="checkbox"/> ARA II <input type="checkbox"/> Estatinas							
<input type="checkbox"/> B-bloqueantes <input type="checkbox"/> Digitálicos <input type="checkbox"/> Antiarrítmicos <input type="checkbox"/> ACA							
<b>CIRUGIA PRACTICADA</b>							
<input type="checkbox"/> Válvula mitral <input type="checkbox"/> Válvula aórtica <input type="checkbox"/> Válvula tricúspide <input type="checkbox"/> AoAsc							
<input type="checkbox"/> Cardiopatía isquémica: N° by-passes: ..... <input type="checkbox"/> Otros .....							
Tiempo CEC min Tiempo CI. Aórtico min							
Tipo de Cardioplejia: <input type="checkbox"/> Miniplejia <input type="checkbox"/> Cristaloides: <input type="checkbox"/> fría <input type="checkbox"/> inducción caliente							
Transfusiones <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO							
<b>CURSO POSTOPERATORIO</b>							
<b>COMPLICACIONES</b> <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO							
<input type="checkbox"/> IAM <input type="checkbox"/> SBGC/ Shock cardiogénico <input type="checkbox"/> Necesidad inotrópicos <input type="checkbox"/> PCR/Arritmias ventriculares <input type="checkbox"/> CVE							
<input type="checkbox"/> EAP <input type="checkbox"/> IRA: <input type="checkbox"/> Necesidad HDFVVC/HD <input type="checkbox"/> Transfusiones							
Tnos neurológicos: <input type="checkbox"/> ACV <input type="checkbox"/> AIT							
Ritmo postoperatorio:							
<input type="checkbox"/> FAPC: <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> no							
<input type="checkbox"/> Paroxística: n° de episodios ..... Dosis de amiodarona ..... Necesidad CVE .....							
<input type="checkbox"/> Persistente							
<input type="checkbox"/> Permanente							
<input type="checkbox"/> BAV post-icq <input type="checkbox"/> MCP definitivo							
Ritmo al alta: <input type="checkbox"/> RS <input type="checkbox"/> FA <input type="checkbox"/> Ritmo MCP <input type="checkbox"/> (Éxito)							
<input type="checkbox"/> Necesidad ACO ..... <input type="checkbox"/> Hemorragia con ACOs							
Fecha alta UCI:		Estancia UCI:		Fecha alta Sala:		Postoperat total: Status al alta:	
<b>FACTORES MITOCONDRIALES:</b>							
Haplogrupo		Subhaplogrupo		Cont ADNmt		Daño oxidativo <input type="checkbox"/> Delección 4977 pb	
<b>FACTORES CELULARES Y ELECTROFISIOLÓGICOS:</b>							
Tamaño celular		Corriente entrada (I <sub>Ca</sub> )		Liberación espontánea (I <sub>NCx</sub> )			

## **IX. BIBLIOGRAFÍA**

---





1. Schram G, Pourrier M, Melnyk P, Nattel S. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. *Circ Res.* 2002;90(9):939-50.
2. Mill MR, Wilcox BR, Anderson RH. Surgical Anatomy of the Heart. In: Cohn LH, editor. *Cardiac Surgery in the Adult*. Third ed. Boston: Mc Graw Hill; 2008. p. 29-49.
3. Mont L, Brugada J. Arritmias cardíacas. In: Farreras P, Rozman C, editors. *Medicina Interna*. I. 15ª ed. Madrid: Elsevier; 2004. p. 498-9.
4. Gaztanaga L, Marchlinski FE, Betensky BP. Mechanisms of cardiac arrhythmias. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2012;65(2):174-85.
5. Bover R, Villacastín J, Pérez-Castellano N, Moreno J, Morales R, Macaya C. Suppression of Supraventricular and Ventricular Arrhythmias. What is the Role of Omega-3 Fatty Acids? *Rev Esp Cardiol Supl*. 2006(6):38D-51D.
6. The University of Nottingham, School of Health Sciences [Internet]. Nottingham: UK Campus; [consulta el 10 de octubre de 2013]. Available from: [http://www.nottingham.ac.uk/nursing/practice/resources/cardiology/function/sinus\\_rythm.php](http://www.nottingham.ac.uk/nursing/practice/resources/cardiology/function/sinus_rythm.php).
7. Universidad Inca Garcilaso de la Vega [Internet]. Lima: UIGV; 2008 [consulta el 15 de octubre 2013]. Available from: <http://www.monografias.com/trabajos57/contraccion-muscular/contraccion-muscular2.shtml>.
8. Alberts B, Gray D, Lewis J, Raf M, Robberts K, Watson J. The cytoskeleton. *Molecular biology of the cell*. Tercera ed. New York: Garland Publishing; 1996.
9. Farias A. Available from: <https://sites.google.com/site/preupsubiologia/sistemanervioso>.
10. Molina CE. Homeostasis del calcio en miocitos auriculares humanos: papel del remodelado de los receptores de adenosina A2A en la fibrilación auricular. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona; 2009.
11. DiFrancesco D. The role of the funny current in pacemaker activity. *Circ Res*. 2010;106(3):434-46.
12. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002;415(6868):198-205.
13. Latorre RL-B, J.; Bezanilla, F.; Llinás, R. *Biofísica y Fisiología celular*. Sevilla: Universidad de Sevilla; 1996. 713 p.

