

**POLIMORFISMO GENÉTICO 4G/5G EN LA REGIÓN
PROMOTORA DEL GEN DEL INHIBIDOR DEL
ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO-1 EN EL
POSTOPERATORIO DE CIRUGÍA CARDIACA:
IMPLICACIONES PRONÓSTICAS.**

Gonzalo Sirgó Rodríguez

Tesis Doctoral 2006

POLIMORFISMO GENÉTICO 4G/5G EN LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN DEL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO-1 EN EL POSTOPERATORIO DE CIRUGÍA CARDIACA: IMPLICACIONES PRONÓSTICAS.

Tesis presentada por D. Gonzalo Sirgó Rodríguez para acceder al título de Doctor.

Dirigida por el Dr Jordi Rello Condomines, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe del Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario de Tarragona Joan XXIII, y Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universidad Rovira i Virgili de Tarragona.

Y adscrita al Departamento de Medicina y Cirugía de la Universidad Rovira i Virgili. Instituto Pere Virgili de Tarragona.

Financiada, en parte, por las Becas MAPFRE Cardiovascular 2003, Beca FIS PI04/1500, Beca FIS PI05/2410, AGAUR 2005/SGR/920, RTIC 03/11, por el proyecto del VI Programa Marco de la UE Genosept 512155 y, finalmente, formando parte de los Programas de Formación en Investigación postMIR del ISCIII expediente nº CM04/00023.

ÍNDICE

1. Proemio.	11
2. Agradecimientos.	13
3. Motivaciones generales.	17
4. Motivaciones personales.	19
5. Introducción.	22
5.1. Genética del paciente crítico.	22
5.1.1. Estructura de los genes y variabilidad del genoma.	23
5.1.2. Métodos básicos de Estudio del Polimorfismo Genético:	
RFLP.	24
5.2. Aplicaciones específicas de los polimorfismos genéticos en la enfermedad aguda.	25
5.2.1. Genética e infección.	26
5.2.1.1. Genes Candidatos.	27
5.2.1.1.1. Inmunidad Natural.	27
5.2.1.1.2. Citoquinas Proinflamatorias.	30
5.2.1.1.3. Citoquinas Antiinflamatorias.	34
5.2.2. Neurogenética del Paciente Crítico.	34
5.2.3. Genética del síndrome de distrés respiratorio agudo.	34
5.2.4. Farmacogenética.	37
5.3. Perspectivas y limitaciones de los estudios genéticos en el paciente crítico.	39
5.4. Postoperatorio de cirugía cardiaca: un tipo especial de paciente crítico.	41

5.4.1. Circulación extracorpórea, fuente de inflamación.	41
5.4.4.1. Factores preoperatorios.	44
5.4.4.2. Facotes intraoperatorios.	45
5.4.4.3. Factores postoperatorios.	46
5.4.2. Interacciones entre inflamación y coagulación.	48
5.4.3. Coagulación y fibrinólisis durante la CEC.	51
5.4.4. Aspectos genéticos de la cirugía cardiaca.	53
5.5. Inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1)	57
5.5.1. PAI-1: función.	57
5.5.2. Polimorfismo 4G/5G del PAI-1.	60
5.6. Interpretación de los Estudios Genéticos.	62
6. Hipótesis.	66
7. Objetivos.	67
7.1. Objetivos primarios.	67
7.2. Objetivos secundarios.	67
8. Material y Métodos.	68
8.1 Tipo de estudio.	68
8.2. Criterios de Inclusión.	69
8.3. Criterios de Exclusión.	69
8.4. Definición de variables.	69
8.5. Circulación extracorpórea (CEC): procedimiento general.	72
8.6. Protocolo de retirada de ventilación mecánica.	74
8.7. Protocolo de alta de la UCI.	75
8.8. Protocolo de alta del Hospital.	75
8.9. Análisis del polimorfismo 4G/5G del gen del PAI-1.	75

8.10. Formulario de recogida de datos.	77
8.11. Análisis estadístico.	78
9. Resultados.	80
9.1. Población del estudio.	80
9.2. Análisis del genotipo.	80
9.3. Edad.	81
9.4. Género.	81
9.5. Índice de Masa Corporal.	81
9.6. Comorbilidad.	83
9.7. Tratamiento habitual.	85
9.8. Clase funcional preoperatoria.	85
9.9. Riesgo preoperatorio: Escala EuroScore.	86
9.10. Tipo de cirugía.	87
9.11. Características temporales de la cirugía.	88
9.12. Prevención del riesgo de sangrado.	89
9.13. Riesgo de ventilación mecánica prolongada.	90
9.14. Complicaciones neurológicas. Incidencia.	91
9.15. Complicaciones neurológicas. Antecedentes personales.	92
9.16. Complicaciones neurológicas. Variable pre y perioperatorias.	94
9.17. Complicaciones neurológicas globales y genotipos.	96
9.18. Complicaciones neurológicas globales. Análisis multivariante.	97
9.19. Ictus perioperatorios. Antecedentes personales.	98
9.20. Ictus perioperatorios. Variables pre y perioperatorias.	100
9.21. Ictus perioperatorios y genotipos.	101
9.22. Encefalopatía postoperatoria. Antecedentes personales.	102

9.23.	Encefalopatía postoperatoria. Variables pre y perioperatorias.	104
9.24.	Encefalopatía postoperatoria y genotipos.	105
9.25.	Encefalopatía postoperatoria . Análisis multivariante.	106
9.26.	Evolución clínica de las complicaciones neurológicas.	107
9.27.	Drenaje torácico postoperatorio. Genotipos.	108
9.28.	Drenaje torácico postoperatorios por genotipos y en función de medicación preventiva de sangrado: aprotinina.	109
9.29.	Drenaje torácico postoperatorio por genotipos y en función de medicación preventiva de sangrado: ácido tranexámico.	110
9.30.	Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico en las 6 primeras horas. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G.	111
9.31.	Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico en las 24 primeras horas. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G.	112
9.32.	Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico total. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G.	113
9.33.	Reintervención por sangrado.	114
9.34.	Ventilación mecánica prolongada. Antecedentes personales.	115
9.35.	Ventilación mecánica prolongada. Variables pre y perioperatorias.	116
9.36.	Ventilación mecánica prolongada. Genotipos.	118
9.37.	Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas globales.	119
9.38.	Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: ictus.	120
9.39.	Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. complicaciones neurológicas: encefalopatía.	121

9.40.	Estancia prolongada en UCI. Antecedentes personales.	122
9.41.	Estancia prolongada en UCI. Variables pre y perioperatorias.	124
9.42.	Estancia prolongada en UCI. Genotipos.	126
9.43.	Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas globales.	128
9.44.	Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: ictus.	129
9.45.	Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: encefalopatía.	130
9.46.	Estancia hospitalaria prolongada. Antecedentes personales.	131
9.47.	Estancia hospitalaria prolongada. Variables pre y perioperatorias.	133
9.48.	Estancia hospitalaria prolongada. Genotipos.	135
9.49.	Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas globales.	137
9.50.	Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: ictus.	138
9.51.	Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: encefalopatía.	139
9.52.	Otras complicaciones según genotipos.	140
10.	Discusión.	141
10.1.	Población.	141
10.2.	Complicaciones neurológicas.	143
10.2.1.	Incidencia.	143
10.2.2.	Variables relacionadas.	144
10.2.3.	Mecanismos lesionales comunes.	150

10.2.4. Otros mecanismos lesionales.	152
10.2.5. El polimorfismo genético puede potenciar otros factores de riesgo.	154
10.3. Sangrado postoperatorio.	162
10.4. Ventilación mecánica prolongada.	167
10.5. Estancia prolongada en UCI.	170
10.6. Estancia hospitalaria prolongada.	172
10.7. Interpretación clínica.	174
10.8. Otras complicaciones postoperatorias.	177
11. Limitaciones del estudio.	178
12. Implicaciones prácticas.	181
13. Nuevas perspectivas.	184
14. Conclusiones.	188
15. Resumen.	190
16. Abreviaturas.	191
17. Glosario.	194
18. Bibliografía	197

A mi familia, mi equilibrio, a falta de algo
mejor.

A la Dra Emma Muñoz a quien un día la Vida se le presentó con ganas de vendimiar, justamente cuando no tocaba, y ella esgrimiendo un 'A veure' y recolocándose las gafas con un gesto tan suyo plantó cara a la enfermedad y de paso, por aprovechar el viaje (la Dra Muñoz, para quien no la conozca, siempre fue muy práctica), nos dio una lección de madurez a todos. No habrá, créanme, perdices bastantes para un final que nada tiene que ver con un cuento pero que será rematadamente feliz.

1.- PROEMIO.

Avisado lector:

probablemente sea usted una persona de esas que llaman 'de Ciencia', habituada a tomar decisiones clínicas importantes y capaz de manejar, sin darle mayor importancia, cantidades ingentes de información todo ello en aras, naturalmente, de ayudar a los demás. Probablemente, sea usted también, una de esas personas a las que la vocación por las ciencias de la salud un día llamó a su puerta y usted, nimbando la decisión con efluvios de juventud y después de sopesarla haciendo acopio de gestos graves y muecas cerriles apoyándose, ya se lo digo yo, más en los deletéreos pros que en los meridianos contras, se dijo después de reír recio para sus adentros: ¿y por qué no?: la ciencia es lo mío.