14. Choi E, Cha MJ, Hwang KC. Roles of Calcium Regulating MicroRNAs in Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury. *Cell*. 2014;3(3):899-913.
15. Yang E, Schulman H. Structural examination of autoregulation of multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem*. 1999;274(37):26199-208.
16. Song YH. A Memory Molecule, Ca(2+)/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II and Redox Stress; Key Factors for Arrhythmias in a Diseased Heart. *Korean Circ J*. 2013;43(3):145-51.
17. Hudmon A, Schulman H. Structure-function of the multifunctional Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II. *Biochem J*. 2002;364(Pt 3):593-611.
18. Swaminathan PD, Purohit A, Hund TJ, Anderson ME. Calmodulin-dependent protein kinase II: linking heart failure and arrhythmias. *Circ Res*. 2012;110(12):1661-77.
19. Hamm C.W. WS. Taquiarritmias supraventriculares. El electrocardiograma: su interpretación práctica. 3rd ed: Editorial Panamericana; 2010. p. 112-41.
20. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, et al. 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J*. 2012;33(21):2719-47.
21. Herrador R. Las Urgencias y yo [Internet]. Available from: <http://raquelherradormaroto.blogspot.com.es/2013/03/12032013-la-fibrilacion-auricular-en-el.html>.
22. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, et al. 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(18):2370-5.
23. Heeringa J, van der Kuip DA, Hofman A, Kors JA, van Herpen G, Stricker BH, et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. *Eur Heart J*. 2006;27(8):949-53.
24. European Heart Rhythm A, European Association for Cardio-Thoracic S, Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2010;31(19):2369-429.

25. Kirchhof P, Auricchio A, Bax J, Crijns H, Camm J, Diener HC, et al. Outcome parameters for trials in atrial fibrillation: executive summary. *Eur Heart J*. 2007;28(22):2803-17.
26. Knecht S, Oelschläger C, Duning T, Lohmann H, Albers J, Stehling C, et al. Atrial fibrillation in stroke-free patients is associated with memory impairment and hippocampal atrophy. *Eur Heart J*. 2008;29(17):2125-32.
27. Thrall G, Lane D, Carroll D, Lip GY. Quality of life in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Am J Med*. 2006;119(5):448 e1-19.
28. Maisel WH, Rawn JD, Stevenson WG. Atrial fibrillation after cardiac surgery. *Ann Intern Med*. 2001;135(12):1061-73.
29. Daoud EG, Bogun F, Goyal R, Harvey M, Man KC, Strickberger SA, et al. Effect of atrial fibrillation on atrial refractoriness in humans. *Circulation*. 1996;94(7):1600-6.
30. Bosch RF, Nattel S. Cellular electrophysiology of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2002;54(2):259-69.
31. Hove-Madsen L, Llach A, Bayes-Genis A, Roura S, Rodríguez Font E, Aris A, et al. Atrial fibrillation is associated with increased spontaneous calcium release from the sarcoplasmic reticulum in human atrial myocytes. *Circulation*. 2004;110(11):1358-63.
32. Van Wagoner DR, Pond AL, Lamorgese M, Rossie SS, McCarthy PM, Nerbonne JM. Atrial L-type  $Ca^{2+}$  currents and human atrial fibrillation. *Circ Res*. 1999;85(5):428-36.
33. Kim YM, Guzik TJ, Zhang YH, Zhang MH, Kattach H, Ratnatunga C, et al. A myocardial Nox2 containing NAD(P)H oxidase contributes to oxidative stress in human atrial fibrillation. *Circ Res*. 2005;97(7):629-36.
34. Ai X, Curran JW, Shannon TR, Bers DM, Pogwizd SM.  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor phosphorylation and sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  leak in heart failure. *Circ Res*. 2005;97(12):1314-22.
35. Bers DM. Beyond beta blockers. *Nat Med*. 2005;11(4):379-80.
36. Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J*. 1959;58(1):59-70.
37. Lubitz SA, Yi BA, Ellinor PT. Genetics of atrial fibrillation. *Heart Fail Clin*. 2010;6(2):239-47.

38. Darbar D. Genetics of atrial fibrillation: rare mutations, common polymorphisms, and clinical relevance. *Heart Rhythm*. 2008;5(3):483-6.
39. Montoya J. Biogénesis y Patología mitocondrial. *Rev Real Academia de Ciencias Zaragoza* 2005;60:7-28.
40. Iáñez E. ATP sintasa: Universidad de Granada; [updated 2006]. Available from: <http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/images/10atpasa.JPG>.
41. Campos Y, Martín MA, Arenas J. Déficit bioquímicos de la cadena respiratoria mitocondrial. En: Crespo PS, Vázquez AB, editores. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2006. p. 479-88.
42. Wikimedia. Mitochondrial genome. Available from: [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/Mitochondrial\\_genome\\_\(spanish\).PNG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/Mitochondrial_genome_(spanish).PNG).
43. Torroni A, Schurr TG, Yang CC, Szathmary EJ, Williams RC, Schanfield MS, et al. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*. 1992;130(1):153-62.
44. Torroni A, Bandelt HJ, Macaulay V, Richards M, Cruciani F, Rengo C, et al. A signal, from human mtDNA, of postglacial recolonization in Europe. *Am J Hum Genet*. 2001;69(4):844-52.
45. Mitomap. Human mtDNA migrations. Available from: <http://www.mitomap.org/pub/MITOMAP/MitomapFigures/WorldMigrations2013.pdf>.
46. Mishmar D, Ruiz-Pesini E, Golik P, Macaulay V, Clark AG, Hosseini S, et al. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(1):171-6.
47. Wallace DC, Ruiz-Pesini E, Mishmar D. mtDNA variation, climatic adaptation, degenerative diseases, and longevity. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2003;68:479-86.
48. Díez C, Lapeña AC. Parte II: Haplogrupos mitocondriales, daño oxidativo y ejercicio. In: Lizalde E, editor. *Genética y Deporte* Madrid: Consejo Superior ICD.2011. p. 121-51.
49. Larsen S, Díez-Sánchez C, Rabøl R, Ara I, Dela F, Helge JW. Increased intrinsic mitochondrial function in humans with mitochondrial haplogroup H. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1837(2):226-31.

50. Martinez-Redondo D, Marcuello A, Casajus JA, Ara I, Dahmani Y, Montoya J, et al. Human mitochondrial haplogroup H: the highest VO<sub>2</sub>max consumer--is it a paradox? *Mitochondrion*. 2010;10(2):102-7.
51. Berardo A, Musumeci O, Toscano A. Cardiological manifestations of mitochondrial respiratory chain disorders. *Acta Myol*. 2011;30(1):9-15.
52. Lai LP, Tsai CC, Su MJ, Lin JL, Chen YS, Tseng YZ, et al. Atrial fibrillation is associated with accumulation of aging-related common type mitochondrial DNA deletion mutation in human atrial tissue. *Chest*. 2003;123(2):539-44.
53. Lin PH, Lee SH, Su CP, Wei YH. Oxidative damage to mitochondrial DNA in atrial muscle of patients with atrial fibrillation. *Free Radic Biol Med*. 2003;35(10):1310-8.
54. Zheng Y, Luo X, Zhu J, Zhang X, Zhu Y, Cheng H, et al. Mitochondrial DNA 4977 bp deletion is a common phenomenon in hair and increases with age. *Bosn J Basic Med Sci*. 2012;12(3):187-92.
55. Park HW, Ahn Y, Jeong MH, Cho JG, Park JC, Kang JC, et al. Chronic atrial fibrillation associated with somatic mitochondrial DNA mutations in human atrial tissue. *J Clin Pathol*. 2007;60(8):948-50.
56. Erickson JR, He BJ, Grumbach IM, Anderson ME. CaMKII in the cardiovascular system: sensing redox states. *Physiol Rev*. 2011;91(3):889-915.
57. Rodrigo R, Libuy M, Feliu F, Hasson D. Molecular basis of cardioprotective effect of antioxidant vitamins in myocardial infarction. *Biomed Res Int*. 2013;2013:437613.
58. Lev D, Nissenkorn A, Leshinsky-Silver E, Sadeh M, Zeharia A, Garty BZ, et al. Clinical presentations of mitochondrial cardiomyopathies. *Pediatr Cardiol*. 2004;25(5):443-50.
59. Marin-Garcia J, Goldenthal MJ. Understanding the impact of mitochondrial defects in cardiovascular disease: a review. *J Card Fail*. 2002;8(5):347-61.
60. Fosslien E. Review: Mitochondrial medicine--cardiomyopathy caused by defective oxidative phosphorylation. *Ann Clin Lab Sci*. 2003;33(4):371-95.
61. O'Connor JE, Álvarez A, Corrochano V, Callaghan RC. Oxidative stress and calcium homeostasis. *Monography IV: Bioquímica y Fisiología del estrés oxidativo*. p. 201-23.
62. Orrenius S, McConkey DJ, Bellomo G, Nicotera P. Role of Ca<sup>2+</sup> in toxic cell killing. *Trends Pharmacol Sci*. 1989;10(7):281-5.