Pues me va a perdonar, estimado lector, que le vaya a incomodar con una pregunta toda vez que quizá haya tomado en sus manos esta Tesis por puro azar, curiosidad, pretendiendo (más quisiera yo que fuera así) aprender algo útil para su valiosa formación o, posiblemente en el peor de los casos, se haya usted visto envuelto, por razones que prefiero no conocer, en la concienzuda evaluación de esta Tesis. Decía, pues, que le iba a incomodar, una vez malbaratado su tiempo con exornados preámbulos, con una pregunta que es esta: ¿Cuántas personas vale una Tesis?.

Porque ahora que columbro el final y todo el proceso de la Tesis, por otra parte absolutamente creativo, ha sido circuido veo que se acerca el momento de pagar. Conozco, desde hace tiempo, el precio y este se me antoja despiadadamente caro. No lamento, en modo alguno, haber empleado tiempo ni ingenio en la búsqueda de financiación de este proyecto (porque ya saben que en lo tocante al dinero, por otro lado evidencia clase A, la ciencia es rigurosísima). Tampoco lamento haber leído y releído, ya que mi capacidad de entendimiento es la que es y no otra, gran cantidad de artículos

científicos alguno de ellos tan difíciles de encontrar que parecían artículos arcanos. Mucho menos lamento haber enarbolado una hipótesis, que para mí fue un desafío, gestada en mis últimos años de residencia y madurada con los aires extremadamente fríos de la sierra oeste madrileña allá en un pueblecito llamado Pelayos de la Presa muy cerca, por cierto, de San Martín de Valdeiglesias tierra, a su vez, de excelentes vinos muy apropiados para olvidar penas y Tesis. Tampoco lamento, si les soy sincero, haber empleado horas y horas, sin deliquio alguno y muchas veces viviendo como un alcaraván, haciendo cálculos estadísticos o redactando el manuscrito final de la Tesis. Lo que lamento es, si me permiten una chispa de emoción que se convertirá en pavesa, que durante el periodo de gestación de esta Tesis dos personas que fueron para mí muy importantes, por diferentes motivos y circunstancias, no estarán cerca ahora que empiezo a notar el arrobamiento del trabajo finalizado. Naturalmente las leyes que rigen las relaciones humanas van bastante más allá y tienen más calado que el significado de una Tesis, por eso, no trato de culpa, sería injusto, a un trabajo de investigación del distanciamiento entre las personas, lo que trato de decir es que detrás del investigador está la persona, y este investigador que suscribe, aunque el resultado hubiera sido el mismo y al final, como ha ocurrido, se hayan separado nuestros caminos, hubiera dado la significación de alguna que otra 'p' a cambio de haber compartido con ellas más tiempo.

De manera que como ustedes muy bien podrán suponer, en ocasiones, el orgullo de haber terminado una Tesis que bien puede no pasar, juzguen ustedes, de opúsculo, se ve barnizado, como en este caso, con una capa de densa y brumosa melancolía. No vayan a creer que los investigadores no somos de carne y hueso y que en ocasiones, más veces de las que ustedes piensan, la realidad no nos ciñe a sus rígidas y pragmáticas reglas relegando nuestros sueños a eso, simples sueños.

2. AGRADECIMIENTOS.

Llegada la hora, sería injusto no dejar constancia de mi más respetuoso agradecimiento a las siguientes personas:

Al Dr Jordi Rello Condomines, en lo suyo Maestro de Maestros, por haber aceptado la difícil dirección de esta Tesis dándome, a bocajarro y sin ambages en unas ocasiones y con suntuosas pretericiones en otras, los consejos oportunos que han permitido llevar a puerto, no digo si bueno o malo, el proceso de realización de esta Tesis. En puridad, también debo agradecerle el haberme fichado para su equipo de Primera División cuando el mío naufragaba, falto de ilusión y objetivos, en el pozo de Segunda. Todavía hoy no me explico en qué caramba estaría pensando cuando tomó esa decisión. Porque deben saber ustedes que el equipo médico de la UCI del Hospital Universitario Joan XXIII, sin el que hubiera resultado imposible la realización de esta tesis y al que hago extensivo naturalmente mi agradecimiento, no es un equipo cualquiera y si no fijense en sus mimbres: el Dr Santiago Alonso Rubio que rebosa experiencia y sentido común a la vez que una inefable sensibilidad, la Dra María Bodí Saera que sin saberlo practica una Medicina Intensiva de segunda mitad de siglo XXI y principios del XXII y a quien he visto consolar, en situaciones en las que al consuelo no se le esperaba y ninguno de nosotros sabía donde buscarlo, a familiares de pacientes de una manera que ya quisiera para sí el más instruido, mejor leído y naturalmente practicado, de los psicólogos, la Dra Carmen Boqué santo y seña del pragmatismo clínico y a quien yo mismo confiaría, si fuera preciso, mi propia vía aérea, el Dr Emili Diaz Santos al que jamás de los jamases verán inmerso en un discurso estólido y que además descuiden que si ha tomado una decisión clínica es porque ha sido tan sopesada que en una de estas se le descoyuntará la morra y parte del colodrillo, la Dra Mari

Carmen Gilavert que a fuerza de aplomo no exento de conocimientos y aderezado con toneladas de sentido común está llamada a ser referencia indiscutible de nuestra UCI, el Dr Jordi Mariné Rebull al que todos debemos agradecer su talante conciliador, el buen uso del castellano y, por supuesto, el manejo mirífico del broncoscopio, el Dr Alejandro Hugo Rodríguez que cruzó el charco dejando atrás cosas que jamás sabremos y desgrana, sin malgastar, talento a pie de cama cuando la situación pinta mal y un viento ábrego amenaza el pronóstico del paciente, el Dr Alberto Sandiumenge Camps que ha elegido el abstruso mundo del neurointensivismo y la perlesía como campo de batalla y no tiene pinta, según los últimos partes de guerra, de ir perdiéndola siendo además, el Dr Sandiumenge, un claro ejemplo de que lo cortés no quita lo eficiente, la Dra Loreto Vidaur Tello reina del diagnóstico diferencial y para quien la Medicina Intensiva es algo tan serio que si alguna vez la ven echar por pavía no se lo tengan en consideración.

Al Dr Joan Vendrell porque cuando se le ha requerido ha dado muestras de su bienquista capacidad investigadora y ha aportado a esta Tesis los controles, lo que bien mirado, me hace contraer una deuda difícilmente saldable.

Al Dr Pablo Morales al que un día abordé, sin conocernos previamente, en las cercanías de su laboratorio y le conté una retahíla de ideas desordenadas, eso sí aderezadas con cuatro sinécdoques y dos lítotes, que yo consideraba solidísimo proyecto de investigación, y tuvo, a Dios gracias, la sangre fría suficiente para no reírse. El Dr Morales cometió el error de no mencionar durante aquella atropellada conversación la palabra `imposible´ y yo, que no sabía que lo fuera, me entusiasmé. Lo que él nunca supo es que acudía a él desesperado porque no me quedaban más balas.

Al Dr Grant Waterer por haberme dicho que existe un pueblo al lado de Perth que se llama Fremantle desde donde uno puede ver cómo el sol se va irreverente, presumiendo de irse, en lo que día tras día se convierte en un atardecer inmarcesible. Ahí, también debo agradecerle, al margen de varios comentarios que han ayudado a mejorar el contenido de la Tesis, un puñado de consejos profesionales que no han caído en saco roto ya que no en vano el Dr Waterer es uno de los mejores del mundo en el campo, por otra parte sembrado de abrojos, de la genética aplicada al paciente crítico.

A José Antonio Perianes, mi amigo del alma, junto con el que gustosamente desenvainaría la espada sin que él me lo pidiera, espalda con espalda, contra el ejército, espero que en su caso poco numeroso, de dificultades que salpican, ávidas de sangre, una vida. No saben ustedes, ni ellas, el efecto que la amistad puede hacer en el manejo del acero que llegado el momento puede traducirse, que Dios se apiade de mi alma, en un relámpago metálico, fugaz, ya saben visto y no visto, de mi vizcaína.

A la Dra María José Gonzalez que a buen seguro jamás leerá estas líneas y que al margen de ser la persona más brillante que he conocido en mi vida también ha sido la que mejor me ha entendido.

A la Dra Belén Gualis por las palabras, todas ellas con letras versales, tan veraces como imposibles, algunas en inglés como 'blue-game' o 'nighthawks' cuyo significado real sólo ella y yo conocemos y lamentando que al final, yo que soy gran observador y muchas veces me maldigo por ello, haya tenido la razón que de buena gana jamás hubiera querido tener.

Al los Residentes de Medicina Intensiva del Hospital Joan XXIII, mis
conmitones, lamentando ser para ellos ejemplo de pocas cosas.

A Manuel Coy, que aun sabiendo que le iba a engañar le dijo a Tángier Soto en
Cadiz, al abrigo de los restos del castillo de guardamarinas: 'Tal vez te quiera ti' y a
quien debo agradecerle, entre otras cosas, que mire al Mediterráneo con ojos diferentes.

Al Señor Sommer, por los paseos en silencio.

A nuestros pacientes, por la parte que les toca.

3.- MOTIVACIONES GENERALES.

En las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) se emplea un elevado nivel de tecnología médica. Este hecho supone que el personal que trabaja en el cuidado y tratamiento del paciente crítico tiene, a su vez, un elevado nivel de especialización. Esta especialización en la labor asistencial tiene un objetivo fundamental: restaurar la homeostasis de pacientes potencialmente curables. Desafortunadamente esto no siempre es posible permaneciendo, por ejemplo, la mortalidad en las UCIs elevada.