63. Nicotera P, Bellomo G, Orrenius S. The role of Ca<sup>2+</sup> in cell killing. *Chem Res Toxicol.* 1990;3(6):484-94.
64. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007;87(1):245-313.
65. Wang G, Anrather J, Huang J, Speth RC, Pickel VM, Iadecola C. NADPH oxidase contributes to angiotensin II signaling in the nucleus tractus solitarius. *J Neurosci.* 2004;24(24):5516-24.
66. Li A, Segui J, Heinemann SH, Hoshi T. Oxidation regulates cloned neuronal voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels expressed in *Xenopus* oocytes. *J Neurosci.* 1998;18(17):6740-7.
67. Liu G, Pessah IN. Molecular interaction between ryanodine receptor and glycoprotein triadin involves redox cycling of functionally important hyperreactive sulfhydryls. *J Biol Chem.* 1994;269(52):33028-34.
68. Cheranov SY, Jaggar JH. TNF-alpha dilates cerebral arteries via NAD(P)H oxidase-dependent Ca<sup>2+</sup> spark activation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290(4):C964-71.
69. Biswas S, Chida AS, Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem Pharmacol.* 2006;71(5):551-64.
70. Granados MP, Salido GM, Gonzalez A, Pariente JA. Dose-dependent effect of hydrogen peroxide on calcium mobilization in mouse pancreatic acinar cells. *Biochem Cell Biol.* 2006;84(1):39-48.
71. Erickson JR, Joiner ML, Guan X, Kutschke W, Yang J, Oddis CV, et al. A dynamic pathway for calcium-independent activation of CaMKII by methionine oxidation. *Cell.* 2008;133(3):462-74.
72. Purohit A, Rokita AG, Guan X, Chen B, Koval OM, Voigt N, et al. Oxidized Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation. *Circulation.* 2013;128(16):1748-57.
73. Liu M, Sanyal S, Gao G, Gurung IS, Zhu X, Gaconnet G, et al. Cardiac Na<sup>+</sup> current regulation by pyridine nucleotides. *Circ Res.* 2009;105(8):737-45.
74. Yang KC, Dudley SC, Jr. Oxidative stress and atrial fibrillation: finding a missing piece to the puzzle. *Circulation.* 2013;128(16):1724-6.
75. Peralta JG. Rol del potasio en la actividad y metabolismo celular. *Separata línea Montpellier.* 2009;17(3):1-33.
76. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med.* 2000;6(5):513-9.

77. Heusch G, Boengler K, Schulz R. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the Holy Grail of cardioprotection. *Basic Res Cardiol*. 2010;105(2):151-4.
78. Hunter DR, Haworth RA. The Ca<sup>2+</sup>-induced membrane transition in mitochondria. III. Transitional Ca<sup>2+</sup> release. *Arch Biochem Biophys*. 1979;195(2):468-77.
79. Hamon JW. Chapter 12: Extracorporeal circulation. En: Cohn LH, editor. *Cardiac surgery in the adult*. Third ed: Mc Graw Hill; 2008. p. 349-414.
80. Chelazzi C, Villa G, De Gaudio AR. Postoperative atrial fibrillation. *ISRN Cardiol*. 2011;2011:203179.
81. Hogue CW, Jr., Creswell LL, Gutterman DD, Fleisher LA, American College of Chest P. Epidemiology, mechanisms, and risks: American College of Chest Physicians guidelines for the prevention and management of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Chest*. 2005;128(2 Suppl):9S-16S.
82. Maesen B, Nijs J, Maessen J, Allessie M, Schotten U. Post-operative atrial fibrillation: a maze of mechanisms. *Europace*. 2012;14(2):159-74.
83. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation*. 1997;96(4):1180-4.
84. Chen MC, Chang JP, Liu WH, Yang CH, Chen YL, Tsai TH, et al. Increased inflammatory cell infiltration in the atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2008;102(7):861-5.
85. Ishii Y, Schuessler RB, Gaynor SL, Yamada K, Fu AS, Boineau JP, et al. Inflammation of atrium after cardiac surgery is associated with inhomogeneity of atrial conduction and atrial fibrillation. *Circulation*. 2005;111(22):2881-8.
86. Melo J, Voigt P, Sonmez B, Ferreira M, Abecasis M, Rebocho M, et al. Ventral cardiac denervation reduces the incidence of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;127(2):511-6.
87. Creswell LL, Alexander JC, Jr., Ferguson TB, Jr., Lisbon A, Fleisher LA, American College of Chest P. Intraoperative interventions: American College of Chest Physicians guidelines for the prevention and management of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Chest*. 2005;128(2 Suppl):28S-35S.
88. Fleming GA, Murray KT, Yu C, Byrne JG, Greelish JP, Petracek MR, et al. Milrinone use is associated with postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Circulation*. 2008;118(16):1619-25.



89. Boos CJ, Anderson RA, Lip GY. Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? *Eur Heart J*. 2006;27(2):136-49.
90. Edwards JD, Wilkins RG. Atrial fibrillation precipitated by acute hypovolaemia. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1987;294(6567):283-4.
91. Jakobsen CJ, Bille S, Ahlburg P, Rybro L, Hjortholm K, Andresen EB. Perioperative metoprolol reduces the frequency of atrial fibrillation after thoracotomy for lung resection. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1997;11(6):746-51.
92. Christians KK, Wu B, Quebbeman EJ, Brasel KJ. Postoperative atrial fibrillation in noncardiothoracic surgical patients. *Am J Surg*. 2001;182(6):713-5.
93. Sun LS, Adams DC, Delphin E, Graham J, Meltzer E, Rose EA, et al. Sympathetic response during cardiopulmonary bypass: mild versus moderate hypothermia. *Crit Care Med*. 1997;25(12):1990-3.
94. Patel D, Gillinov MA, Natale A. Atrial fibrillation after cardiac surgery: where are we now? *Indian Pacing Electrophysiol J*. 2008;8(4):281-91.
95. Workman AJ, Pau D, Redpath CJ, Marshall GE, Russell JA, Kane KA, et al. Postoperative atrial fibrillation is influenced by beta-blocker therapy but not by preoperative atrial cellular electrophysiology. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006;17(11):1230-8.
96. Osranek M, Fatema K, Qaddoura F, Al-Saileek A, Barnes ME, Bailey KR, et al. Left atrial volume predicts the risk of atrial fibrillation after cardiac surgery: a prospective study. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(4):779-86.
97. Markides V, Schilling RJ. Atrial fibrillation: classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment. *Heart*. 2003;89(8):939-43.
98. Vardas PE, Vemmos K, Sideris DA, Mouloupoulos SD. Susceptibility of the right and left canine atria to fibrillation in hyperglycemia and hypoglycemia. *J Electrocardiol*. 1993;26(2):147-53.
99. Quinn DW, Pagano D, Bonser RS. Glucose and insulin influences on heart and brain in cardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2005;9(2):173-8.
100. Park YJ, Yoon JW, Kim KI, Lee YJ, Kim KW, Choi SH, et al. Subclinical hypothyroidism might increase the risk of transient atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 2009;87(6):1846-52.
101. Cerillo AG, Bevilacqua S, Storti S, Mariani M, Kallushi E, Ripoli A, et al. Free triiodothyronine: a novel predictor of postoperative atrial fibrillation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003;24(4):487-92.

102. Suleiman MS, Zacharowski K, Angelini GD. Inflammatory response and cardioprotection during open-heart surgery: the importance of anaesthetics. *Br J Pharmacol.* 2008;153(1):21-33.
103. Kim YM, Kattach H, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM, Casadei B. Association of atrial nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity with the development of atrial fibrillation after cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(1):68-74.
104. Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, Reiser PJ, McCarthy PM, Van Wagoner DR, et al. Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation.* 2001;104(2):174-80.
105. Sovari AA, Dudley SC, Jr. Reactive oxygen species-targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation. *Front Physiol.* 2012;3:311.
106. Zakkar M, Ascione R, James AF, Angelini GD, Suleiman MS. Inflammation, oxidative stress and postoperative atrial fibrillation in cardiac surgery. *Pharmacol Ther.* 2015.
107. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J.* 1995;307(Pt 1):93-8.
108. Montaigne D, Marechal X, Lefebvre P, Modine T, Fayad G, Dehondt H, et al. Mitochondrial dysfunction as an arrhythmogenic substrate: a translational proof-of-concept study in patients with metabolic syndrome in whom post-operative atrial fibrillation develops. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(16):1466-73.
109. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J.* 1999;341(Pt 2):233-49.
110. Reilly SN, Jayaram R, Nahar K, Antoniadis C, Verheule S, Channon KM, et al. Atrial sources of reactive oxygen species vary with the duration and substrate of atrial fibrillation: implications for the antiarrhythmic effect of statins. *Circulation.* 2011;124(10):1107-17.
111. Goh SL, Yap KH, Chua KC, Chao VT. Does preoperative statin therapy prevent postoperative atrial fibrillation in patients undergoing cardiac surgery? *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015;20(3):422-8.
112. Kuhn EW, Liakopoulos OJ, Stange S, Deppe AC, Slottosch I, Choi YH, et al. Preoperative statin therapy in cardiac surgery: a meta-analysis of 90,000 patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45(1):17-26.