Por otro lado, en ocasiones, es difícil la valoración clínica de un paciente en el contexto de la toma de una decisión respecto a su ingreso en la UCI. Entraña mucha dificultad estimar, en poco tiempo, si la enfermedad que interesa al paciente valorado, grave en todos los casos, es potencialmente curable o no. A pesar de los importantes avances en el conocimiento de los procesos biológicos de entidades clínicas tan complejas como la sepsis, que implica en muchos casos el desarrollo de fracaso multiorgánico, la mejora que se ha producido en el pronóstico del paciente crítico es escasa y en muchas ocasiones, esta mejora en el pronóstico, está más relacionada con el perfeccionamiento de los sistemas de soporte vital (ventilación mecánica, nutrición, entre otros) que con la aparición de tratamientos específicos.

Además, la enfermedad tiene matices relacionados con la forma de instaurarse, su progresión y la forma de resolverse que están absolutamente alejados del control y la voluntad del médico. La respuesta individual de cada organismo a la enfermedad viene condicionada, al menos en parte, por la estructura de los genes. Parece necesario antes de protocolizar tratamientos, alguno de ellos muy caros, saber cual es la respuesta individual ante la agresión. Indudablemente, otros factores como la edad y la comorbilidad juegan un papel importante en la evolución de la enfermedad.

En este contexto de complejidad, el clínico debe dar un paso hacia delante. En unos tiempos donde los intereses comerciales conducen en muchas ocasiones a la propaganda, lejos de acatar el conocimiento médico como dogma de fe, el clínico debe ser crítico. Esta actitud crítica me permite entender que los avances que se producen continuamente en otras especialidades (p.e. oncología) en base a una medicina más molecular no exenta de aplicación clínica práctica sean un reflejo de lo mucho que queda por hacer en la nuestra. Naturalmente, esta perspectiva requiere la ampliación de conocimientos elementales sobre biología molecular y entablar relación con otros especialistas tales como inmunólogos, genetistas y matemáticos, los cuales tradicionalmente no se han relacionado estrechamente con la Medicina Intensiva.

La motivación general, pues, de esta Tesis tiene que ver con un acercamiento de la Medicina Intensiva a la Biología Molecular con intención de contestar preguntas relacionadas con el pronóstico de nuestros pacientes. Esta sería la parte positiva de esta Tesis. La parte negativa sería que se pueden dejar algunas preguntas sin contestar lo que mirado, otra vez con espíritu crítico, puede ser fuente de nuevas hipótesis. A mí ya se me están ocurriendo algunas.

4.- MOTIVACIONES PERSONALES.

Tendré que referirme a la primera sensación que tuve, una vez pasada la etapa de confusión que probablemente todos hemos tenido cuando se toma contacto con el paciente crítico, para encontrar la semilla que años después ha conducido a que realice esta Tesis. Esta sensación no fue otra que la observación desde mi perspectiva de Residente Pequeño como mi Residente Mayor y el Adjunto responsable de la guardia veían, desolados, y yo con ellos, como un paciente que en nada se diferenciaba de otros (en cuanto a factores de riesgo, incluido comorbilidad, motivo de ingreso en UCI, etc) tenía una evolución rápida, fatal, siendo refractario a cualquier medida terapéutica, algunas de ellas desesperadas, conduciendo inevitablemente al fallecimiento, mientras, otro paciente de semejantes características mejoraba con los mismos cuidados. La sensación se repitió en otras guardias, con otros protagonistas. Esta sensación, observada desde la ignorancia, no cayó en saco roto y se convirtió en una motivación para estudiar.

Pero claro, estudiar tiene sus riesgos. El riesgo no es otro que plantearse nuevas preguntas y muchas veces no encontrar respuesta. Y tal es así que años más tarde, ejerciendo ya de adjunto en la UCI del Hospital Joan XXIII, en una discusión intensa pero cordial con una Residente sobre los pros y contras de la especialidad de Medicina Intensiva, le reté a que eligiera el principal inconveniente de la especialidad. Esta persona, de quien podría decir (entre otros halagos enumerables pero que desafortunadamente no vienen al caso) que es extremadamente juiciosa, eligió uno doble: el cansancio físico-emocional. Yo, elegí otro bien diferente: el desconocimiento. En mi caso he tomado partido por entender la Medicina de forma activa. La asistencia clínica es sacrificada y en ocasiones, muchas veces por el entorno socio-familiar, poco gratificante. Pero es la fuente, sin duda la más caudalosa, de preguntas, de hipótesis, de

problemas que resolver. Esto conduce a dibujar las hipótesis en forma de diseño de estudio, y si las condiciones son propicias, intentar comprobarlas metiéndose por los vericuetos sorprendentes, vertiginosos, despiadados en ocasiones y siempre absorbentes de un trabajo de investigación.

No puedo entender la Medicina, y esto quizá sea un problema, sin la parte clínica pero tampoco sin la parte investigadora. Debo confesar, en términos de preocupación, que la asistencia clínica cada vez es más compleja y especializada (pudiendo tener algo que ver en esto el envejecimiento de la población y el aumento paralelo de la comorbilidad) y la investigación cada vez es, también, mas compleja y especializada (pudiendo tener, también, algo que ver en esto el mayor conocimiento en aspectos como la Biología Molecular). Nada es sencillo, ya lo he dicho antes. En este contexto me he planteado hacer un intento. Intento arriesgado, por otra parte. Porque ¿puede tener un clínico un perfil profesional que sirva de puente entre la asistencia clínica especializada y la investigación también especializada?. ¿Tiene sentido ese papel en el contexto asistencial?. En mi opinión creo que sí: para que la información generada en el laboratorio tengan una aplicación eficaz y rápida en el paciente crítico. Confieso que me tranquilizó mucho enterarme que alguien había llamado a esto, ya saben aquello de estudiar, 'Translational Research'. Que alguien le de un nombre a un concepto no significa que sea útil en sí mismo. En cualquier caso, todo somos conscientes que en este caso la utilidad, si se demuestra, debe escribirse con mayúsculas porque serviría para mejorar la calidad en la asistencia a los pacientes críticamente enfermos que son, al margen de los problemas cotidianos que todos nosotros tenemos (algunos hondos como simas), fuente de mis desvelos. Gran parte del esfuerzo de esta Tesis, en definitiva, tiene que ver con la con la necesidad personal de comprobar la hipótesis de que un clínico puede servir de puente entre un laboratorio de Biología Molecular y una

Unidad de Cuidados Intensivos y aportar algo de luz en el pronóstico del paciente crítico.

5.- INTRODUCCIÓN.

5.1 Genética del paciente crítico.

En 1892, Willian Osler afirmó que si no fuera por la gran variabilidad entre los individuos, la Medicina podía ser considerada una ciencia y no un arte. En el siglo XXI la Medicina Intensiva no ha podido erradicar el componente de arte en su labor asistencial. Indudablemente, factores como el estado previo de salud, la intensidad de la noxa y la calidad en la aplicación práctica de protocolos clínicos basados en los niveles de evidencia condicionan, conjuntamente, la evolución de la enfermedad. No obstante, existe cada vez más información que sugiere la importancia del componente genético en la presentación clínica y el pronóstico de la mayor parte de enfermedades, en general, y de la enfermedad aguda grave, en particular ¹.

Los rápidos avances de la Biología Molecular durante los últimos 10 años han permitido que se conozcan con mayor detalle los mecanismos moleculares de la enfermedad y la respuesta celular a la agresión. La base sobre la que descansa esta respuesta son los genes. De esta manera, el conocimiento algunas características genéticas del paciente crítico pueden ser de interés por las siguientes razones: 1) la variabilidad genética puede ser un factor de riesgo y un indicador del pronóstico de enfermedades poligénicas que interesen al paciente críticamente enfermo, que por otro lado vienen a ser la mayoría de ellas, por ejemplo: la sepsis. 2) La identificación de algunas características genéticas puede permitir una mejor selección de pacientes para incluirlos en ensayos clínicos. Un ejemplo clarificador es la utilización del anti-factor de necrosis tumoral (FNT). Es conocida su falta de eficacia en los pacientes sépticos. Existe la posibilidad que sólo sea de utilidad en pacientes hiperproductores de FNT. La producción de FNT está determinada, en parte, por variables genéticas que pueden ser

identificadas previamente. 3) El estudio de los genes podría ayudar a descubrir las bases moleculares de la respuesta a los fármacos (farmacogenética)². 4) Por último, los genes pueden resultar en un futuro próximo una diana en el tratamiento: terapia génica del paciente crítico.³

5.1.1 Estructura de los genes y variabilidad del genoma.

Cada gen consiste en una secuencia variable de nucleótidos. Estos nucleótidos, por la disposición de la ribosa que forma parte de su constitución, confieren al gen una dirección de síntesis (5' → 3') obligatoria para la formación ARN mensajero (ARNm). Este proceso recibe el nombre de transcripción.

En general, dentro de un gen pueden encontrarse las siguientes partes. 1) región promotora. Es la zona del gen donde se unen los elementos reguladores de la transcripción (proteínas promotoras, proteínas represoras de la síntesis de ARN mensajero). 2) Exones. Son regiones que formarán parte del ARNm. 3) Intrones. Son regiones que no formarán parte del ARNm. Serán eliminadas en el proceso de maduración del ARNm. 4) Regiones 5'-UTR (del inglés, untranslated regions). Son zonas adyacentes a los exones que tienen relación con la el inicio de la transcripción. 5) Regiones 3'-UTR. Son regiones también adyacentes a los exones que se encargan del la maduración del ARNm y del control de la expresión del gen.