113. Ho KM, Tan JA. Benefits and risks of corticosteroid prophylaxis in adult cardiac surgery: a dose-response meta-analysis. *Circulation*. 2009;119(14):1853-66.
114. Whitlock RP, Chan S, Devereaux PJ, Sun J, Rubens FD, Thorlund K, et al. Clinical benefit of steroid use in patients undergoing cardiopulmonary bypass: a meta-analysis of randomized trials. *Eur Heart J*. 2008;29(21):2592-600.
115. Mauermann WJ, Nuttall GA, Cook DJ, Hanson AC, Schroeder DR, Oliver WC. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass does not decrease the incidence of atrial fibrillation after cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2010;110(2):329-34.
116. Papoulidis P, Ananiadou O, Chalvatzoulis E, Ampatzidou F, Koutsogiannidis C, Karaiskos T, et al. The role of ascorbic acid in the prevention of atrial fibrillation after elective on-pump myocardial revascularization surgery: a single-center experience--a pilot study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011;12(2):121-4.
117. Gu WJ, Wu ZJ, Wang PF, Aung LH, Yin RX. N-Acetylcysteine supplementation for the prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: a meta-analysis of eight randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc Disord*. 2012;12:10.
118. Ozaydin M, Icli A, Yucel H, Akcay S, Peker O, Erdogan D, et al. Metoprolol vs. carvedilol or carvedilol plus N-acetyl cysteine on post-operative atrial fibrillation: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur Heart J*. 2013;34(8):597-604.
119. Kimura Y, Sato M, Kurotani K, Nanri A, Kawai K, Kasai H, et al. PUFAs in serum cholesterol ester and oxidative DNA damage in Japanese men and women. *Am J Clin Nutr*. 2012;95(5):1209-14.
120. Billman GE, Harris WS. Effect of dietary omega-3 fatty acids on the heart rate and the heart rate variability responses to myocardial ischemia or submaximal exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(6):H2288-99.
121. Zhang B, Zhen Y, Tao A, Bao Z, Zhang G. Polyunsaturated fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. *J Cardiol*. 2014;63(1):53-9.
122. Rodrigo R, Korantzopoulos P, Cereceda M, Asenjo R, Zamorano J, Villalabeitia E, et al. A randomized controlled trial to prevent post-operative atrial fibrillation by antioxidant reinforcement. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(16):1457-65.
123. White CM, Kluger J, Lertsburapa K, Faheem O, Coleman CI. Effect of preoperative angiotensin converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker use on the frequency of atrial fibrillation after cardiac surgery: a cohort study from the

- atrial fibrillation suppression trials II and III. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007;31(5):817-20.
124. Rader F, Van Wagoner DR, Gillinov AM, Blackstone EH. Preoperative angiotensin-blocking drug therapy is not associated with atrial fibrillation after cardiac surgery. *Am Heart J.* 2010;160(2):329-36 e1.
125. Pretorius M, Murray KT, Yu C, Byrne JG, Billings FTt, Petracek MR, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition or mineralocorticoid receptor blockade do not affect prevalence of atrial fibrillation in patients undergoing cardiac surgery. *Crit Care Med.* 2012;40(10):2805-12.
126. Riess ML, Camara AK, Novalija E, Chen Q, Rhodes SS, Stowe DF. Anesthetic preconditioning attenuates mitochondrial Ca<sup>2+</sup> overload during ischemia in Guinea pig intact hearts: reversal by 5-hydroxydecanoic acid. *Anesth Analg.* 2002;95(6):1540-6.
127. Novalija E, Varadarajan SG, Camara AK, An J, Chen Q, Riess ML, et al. Anesthetic preconditioning: triggering role of reactive oxygen and nitrogen species in isolated hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283(1):H44-52.
128. An J, Varadarajan SG, Novalija E, Stowe DF. Ischemic and anesthetic preconditioning reduces cytosolic [Ca<sup>2+</sup>] and improves Ca(2+) responses in intact hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281(4):H1508-23.
129. Hemmerling TM, Minardi C, Zaouter C, Noiseux N, Prieto I. Sevoflurane causes less arrhythmias than desflurane after off-pump coronary artery bypass grafting: a pilot study. *Ann Card Anaesth.* 2010;13(2):116-22.
130. Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. DNA isolation. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 1. New York: John Inglis. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 2012.
131. Marcuello A, Martinez-Redondo D, Dahmani Y, Casajus JA, Ruiz-Pesini E, Montoya J, et al. Human mitochondrial variants influence on oxygen consumption. *Mitochondrion.* 2009;9(1):27-30.
132. Macaulay V, Richards M, Hickey E, Vega E, Cruciani F, Guida V, et al. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs. *Am J Hum Genet.* 1999;64(1):232-49.
133. Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Diez-Sanchez C, Perez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, et al. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet.* 2000;67(3):682-96.

134. Dominguez-Garrido E, Martinez-Redondo D, Martin-Ruiz C, Gomez-Duran A, Ruiz-Pesini E, Madero P, et al. Association of mitochondrial haplogroup J and mtDNA oxidative damage in two different North Spain elderly populations. *Biogerontology*. 2009;10(4):435-42.
135. Mewes T, Ravens U. L-type Calcium Currents of Human Myocytes from Ventricle of Non-failing and Failing Hearts and from Atrium. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26(10):1307-20.
136. Doménech JM, Navarro JB. Proceso de construcción de un modelo predictivo de regresión logística. Selección de variables por pasos. En: Doménech JM, Navarro JB, editores. *Regresión logística binaria, multinomial, de Poisson y binomial negativa. Metodología de la Investigación en Ciencias de la Salud*. Novena ed. Barcelona, España.: Signo; 2016. p. 124-7.
137. Delgado M, Llorca J, Doménech JM. Causalidad. En: Delgado M, Llorca J, Doménech JM, editors. *Investigación científica: Fundamentos metodológicos y estadísticos. Metodología de la Investigación en Ciencias de la Salud*. Octava ed. Barcelona, España: Signo; 2017. p. 27-38.
138. Delgado M, Llorca J, Doménech JM. Análisis con más de dos variables. En: Delgado M, Llorca J, Doménech JM, editors. *Estudios de casos y controles. Metodología de la Investigación en Ciencias de la Salud*. Octava ed. Barcelona, España: Signo; 2017. p. 83-6.
139. Fernandez-Caggiano M, Barallobre-Barreiro J, Rego-Perez I, Crespo-Leiro MG, Paniagua MJ, Grille Z, et al. Mitochondrial haplogroups H and J: risk and protective factors for ischemic cardiomyopathy. *PLoS One*. 2012;7(8):e44128.
140. Fernandez-Caggiano M, Barallobre-Barreiro J, Rego-Perez I, Crespo-Leiro MG, Paniagua MJ, Grille Z, et al. Mitochondrial DNA haplogroup H as a risk factor for idiopathic dilated cardiomyopathy in Spanish population. *Mitochondrion*. 2013;13(4):263-8.
141. Govindaraj P, Khan NA, Rani B, Rani DS, Selvaraj P, Jyothi V, et al. Mitochondrial DNA variations associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Mitochondrion*. 2014;16:65-72.
142. Hagen CM, Aidt FH, Hedley PL, Jensen MK, Havndrup O, Kanters JK, et al. Mitochondrial haplogroups modify the risk of developing hypertrophic cardiomyopathy in a Danish population. *PLoS One*. 2013;8(8):e71904.

143. Diez-Sanchez C, Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Montoya J, Perez-Martos A, Enriquez JA, et al. Mitochondrial DNA content of human spermatozoa. *Biol Reprod.* 2003;68(1):180-5.
144. van der Walt JM, Dementieva YA, Martin ER, Scott WK, Nicodemus KK, Kroner CC, et al. Analysis of European mitochondrial haplogroups with Alzheimer disease risk. *Neurosci Lett.* 2004;365(1):28-32.
145. Malik AN, Czajka A. Is mitochondrial DNA content a potential biomarker of mitochondrial dysfunction? *Mitochondrion.* 2013;13(5):481-92.
146. Qiu C, Hevner K, Abetew D, Sedensky M, Morgan P, Enquobahrie DA, et al. Mitochondrial DNA copy number and oxidative DNA damage in placental tissues from gestational diabetes and control pregnancies: a pilot study. *Clin Lab.* 2013;59(5-6):655-60.
147. Wang YC, Lee WC, Liao SC, Lee LC, Su YJ, Lee CT, et al. Mitochondrial DNA copy number correlates with oxidative stress and predicts mortality in nondiabetic hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2011;24(3):351-8.
148. Kalus JS, Caron MF, White CM, Mather JF, Gallagher R, Boden WE, et al. Impact of fluid balance on incidence of atrial fibrillation after cardiothoracic surgery. *Am J Cardiol.* 2004;94(11):1423-5.
149. Wang L, Tang ZP, Zhao W, Cong BH, Lu JQ, Tang XL, et al. MiR-22/Sp-1 Links Estrogens With the Up-Regulation of Cystathionine gamma-Lyase in Myocardium, Which Contributes to Estrogenic Cardioprotection Against Oxidative Stress. *Endocrinology.* 2015;156(6):2124-37.
150. Satoh M, Matter CM, Ogita H, Takeshita K, Wang CY, Dorn GW, 2nd, et al. Inhibition of apoptosis-regulated signaling kinase-1 and prevention of congestive heart failure by estrogen. *Circulation.* 2007;115(25):3197-204.
151. Wang F, He Q, Sun Y, Dai X, Yang XP. Female adult mouse cardiomyocytes are protected against oxidative stress. *Hypertension.* 2010;55(5):1172-8.
152. Kim JK, Pedram A, Razandi M, Levin ER. Estrogen prevents cardiomyocyte apoptosis through inhibition of reactive oxygen species and differential regulation of p38 kinase isoforms. *J Biol Chem.* 2006;281(10):6760-7.
153. Billings FTt, Pretorius M, Schildcrout JS, Mercaldo ND, Byrne JG, Ikizler TA, et al. Obesity and oxidative stress predict AKI after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(7):1221-8.