El genoma humano contiene entre 30.000 y 40.000 genes que están constituidos a su vez por aproximadamente 3 billones de nucleótidos. La molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) tiene una configuración de doble hélice antiparalela compuesta por 4 subunidades de nucleótidos: Adenina (A), Guanina (G), Timidita (T) y Citosina (C). Las dos cadenas de la doble hélice se mantienen unidas por puentes de hidrógeno que se tienden entre los nucleótidos A-T (dos puentes) y entre G-C (tres

puentes). Una vez se ha secuenciado el genoma humano, uno de los aspectos que ha tomado interés es el estudio de la variabilidad genética. Se sabe que existe un 0.1% del genoma humano que es variable entre individuos.

El polimorfismo genético es una variación en la secuencia del ADN que ocurre en al menos un 1% de la población ⁴. Son, por tanto, mutaciones que aparecen en un porcentaje más elevado del esperado. En general existen 4 tipos de variaciones estructurales en los genes (polimorfismos). Las variaciones genéticas más frecuentes son las que afectan al cambio de un nucleótido por otro dentro de la secuencia de ADN ⁵, son los llamados SNPs: del inglés, Single Nucleotide Polymorphism. Otros tipo de variaciones son las inserciones y las deleciones de uno o varios (incluso cientos) de nucleótidos. Son menos frecuentes que los anteriores pero tienen más riesgo de causar alteraciones estructurales en las proteínas. Finalmente, existen secuencias de 2 o más nucleótidos que pueden repetirse en tándem un número variable de veces.

Los polimorfismo genéticos pueden ocurrir en las regiones promotoras, exones e intrones. En general, el significado funcional del polimorfismo genético tiene mayor relevancia cuando se traduce en un cambio de un aminoácido en el producto del gen o cuando directamente el polimorfismo afecta a la transcripción, estabilidad o traslación de ARNm. Además, comienza a existir evidencia que los polimorfismos localizados en los intrones pueden tener también significado funcional ⁶.

5.1.2 Método básico de Estudio del Polimorfismo Genético:

RFLP.

Se hará referencia al estudio de los polimorfismos basados en la longitud de los fragmentos de restricción. Esta técnica a la que se hace referencia en el argot de la Biología Molecular como: RFLP (RFLP del inglés "restriction fragment length

polymorphism") se puede utilizar cuando el cambio de un nucleótido o la inserción o deleción de un fragmento de ADN altera la diana para un determinado enzima de restricción. Estas enzimas son endonucleasas bacterianas que reconocen una secuencia entre 4-8 bp en la secuencia de ADN que previamente ha sido amplificada mediante PCR (del inglés: polimerasa chain reaction). El lugar de reconocimiento se llama sitio de restricción. El enzima rompe un enlace fosfodiéster en una hebra y otro enlace fosfodiéster en la hebra complementaria. En otras palabras, la identificación del cambio de la secuencia de la cadena de ADN se basa en la existencia de un polimorfismo que altere el lugar de unión (y posteriormente ruptura de la hebra de ADN) de estas enzimas. Se puede detectar el polimorfismo en función de la variación que éste genera en el patrón de restricción, es decir, en el tamaño de las hebras (si no se han segmentado en presencia de la enzima serán igual de grandes que el producto de amplificación de la PCR y si se han segmentado, por ejemplo, podrán encontrarse dos segmentos más pequeños). Este patrón de restricción puede visualizarse directamente en un gel de agarosa mediante electroforesis.

Actualmente, existen técnicas automatizadas capaces de detectar miles de SNPs y repeticiones en tándem en pocas horas. Estos nuevos métodos requieren menor manipulación de las muestras y aumentan la sensibilidad de los resultados ⁷.

5.2 Aplicaciones específicas de los polimorfismos genéticos en la enfermedad aguda.

A principios del siglo pasado los conceptos 'homocigoto', 'heterocigoto', 'herencia dominante', 'herencia recesiva' ya estaban perfectamente establecidos a raíz de los trabajos desarrollados por G. Mendel. Este tipo de herencia ha sido definida como herencia mendeliana y traduce, desde el punto de vista genético, una mutación

que conlleva, casi indefectiblemente, una alteración en el fenotipo. Las variables ambientales tiene poca relevancia.

Por el contrario, la herencia poligénica, como su propio nombre indica está condicionada por múltiples genes y los factores ambientales tienen una importancia capital. Dentro de este tipo de herencia podemos encontrar entidades clínicas como la hipertensión arterial o la sepsis.

La genética aplicada al paciente crítico debe su incipiente campo de conocimiento, sin lugar a dudas, al esfuerzo realizado por desenmarañar las implicaciones de la variabilidad genética en el ámbito de la susceptibilidad y pronóstico de la enfermedad infecciosa grave. A continuación se mencionan los aspectos más relevantes en este sentido.

5.2.1. Genética e Infección.

El papel determinante de la herencia en el pronóstico de las enfermedades infecciosas fue demostrado por Sorensen et al ⁸. En este estudio se investigaron las causas de muerte prematura (neoplasias, enfermedad vascular e infección) en una larga serie de sujetos adoptados por otras familias y se compararon con las causas de muerte de los padres adoptivos y naturales. Si los padres adoptivos fallecieron prematuramente a causa de una infección el Riesgo Relativo (RR) de los sujetos adoptados de fallecer por esta misma causa fue 0.73 (Intervalo de Confianza (IC) 95%: 0.1-5.36). En cambio, si los padres biológicos fallecieron prematuramente por infección el RR de fallecer por esta causa en los hijos naturales es de 5.81 (IC 95%: 2.47-13.7). Desde la publicación de este trabajo se han determinado la influencia de la herencia en el pronóstico de otros procesos infecciosos: SIDA ⁹, hepatitis ¹⁰ y leishmaniasis ¹¹.

5.2.1.1 Genes Candidatos

5.2.1.1.1. Inmunidad natural.

La respuesta frente a los agentes infecciosos es un proceso que requiere la intervención del sistema inmune innato y adquirido. El primero representa la primera línea de defensa mientras se desencadenan los procesos pro y antiinflamatorios¹². Cada uno de los pasos que componen la reacción inmune pueden estar afectados por polimorfismos que otorgarán al individuo una mayor o menos susceptibilidad a padecer la enfermedad y determinarán finalmente el pronóstico.

Polimorfismos de los genes que determinan el reconocimiento de patógenos:

Son de tres tipos: 1) proteínas solubles (como la Mannose Binding Lectin: MBL). 2) Receptores que provocan endocitosis (receptores para FcR- γ). 3) Receptores que provocan señales intracelulares (Toll-Like Receptors: TLR4 y TLR2) y CD14.

MBL: Es una proteína que se une a las superficies de los microorganismos y a la endotoxina provocando la activación del complemento y opsonización¹³. Para su máxima eficacia esta proteína debe estar presente y además alcanzar unos niveles plasmáticos adecuados. Estos pueden verse influenciados, disminuyéndose su producción, a consecuencia de un polimorfismo situado en la región promotora del gen consistente en un cambio de G > C en la posición - 550 o -221¹⁴. Además, existen variaciones en el exón 1 (codones 52, 54 y 57) que condicionan posteriormente alteraciones estructurales de las proteínas provocando, cuando la infección está presente, una activación inadecuada del complemento independientemente de los niveles plasmáticos¹⁵.

Receptores para FcR- γ : Se unen a la región Fc de las IgG. Dentro de este grupo existe un tipo (Fc γ RIIa) que es el único capaz de unirse a la IgG¹⁶. Estos anticuerpos son esenciales contra la defensa de los microorganismos encapsulados. Existe una

variación de G > A en el gen de FcγRIIIa que provoca un cambio de una histidina por arginina disminuyendo la afinidad de la inmunoglobulina por estos microorganismos. Se conoce que aproximadamente el 40% de la población de raza blanca es homocigota para este genotipo. En pacientes adultos con neumonía neumocócica bacteriémica se ha demostrado que la presencia de homocigosis para esta mutación fue significativamente más frecuente. En estos pacientes, además, se han observado formas más graves de esta infección respiratoria ¹⁷.

TLR: Las bacterias Gram-negativas son uno de los microorganismos más frecuentemente implicados en la sepsis. El lipopolisacárido (LPS), el principal componente de su pared, activa a los macrófagos y monocitos produciéndose una liberación de citoquinas pro-inflamatorias (FNT-alfa, IL-1, IL-6, IL-8) ¹⁸. Recientemente se han aclarado los mecanismos moleculares del reconocimiento del LPS a través de la identificación de una familia de receptores transmembrana denominados ‘Toll-like receptor’ (TLR). El principal receptor lo constituye el TLR4. Se ha observado en animales de experimentación que presentaban mutaciones en el gen del TLR4 (cambio de prolina por histidina en posición 712 del receptor) cómo la respuesta ante el LPS es de menor intensidad ¹⁹. En humanos, Lorenz et al ²⁰ analizaron las mutaciones Asp299Gly y Thr399Ile del TLR4 en 91 pacientes con shock séptico. La frecuencia de la mutación doble Asp299Gly/Thr399Ile no mostró diferencias significativas entre el grupo de shock séptico y el grupo control. Sin embargo, la mutación Asp299Gly se asoció a una mayor frecuencia de infección por Gram-negativos, shock séptico y mayor mortalidad en pacientes homocigotos.

Recientemente, se ha identificado un polimorfismo en el gen del TLR2 (Arg753Gln) asociado a un mayor riesgo de padecer infección estafilocócica ²¹.

Por otro lado, también se ha identificado un receptor capaz de unirse a lipopolisacáridos, peptidoglicanos y ácidos lipoteicoicos bacterianos: el CD 14^{22, 23}. Este receptor se expresa fundamentalmente en la superficie de los macrófagos, monocitos y neutrófilos polimorfonucleares. Existe una forma soluble (sCD14) cuyos niveles se correlacionan con una mayor mortalidad en el shock séptico producido por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas^{24, 25}. Se ha identificado un polimorfismo en la región promotora del gen del CD14 consistente en un cambio de C > T en la posición -159²⁶. Los sujetos portadores del alelo T poseen niveles más elevados de sCD14 que los portadores del alelo C²⁷. Gibot et al²⁸ en un estudio prospectivo, multicéntrico, en pacientes con shock séptico han visto que el alelo T es más frecuente en pacientes con shock séptico que en el grupo control (55% vs 43%, p=0.01). Además, la mortalidad observada en el grupo de shock séptico fue 26.3% (genotipo C/C), 58.1% (genotipo C/T) y 71.4% (genotipo T/T), siendo todas ellas estadísticamente significativas (p<0.01). Según estos autores, el genotipo TT incrementa significativamente el riesgo de mortalidad (OR, 5.3; IC 95%, 1.2-22.5). En este mismo trabajo los autores relacionan la presencia del genotipo TT del gen CD14 y el genotipo FNT- α 2 con el pronóstico. La combinación de estos dos genotipos se asoció a un incremento significativo del riesgo de fallecimiento.

Otros autores como Hubacek et al²⁹ describieron la ausencia de asociación entre el polimorfismo del CD14 (C > T en la posición -159) y el pronóstico en la sepsis. Esta aparente contradicción podría explicarse por factores étnicos en la selección de casos y controles y por la gran variabilidad fenotípica de la sepsis. Por este motivo se recomienda, en los estudios de asociación genéticos, aumentar el tamaño muestral de los casos y considerar criterios diagnósticos lo más estrictos posibles³⁰.

5.2.1.1.2. Citokinas proinflamatorias.

FNT: Toda infección desencadena un proceso inflamatorio. El FNT es uno de los mediadores más importantes ante el estímulo infeccioso ³¹. Las variaciones genéticas individuales que determinen la expresión o la actividad del FNT podrían influir en las manifestaciones clínicas y el pronóstico de la infección o la sepsis. Los genes responsables de la síntesis del FNT α y β se sitúan adyacentes a los genes del sistema HLA III en el cromosoma 6 ³². Existen polimorfismos en estos genes asociados a niveles plasmáticos más elevados de FNT. En el caso del FNT- α , el polimorfismo más ampliamente estudiado es el cambio en la posición -308 de G (FNT- α 1) > A (TNF- α 2). También se ha identificado el mismo cambio de bases en la posición -238. En el FNT- β puede existir un cambio de G (FNT- β 1) > A (FNT- β 2) en el primer intrón (posición 1069) ³³.

McGuire et al ³⁴ demostraron que el genotipo homocigoto α 2 (AA) se asoció a un riesgo 4 veces superior de desarrollar malaria cerebral si se compara con los pacientes heterocigotos o no portadores de ese alelo. Por su parte, Nadel et al ³⁵ analizaron el genotipo de 98 pacientes ingresados de forma consecutiva con el diagnóstico de meningococemia en una UCI pediátrica. El alelo α 2 se asoció a una forma más grave de meningococemia y con una mayor mortalidad. Stuber et al ³⁶ demostraron también que los pacientes homocigotos para el alelo α 2 que desarrollaron sepsis tuvieron niveles más elevados de FNT y a su vez mayor mortalidad. Estos datos fueron posteriormente corroborados por Mira et al ³⁷ que analizaron el genotipo de 89 pacientes con el diagnóstico de shock séptico. Las frecuencias del alelo FNT- α 2 fueron significativamente superiores en los pacientes sépticos respecto al grupo control. Además, la mortalidad también fue significativamente mayor en los pacientes portadores del alelo α 2.

Más recientemente, O'Keefe et al ³⁸ en un estudio prospectivo analizaron la presencia de A en las posiciones -238, -308 o -376 de la región promotora del gen del FNT- α como factor de riesgo para el desarrollo de sepsis. Los pacientes con A en posición -308 tuvieron un riesgo 4.6 veces superior para desarrollar sepsis (IC 95%, 1.9-10.9) y también un riesgo 2.1 veces superior de mortalidad (IC 95%, 0.6-7.3).

Por otro lado, Majetschak et al ³⁹ analizaron la relación entre el genotipo del FNT- β y el riesgo de desarrollar sepsis en pacientes politraumatizados. Los pacientes homocigotos para el alelo- β 2 tuvieron un riesgo significativamente más elevado de desarrollar sepsis grave respecto a los sujetos que solamente fueron portadores o simplemente no tenían este alelo. Los pacientes homocigotos β 2 también tuvieron niveles de FNT significativamente mayores que los heterocigotos o no portadores.

Waterer et al ⁴⁰ analizaron los genotipos del FNT α y β de 280 pacientes con neumonía adquirida en la comunidad (NAC) y su relación con el desarrollo de shock séptico e insuficiencia respiratoria. Los pacientes homocigotos β 2 tuvieron un riesgo significativamente superior de desarrollar shock séptico. Sin embargo, no encontraron asociación entre el genotipo del FNT- α y el riesgo de desarrollar shock séptico. Uno de los hallazgos más significativos de este estudio fue la falta de correlación entre los genotipos hipersecretorios de FNT (α 2 y β 2) y el desarrollo de insuficiencia respiratoria. En general se asume que la hipoxemia y otros signos del síndrome de la respuesta inflamatoria sistémica pueden explicarse por un ambiente proinflamatorio. En cambio, en este interesante estudio se encontró una asociación entre la hipoxemia y un genotipo hiposecretor (FNT- β 1). La hipoxemia en estos pacientes fue explicada en términos de respuesta inmune atenuada que permite una mayor progresión de la infección mas que como una afectación inflamatoria sistémica que pueda lesionar la unión alveolo-capilar e impedir el intercambio gaseoso.

También, recientemente se ha estudiado la influencia de algunos polimorfismos en el pronóstico (mortalidad) en la NAC. Wunderink et al ⁴¹ en un estudio prospectivo analizaron los genotipos (FNT- α -238, FNT- α -308 y FNT- β) de 272 pacientes que desarrollaron NAC. Estos autores describieron que la presencia de A en la posición -238 del gen del FNT se asoció con un mayor riesgo de mortalidad en pacientes con NAC. Además, corroborando los hallazgos previos, los pacientes homocigotos β 2 tuvieron un riesgo aumentado de desarrollar shock séptico.

Aunque los estudios en fase II diseñados con tratamientos anti-FNT (anticuerpos o receptores solubles) fueron esperanzadores, los estudios en fase III no han mostrado beneficio en términos de reducción de la mortalidad ⁴². Algunas de estas estrategias terapéuticas han sido probadas con éxito en otros procesos inflamatorios ⁴³. Una de las causas del fracaso terapéutico puede ser la inadecuada selección de los casos (pacientes). En base a estos datos y conociendo que las estrategias anti-FNT alfa reducen la mortalidad en aquellos pacientes con niveles más elevados de FNT ⁴⁴ es probable que, analizando los genotipos de los pacientes, se pueda incluir en los ensayos clínicos aquellos pacientes cuya respuesta sea más previsible y constituyan un grupo más homogéneo que permitirá realizar una mejor interpretación de los resultados.

Interleukina-1 (IL-1): La familia de la IL-1 que esta formada por IL-1 α , IL-1 β y el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra) juegan también un papel importante en la patogénesis de la sepsis. La IL-1ra regula la actividad de la IL-1 α y β a través de una acción competitiva. Su función es puramente antagonista ⁴⁵. La IL-1 α posee 7 alelos según el número de repeticiones en tándem de 46 pares de bases en el intrón 6: A1, A2, A3, A4, A5, A6 y A7. La IL-1 β posee 2 alelos que se identifican con la enzima de restricción AvaI: B1 y B2. Por último, el gen de la IL-1ra posee un número variable de 86 pb repetidas en tandem en el intrón 2 con 5 alelos: RN1, RN2, RN3, RN4 y RN5.

Fang et al ⁴⁶ estudiaron la relación entre los polimorfismos de IL-1ra e IL-1β en el pronóstico de la sepsis. Analizaron de forma prospectiva el genotipo de 93 pacientes sépticos utilizando donantes de sangre como grupo control. Los pacientes con sepsis tuvieron una frecuencia significativamente superior del alelo RN2 respecto al grupo control. No se encontró una mayor mortalidad para este alelo en el grupo de pacientes sépticos. Sin embargo, 8 pacientes homocigotos para los alelos RN2 y B2 no sobrevivieron siendo la causa atribuible de mortalidad, la sepsis.

Arnalich et al ⁴⁷ realizaron un estudio prospectivo en el que se investigó la influencia de los polimorfismos en el intrón 2 del gen IL-1ra en el pronóstico sepsis. Para ello compararon los genotipos de 78 pacientes con sepsis severa, 56 pacientes con neumonía no complicada y 130 controles (donantes de sangre). Los pacientes con sepsis severa tuvieron una distribución de frecuencias de los genotipos que no mostraron diferencias significativas con otros grupos. Mediante un análisis de regresión múltiple se evidenció un riesgo 6.47 superior de fallecer en los pacientes homocigotos para el alelo RN2. Además, estos pacientes produjeron niveles significativamente más bajos de IL-1ra.