154. O'Neal JB, Shaw AD, Billings FTt. Acute kidney injury following cardiac surgery: current understanding and future directions. *Crit Care*. 2016;20(1):187.
155. Du SL, Zeng XZ, Tian JW, Ai J, Wan J, He JX. Advanced oxidation protein products in predicting acute kidney injury following cardiac surgery. *Biomarkers*. 2015;20(3):206-11.
156. Knez J, Winckelmans E, Plusquin M, Thijs L, Cauwenberghs N, Gu Y, et al. Correlates of Peripheral Blood Mitochondrial DNA Content in a General Population. *Am J Epidemiol*. 2016;183(2):138-46.
157. Marcuello A, Gonzalez-Alonso J, Calbet JA, Damsgaard R, Lopez-Perez MJ, Diez-Sanchez C. Skeletal muscle mitochondrial DNA content in exercising humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2005;99(4):1372-7.
158. Ji LL. Exercise-induced oxidative stress in the heart. In: Sen CK, Parker L, Hanninen O, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier; 2000.
159. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2012;33(14):1787-847.
160. Little, Brown, Co. The Criteria Committee of the New York Heart Association. *Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*. 9th ed 1994: 253-256.
161. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, Buszman P, Camici PG, Crea F, et al. Guía sobre el manejo de la angina estable. Version resumida. *Rev Esp Cardiol*. 2006;59(9):919-70.
162. Campeau L. Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation*. 1976;54(3):522-3.
163. Perez Vela JL, Martin Benitez JC, Carrasco Gonzalez M, de la Cal Lopez MA, Hinojosa Perez R, Sagredo Meneses V, et al. Resumen del documento de consenso "Guías de practica clinica para el manejo del sindrome de bajo gasto cardiaco en el postoperatorio de cirugia cardiaca". *Med Intensiva*. 2012;36(4):277-87.
164. Hollenberg SM, Kavinsky CJ, Parrillo JE. Cardiogenic shock. *Ann Intern Med*. 1999;131(1):47-59.

165. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2012;33(20):2551-67.
166. Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke*. 1990;21(4):637-76.
167. Díez-Tejedor E, del Brutto O, Álvarez Sabin J, Muñoz M, Abiusi G, Sociedad Iberoamericana de Enfermedades Cerebrovasculares. Clasificación de las enfermedades cerebrovasculares. *Rev Neurol*. 2001;33(5):455-64.
168. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.
169. Myers JH, Stirling MC, Choy M, Buda AJ, Gallagher KP. Direct measurements of inner and outer wall thickening dynamics with epicardial echocardiography. *Circulation*. 1986;74(1):164-72.
170. Hirata T, Wolfe SB, Popp RL, Helmen CH, Feigenbaum H. Estimation of left atrial size using ultrasound. *Am Heart J*. 1969;78(1):43-52.
171. AllScience. ¿Qué es y cómo funciona un termociclador? 2013. Available from: <https://http://www.e-allscience.com/blogs/news/8477021-que-es-y-como-funciona-un-termociclador>.
172. HEKA Elektronik. <Hardware manual version 2.7 EPC 10 USB.pdf>
173. HEKA Elektronik. Fitmaster. Available from: [http://www.heka.com/products/products\\_main.html](http://www.heka.com/products/products_main.html) - soft fit.
174. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*. 2013;2(2):70-8.
175. Furutani S, Naruishi N, Hagihara Y, Nagai H. Development of an on-site rapid real-time polymerase chain reaction system and the characterization of suitable DNA polymerases for TaqMan probe technology. *Anal Bioanal Chem*. 2016;408(20):5641-9