Penglin et al ⁴⁸ han estudiado la familia de la IL-1 y su relación con la susceptibilidad y el pronóstico de las sepsis. Sólo el alelo RN2 se asoció con mayor susceptibilidad a la sepsis en sujetos homo y heterocigotos. Los pacientes homocigotos para los genotipos A2, B2 y RN2 tuvieron mortalidad más elevada (70-80%), aquellos pacientes homocigotos para dos de los 3 alelos mencionados tuvieron porcentajes de mortalidad discretamente menores (55-65%). Por el contrario, los pacientes homocigotos A1, B1 o RN1 mostraron los porcentajes de mortalidad más bajos (0-13%).

Interleukina-6 (IL-6): La IL-6 se encuentra elevada durante la sepsis y sus niveles se correlacionan positivamente con el pronóstico. Existe un polimorfismo en la región promotora de este gen (G>C en la posición -174) que se asocia con una mayor mortalidad en esta entidad. Se ha visto que este polimorfismo no afecta a la incidencia. Sin embargo, los pacientes homocigotos G/G que desarrollaron sepsis tuvieron porcentaje de supervivencia superiores que el resto de genotipos. En cualquier caso, no se ha logrado correlacionar los niveles plasmáticos con ningún genotipo ⁴⁹

5.2.1.1.3. Citoquinas antiinflamatorias.

La sepsis induce inicialmente una liberación de citoquinas proinflamatorias que se siguen de otras antiinflamatorias (IL-4, IL-10; Il-13) responsables del síndrome de respuesta compensatoria antiinflamatoria. Los polimorfismos que influyen en una compensación antiinflamatoria excesiva pueden tener consecuencias deletéreas.

Interleukina-10 (IL-10): Esta citoquina disminuye la función de los macrófagos e indirectamente inhibe la actividad de las células B. Una producción excesiva inhibe la expresión del interferón- γ y retrasa el aclaramiento de los patógenos intracelulares. Dentro de la región promotora de este gen existen microsatélites con repeticiones CA y SNPs: -1082 (G>A), -819 (C>T), y -562 (C>A). In vitro, el polimorfismo -1082G se asoció a niveles más altos de esta citoquina ⁵⁰.

5.2.2. Neurogenética del Paciente Crítico.

La relación entre el traumatismo craneoencefálico (TCE) y el desarrollo de demencia ha sido el hilo conductor que ha permitido desarrollar una asociación entre factores genéticos y el pronóstico del TCE. Un estudio reciente demostró que el 30% de los pacientes que fallecieron en la fase aguda del TCE tuvieron depósitos de Abeta-PP

(AP) en el cortex cerebral mientras los pacientes fallecidos a consecuencia del trauma, pero sin TCE, no los presentaban ⁵¹. Se cree que el TCE puede estimular el depósito de proteína amiloide y que este hecho facilite un mayor deterioro neurológico. Se sabe que el alelo E4 de la apolipoproteína E es el mayor riesgo genético para el desarrollo de demencia tipo Alzheimer. Partiendo de esta base, se ha estudiado la variabilidad genética del gen de esta proteína en pacientes con TCE.

Nicoll et al ⁵² demostraron que los pacientes con el alelo E4 que fallecieron a causa del TCE tuvieron depósitos de AP más frecuentemente que los pacientes sin este alelo. La frecuencia del alelo E4 en pacientes con AP fue del 0.52 mientras que la frecuencia de este alelo en pacientes sin AP fue de 0.16 ($p<0.01$). El TCE puede considerarse un desencadenante para el depósito de esta proteína en el cortex cerebral en pacientes susceptibles (portadores del alelo E4). Además, la presencia de este alelo E4 no parece relacionarse sólo con la presencia de AP. En este sentido, Liaquat et al ⁵³ han medido los volúmenes sanguíneos de los hematomas cerebrales mediante tomografía computerizada en pacientes con TCE y han visto que los portadores del E4 tuvieron volúmenes de los hematomas significativamente mayores que los portadores de otros alelos ($p<0.01$). La presencia de la isoforma E4 es considerada junto con la localización extraaxial como predictores independientes del volumen del hematoma.

También se han realizado otros estudios en relación con el pronóstico. Sorbi et al ⁵⁴ observaron que los pacientes con TCE y coma prolongado después del trauma tuvieron una frecuencia significativamente más alta del alelo E4 respecto a pacientes que recuperaron la conciencia precozmente. Teasdale et al ⁵⁵ en un estudio prospectivo realizado sobre 93 pacientes que sufrieron TCE observaron que los pacientes con alelo E4 tuvieron un pronóstico significativamente más desfavorable (medido en términos de

mortalidad, estado vegetativo o puntuaciones más bajas en la escala pronóstico de Glasgow) a los 6 meses del trauma respecto los pacientes sin este alelo.

Se ha postulado que los individuos portadores del alelo E4 pudieran desarrollar depósitos de AP a una edad más temprana que el resto de la población, que tuvieran mayor predisposición a fallecer a consecuencia de un TCE y que por este motivo fueran incluidos más frecuentemente en los estudios postmortem ⁵⁶. Sin embargo, en estudios animales se ha demostrado que la AP puede sintetizarse y depositarse con rapidez incluso en pocos días ⁵⁷.

Scheimeier et al ⁵⁸ en un estudio prospectivo donde se analizaron la supervivencia y el pronóstico neurológico de 80 pacientes después de sufrir una parada cardiorrespiratoria, han observado que los pacientes homocigotos para el alelo E3 tuvieron significativamente porcentajes de supervivencia mayores (64% vs 33%, $p < 0.01$) y mejor pronóstico neurológico respecto a otros genotipos. Se confiere, por tanto, a este genotipo un efecto neuroprotector. Falta confirmar este hecho en pacientes con TCE.

5.2.3. Genética del síndrome de distrés respiratorio agudo.

El paciente crítico desarrolla con mucha frecuencia una lesión pulmonar aguda que en su máxima expresión representa un síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Esta entidad es una causa importante de mortalidad en la UCI para la cual no existe tratamiento específico.

El desarrollo del SDRA se correlaciona con los niveles de citoquinas en el lavado broncoalveolar (LBA). Se ha visto que aquellos pacientes que desarrollan esta entidad tienen concentraciones de IL-10 significativamente menores respecto a los pacientes que

no desarrollan distrés.⁵⁹ De esta manera los polimorfismos que afecten a las concentraciones de esta interluquina pueden tener relevancia clínica.

El surfactante está compuesto de 90% fosfolípidos y 10% proteínas (SP-A, SP-B, SP-C, SP-D). Estas proteínas contribuyen a disminuir la tensión superficial aire-líquido para evitar el colapso alveolar. Los genes de proteínas constitutivas del surfactante pulmonar pueden ser interés clínico. Lin et al⁶⁰ relacionaron variaciones polimórficas del gen de la SP-B con el desarrollo de SDRA. En este estudio la variación C>T en la posición 1580 (codón 131) del gen puede contribuir a la gravedad de esta entidad.

Por otro lado, la activación del sistema renina-angiotensina en la circulación y parénquima pulmonar podría influir en el desarrollo del SDRA. El gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) es polimórfico. La delección de un fragmento de 287 pb (alelo D) produce un aumento de la actividad de la ECA⁶¹. Además, los niveles elevados de IL-6 se asocian con una mayor mortalidad. La presencia de C en la posición -174 del gen de la IL-6 (alelo C) se asocia con una actividad reducida del promotor y por lo tanto a unos niveles plasmáticos más bajos⁶². Teniendo en cuenta todos estos datos Marshall et al⁶³ analizaron la relación entre los alelos D del gen de la ECA y del alelo C del gen de la IL-6 con la susceptibilidad y pronóstico del SDRA. La presencia del alelo D y del genotipo DD fue significativamente más frecuente en el grupo de pacientes que desarrollaron SDRA respecto a un grupo control. Por su parte, el alelo D se asoció a una mortalidad significativamente mayor. Las frecuencias del alelo C y del genotipo CC fueron significativamente menores en el grupo que desarrollo SDRA.

5.2.4. Farmacogenética.

La farmacogenética se encarga del estudio de la variabilidad individual que cada paciente presenta en respuesta a los fármacos empleados en su tratamiento analizando

especialmente las diferencias existentes en los genes que se encargan de sintetizar proteínas, generalmente, del metabolismo de los fármacos. De esta manera, el genotipo del paciente no sólo puede determinar la evolución y el pronóstico de la enfermedad sino que también puede influir en la respuesta al tratamiento, la capacidad de metabolizar los fármacos administrados y, en cierto modo, prever la aparición de efectos adversos.

No existe situación alguna en Medicina en la que el clínico pueda predecir la respuesta individual al tratamiento. Es evidente que muchos factores determinan la respuesta a los fármacos (edad, sexo, etnia, enfermedades concomitantes y disfunción de los órganos secretores). No obstante, si estas variables se estandarizasen, es evidente que persiste una respuesta individual.

Se ha evidenciado en los últimos años que factores genéticos modifican de manera significativa la absorción, disposición, metabolismo y excreción de fármacos ⁶⁴. Uno de los objetivos más importantes de la farmacogenética es la disminución de los efectos secundarios. Cada fármaco interacciona con numerosas proteínas (transportadoras, enzimas, etc). Gran número de enzimas son genéticamente variables ⁶⁵. El polimorfismo de los genes que codifican estas enzimas determinan la aparición de 3 tipos de sujetos: normales, metabolizadores lentos (predispuestos a las reacciones adversas) y metabolizadores rápidos (sujetos que no responderán a dosis habituales dada la extremadamente rápida eliminación del fármaco). La mayoría de las enzimas implicadas en el metabolismo y eliminación de fármacos son miembros de la familia del citocromo P450 que incluye más de 30 isoformas ⁶⁶.

El reconocimiento precoz de una respuesta al tratamiento inadecuada o la probabilidad elevada de desarrollar efectos secundarios tiene interés para desarrollar estrategias terapéuticas más eficaces, o según los casos, alternativas.

5.3. Perspectivas y limitaciones de los estudios genéticos en el paciente crítico.

Aunque todavía se encuentra en un estadio muy precoz, la genética aplicada al paciente crítico puede transformar la práctica clínica diaria en un futuro próximo. Las variaciones genéticas permiten una respuesta diferenciada, personal, ante la enfermedad aguda que viene determinada por el orden e intensidad de la síntesis de mediadores inflamatorios y moléculas que permiten la comunicación inter e intra celular todo ello condicionado, a su vez, por la activación de los genes implicados en la respuesta celular a la agresión.

El desarrollo de la biotecnología adecuada para identificar variaciones en el genoma que resulten determinantes de una evolución clínica desfavorable está fundamentando una perspectiva de trabajo donde sería posible reconocer, por ejemplo, aquellos pacientes con riesgo de desarrollar sepsis severa una vez diagnosticada alguna infección grave. También permitiría el desarrollo de nuevos biomarcadores que pueden ser utilizados para identificar pacientes a quienes aplicar terapéuticas específicas o que presentan un perfil de respuesta más adecuado a los fármacos disponibles. Además, pronto será posible conocer, en un determinado momento y en base a un estímulo, cómo es la respuesta celular al estrés utilizando tecnología basada en los 'microarrays' que permite analizar en un instante el estado funcional de miles de genes midiendo el tipo de ARN expresado en diferentes tejidos ⁶⁷.

No obstante existen algunas limitaciones del enfoque genético-molecular de la enfermedad que son necesario tener presentes:

A) Limitaciones en los recursos humanos: A pesar del gran auge de la genética en los últimos años los clínicos no están familiarizados con este campo de conocimiento por lo que sería conveniente introducirlo progresivamente, y en la medida de los intereses particulares de cada especialidad, dentro de sus habilidades. Evidentemente, el traslado de los conceptos genéticos del laboratorio hasta la cabecera del paciente será un reto apasionante en los próximos años.

B) Limitaciones científicas: Son necesarios estudios que confirmen los hallazgos obtenidos hasta la fecha. En cualquier caso, se hace necesaria también la comunicación de los estudios casos-control que no muestran asociaciones positivas y realizar los estudios con diseños adecuados y rigurosos para poder ser sometidos posteriormente a meta-análisis.

C) Limitaciones económicas: El estudio del ADN, aunque cada vez menos, es relativamente costoso en términos de tiempo y dinero. No obstante, la inversión en este campo del conocimiento podrá obtener beneficios que se deriven de la detección precoz, un mayor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad y un tratamiento más específico.

D) Limitaciones éticas y sociales: El conocimiento adquirido en este campo debe de ser aplicable a todos los estratos de la población y etnias. De esta forma, el ámbito de investigación deberá recaer no sólo en los grupos étnicos favorecidos económicamente.

5.4. Postoperatorio de cirugía cardíaca: un tipo especial de paciente crítico.

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca, aún siendo esta programada, sufren una agresión que se deriva, por un lado, de la propia cirugía que lleva implícita, entre otras cosas, la manipulación de la cavidad torácica y pérdida más o menos importante de sangre y, por otro lado, la utilización, en algunos casos, de sistemas complementarios a la cirugía como es la circulación extracorporea (CEC).

5.4.1 Cirugía Cardíaca, fuente de inflamación.

La inflamación es una respuesta al organismo al daño tisular. Se caracteriza por ser rápida, amplificadora y controlada por sistemas humorales y celulares ⁶⁸. Cuando esta respuesta se produce secundariamente a una infección, el cuadro clínico se denomina sepsis. Por otro lado, es bien conocido que una situación clínica idéntica puede observarse sin que exista infección. Este hecho se denomina Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica. (SIRS, del inglés Systemic Inflammatory Response Syndrome)⁶⁹. Una complicación frecuente de este síndrome es el desarrollo de disfunción multiorgánica que puede incluir lesión pulmonar aguda, hipotensión arterial con necesidad de fármacos vasoactivos, fracaso renal agudo, etc.

La cirugía cardíaca, sobretodo si se realiza con CEC, es un estímulo inflamatorio de gran magnitud. Los factores que determinan la incidencia, severidad y pronóstico del SIRS, cuando se asocia a la cirugía cardíaca, no están perfectamente entendidos. Se conoce que existen activadores no específicos de la respuesta inflamatoria en este tipo de cirugía: trauma quirúrgico, sangrado, transfusión e hipotermia. Además, la CEC puede activar específicamente la respuesta inflamatoria por medio de 3 mecanismos. El primero tiene que ver con la activación del sistema inmune secundario al contacto de la

sangre con la superficie del circuito de CEC. Un segundo mecanismo se relaciona con los fenómenos de isquemia-reperfusión de órganos como el cerebro ⁷⁰, corazón ⁷¹, pulmón ⁷² y riñón ⁷³, entre otros, como resultado del clampaje y posterior desclampaje aórtico. El tercer mecanismo deriva de la hipoperfusión esplácnica que ocurre durante la CEC ⁷⁴ que puede provocar traslocación bacteriana ⁷⁵ la cual se ha relacionado, también, con la disfunción miocárdica ⁷⁶. Estas tres circunstancias conducen a la activación del sistema inmune donde está implicado el complemento, citokinas pro y antiinflamatorias, el sistema de coagulación y fibrinólisis, las células endoteliales y, naturalmente, células del sistema inmune.

Respecto al complemento, se sabe que es activado a consecuencia de la utilización de la CEC en relación con los episodios de isquemia e isquemia-reperfusión y cuando se utiliza protamina para neutralizar la heparina ⁷⁷. El importante papel del complemento en la respuesta inflamatoria puede verse en los efectos observados por la utilización de inhibidores específicos. Los receptores solubles del complemento tipo 1 disminuyen el daño producido en el pulmón y corazón ⁷⁸. Además, los anticuerpos monoclonales anti C5a atenúan la disfunción miocárdica y microvascular secundaria a la CEC ⁷⁹. Además, se ha demostrado que los anticuerpos anti-C5a que reducen la formación del complejo sC5b-9 reducen significativamente el daño miocárdico, pérdida de sangre e incluso las alteraciones cognitivas que pueden producirse en la cirugía cardiaca con CEC ⁸⁰.

Las citoquinas son proteínas solubles y polipéptidos que actúan como mensajeros con función paracrina. Son producidos por una gran variedad de células incluyendo los monocitos activados, macrófagos titulares, linfocitos y células endoteliales. Las citoquinas son esenciales en el SIRS. Se ha visto que el FNT- α y la IL-1 β se elevan muy precozmente después de la cirugía, en cambio, la IL-6 y la IL-8 se

elevan posteriormente ⁸¹. En realidad, si bien es cierto que no se ha demostrado una relación causa-efecto directa entre el nivel de citoquinas y el pronóstico, existe una asociación muy fuerte entre una elevación de las citoquinas proinflamatorias y el pronóstico en cirugía cardíaca. De este modo en los pacientes que desarrollan SIRS se han demostrado elevaciones significativamente altas de este tipo de citoquinas. En concreto, dentro de los pacientes que desarrollan SIRS, los que no sobreviven presentan unas concentraciones de IL-8 y IL-18 significativamente más elevadas que los pacientes que sobreviven ⁸². Además, paralelamente, las concentraciones de IL-6 se correlacionan con la mortalidad en el caso de la cirugía cardíaca pediátrica ⁸³. En cualquier caso, un hecho conceptualmente importante es que la respuesta proinflamatoria se ve compensada por otra respuesta antiinflamatoria. Esta respuesta compensadora está mediada por receptores solubles de citocinas, antagonistas de los receptores de citoquinas y, naturalmente, citoquinas antiinflamatorias. Una muestra de estas moléculas son la IL-10, el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra), el receptor soluble del FNT 1 y 2 (FNTsr 1 y 2), entre otros. Por ejemplo, se sabe que la IL-10 es un potente inhibidor de la producción de FNT- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 ⁸⁴. Teniendo en cuenta que se desconoce con exactitud el papel que desempeñan otros mediadores antiinflamatorios se ha sugerido que el pronóstico de la cirugía cardíaca puede depender del balance entre la respuesta pro y antiinflamatoria ⁸⁵.

Además, dentro de la respuesta inflamatoria, se debe destacar también el papel que juega la activación celular. Se sabe que el proceso de adhesión de neutrófilos al endotelio es una característica esencial de la respuesta inflamatoria. En un estado basal, los leucocitos viajan junto a los eritrocitos por el centro de la vasculatura. Cuando sucede un estado proinflamatorio, en una primera fase los leucocitos adquieren un movimiento rodante sobre la superficie de los capilares. Esto es posible gracias a la

expresión en el endotelio de unas moléculas de adhesión denominadas selectinas E y P. Por su parte, los neutrófilos expresan la selectina L. La función de estas células es la creación de lazos entre ambos tipos de células enlenteciendo el paso. La molécula C5a, liberada durante la activación del complemento al contactar la sangre con las superficies extrañas de la CEC, es un potente estímulo para la expresión de la selectina P⁸⁶. En una segunda fase se produce una adhesión más firme entre las células endoteliales y los leucocitos. En esta fase participan unas proteínas llamadas integrinas. La síntesis de estas proteínas en los neutrófilos se ve incrementada ante la presencia de IL-8 y C5a⁸⁷. Las integrinas se unen a moléculas de adhesión expresadas en la superficie endotelial, en particular la molécula de adhesión intracelular 1 aunque también pueden unirse a elementos del matriz extracelular como el fibrinógeno. Finalmente, los neutrófilos una vez adheridos firmemente a la superficie endotelial son capaces de transmigrar a través del epitelio y son estimulados para liberar, mediante degranulación, proteasas citotóxicas y radicales libres. Generalmente, en ausencia de un estímulo proinflamatorio que lo mantenga, las concentraciones de citoquinas y C5a regresan a su nivel basal. En el caso de la cirugía cardiaca con CEC este momento suele coincidir en el periodo postoperatorio⁸⁸.

La respuesta inflamatoria que se produce durante la cirugía cardiaca se ve influenciada por tres tipos de factores (preoperatorios, intraoperatorios y postoperatorios) que influyen en la intensidad de la misma:

5.4.1.1 Factores preoperatorios.

Se ha descrito que aquellos pacientes que son sometidos a CEC y que presentan previamente a la cirugía disfunción miocárdica padecen un incremento significativo en la concentración de citoquinas proinflamatorias durante la cirugía que posteriormente se traduce en una frecuencia mayor de complicaciones postoperatorias

⁸⁹. La edad no parece ser un factor importante en la liberación de citoquinas en este tipo de cirugías. Sin embargo, se ha comprobado que en pacientes diabéticos (inversamente proporcional al mal control de la enfermedad) la respuesta inflamatoria es más intensa

⁹⁰.

5.4.1.2 Factores intraoperatorios.

La inestabilidad hemodinámica perioperatoria que provoca, entre otros efectos, una disminución de la circulación esplácnica es la fuente, mediante los fenómenos de isquemia-reperfusión, de un mayor secuestro de neutrófilos en la vasculatura pulmonar pudiendo producir un SDRA en el contexto del cual se puede asistir a una mayor actividad de los radicales libres y la expresión, también aumentada, de iNOS ⁹¹. Algunas citoquinas, especialmente el FNT- α , parecen jugar un papel crucial en este proceso ⁹².

Mucha de la medicación que se utiliza durante el acto anestésico tiene capacidad inmunomoduladora. Lamentablemente, las implicaciones clínicas de este hecho no han sido estudiadas en profundidad. La mayor parte de la información proviene de estudios *in vitro*. Por ejemplo, el propofol puede potenciar la respuesta antiinflamatoria por varios mecanismos. Entre ellos probablemente el más importante es aquel que permite mantener el flujo hepatoesplácnico durante la CEC preservando de esta manera la mucosa digestiva ⁹³. Además, esta medicación aumenta la producción de citoquinas antiinflamatorias (IL-10 e IL-1ra) y disminuye la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-8 ⁹⁴. La morfina, por su parte, atenúa la actividad de los linfocitos, granulocitos y macrófagos. Por otro lado, la morfina también incrementa la secreción de ACTH y glucocorticoides que tienen efecto inhibitor del sistema inmune. Gran parte del efecto inmunomodulador de la morfina se realiza a través de los receptores μ_3 . Por el contrario, el fentanilo tiene poca capacidad de unirse a estos

receptores por lo que su capacidad de mitigar la respuesta inflamatoria es menor ⁹⁵. El midazolam parece tener poco efecto inmunomodulador. Los gases anestésicos disminuyen la producción de citoquinas proinflamatorias (Il-1 β , FNT- α) en células mononucleares ⁹⁶. En concreto, el sevoflurano, isoflurano y halotano reducen el secuestro de neutrófilos y plaquetas en la circulación coronaria preservando la función miocárdica que puede verse disminuida por los fenómenos de isquemia y reperfusión. Este efecto se debe, en parte, a que disminuyen la expresión de moléculas de adhesión en los neutrófilos ⁹⁷.

El tipo de cirugía (bien de revascularización o sustitución valvular) no determina la intensidad de la respuesta inflamatoria. Se cree que es la severidad de la enfermedad la que condiciona aquella ⁹⁸.

Las particularidades de la CEC también condicionan la respuesta inflamatoria. Se ha visto que el tipo de solución que se utiliza en la cardioplejia, la presencia de pulsatilidad o no en la perfusión, el tipo de oxigenador y bomba, el tipo de circuito y la temperatura durante la misma son elementos importantes ⁹⁹.

Finalmente, la transfusión puede jugar un papel importante en la respuesta inflamatoria. Se estima que aproximadamente el 20% de las transfusiones alogénicas se asocian a la cirugía cardiaca. Se ha comprobado que este tipo de transfusión exacerba la respuesta inflamatoria durante este tipo de cirugía incrementando la concentración de mediadores proinflamatorios ¹⁰⁰.

5.4.1.3. Factores postoperatorios.

En este apartado pueden incluirse la ventilación mecánica que puede ayudar a incrementar la inflamación a través de diferentes mecanismos entre los que destacan la facilitación de la traslocación bacteriana a través de la barrera alveolo-capilar, la acumulación de citoquinas intrapulmonares y la facilitación del paso de estas al torrente

sanguíneo ¹⁰¹. Además, se ha descrito que las técnicas continuas de reemplazo renal son capaces de eliminar mediadores inflamatorios y sus inhibidores lo que puede regular la respuesta inflamatoria ¹⁰².

Las implicaciones clínicas de la activación de la respuesta inflamatoria en cirugía cardíaca con CEC se han dividido en dos perspectivas:

Por un lado existen efectos beneficiosos que se relacionan fundamentalmente con la preparación del organismo para la agresión quirúrgica. En este contexto se ha descrito que si experimentalmente se realiza un pretratamiento con endotoxinas inhaladas (las cuales inducen un reclutamiento de leucocitos), estas protegen contra una posterior infección bacteriana ¹⁰³. Desde este punto de vista, la inflamación se considera un estado protector de la infección. Además, algunas interleuquinas proinflamatorias tales como FNT- α e IL-1 se consideran imprescindibles para la regeneración tisular de las heridas quirúrgicas ¹⁰⁴.

Por otro lado, se han considerado efectos perjudiciales ¹⁰⁵ que se han relacionado, por ejemplo, con la lesión pulmonar aguda en el periodo postoperatorio, mayor frecuencia de episodios de infarto de miocardio perioperatorio y disfunción miocárdica, disfunción hepática, alteraciones de la hemostasia, inmunosupresión y complicaciones neurológicas. Respecto a estas últimas complicaciones, la disfunción endotelial y la interacción entre el endotelio y las células inflamatorias son importantes en el proceso. Además, se ha descrito que la pérdida de la capacidad vasodilatadora del endotelio que puede verse en este contexto condicionan un incremento en el riesgo de complicaciones neurológicas ¹⁰⁶. También se ha descrito experimentalmente en modelos animales que el NO formado por la NOS en respuesta al glutamato constituye una potente neurotoxina ¹⁰⁷. Del mismo modo, se ha podido comprobar que aquellas estrategias que permitan atenuar la respuesta inflamatoria pueden mejorar el pronóstico

neurrológico. Así Shinoka et al.¹⁰⁸ han demostrado que el bloqueo experimental de las moléculas de adhesión reduce las complicaciones neurológicas, también, en otro modelo animal. Finalmente, la aprotinina que es una proteasa inhibidora con importantes propiedades hemostáticas y antiinflamatorias se ha relacionado también con una reducción significativa del ictus postoperatorio durante la cirugía cardíaca con CEC¹⁰⁹.

5.4.2. Interacciones entre coagulación e inflamación.

La activación de la inflamación y la coagulación, y sobremanera, la interacción entre ambas, son muy importantes en la patogénesis de las complicaciones vasculares en diferentes entidades clínicas¹¹⁰. Por ejemplo, son bien conocidos los procesos protrombóticos asociados con la sepsis. Además, se ha descrito que la formación de un trombo, cuando se rompe la placa arteriosclerótica, contiene gran cantidad de células inflamatorias, siendo este el sustrato fisiopatológico de los eventos isquémicos agudos¹¹¹.

El factor tisular (FT) interviene en uno de los puntos clave al inicio de los procesos procoagulantes relacionados con la inflamación. Se ha demostrado que el bloqueo del FT inhibe la formación de trombina en modelos animales donde la endotoxemia constituía el estímulo inflamatorio¹¹². Las células que expresan el FT no están en contacto con el torrente sanguíneo. El FT se pone en contacto con la sangre cuando se produce una disrupción de la integridad vascular o cuando las células sanguíneas inician la síntesis de esta molécula. Esta síntesis, *in vivo*, se ha demostrado que es muy dependiente de la IL-6 como se ha demostrado en endotoxemias experimentales donde la inhibición completa de la IL-6 suprime la formación de trombina mediada por el FT, mientras, la inhibición de otras citoquinas no tiene efecto alguno¹¹³. En la sepsis severa, las células mononucleares, estimuladas por citoquinas

proinflamatorias, expresan el FT . Esta es una de las explicaciones que permite entender la activación sistémica de la coagulación en este proceso ¹¹⁴. Incluso, en experimentos realizados con voluntarios sanos utilizando bajas dosis de endotoxina, se ha demostrado que se produce una síntesis de FT aproximadamente 125 veces el nivel basal en monocitos de sangre periférica ¹¹⁵. El FT se une al factor VIIa y se inician las reacciones, a través de la cascada de la coagulación, hasta la formación de trombina.

En el contexto de activación de la coagulación en un medio interno proinflamatorio se ha visto que las plaquetas también pueden ser activadas por la propia endotoxina o por mediadores proinflamatorios como el factor activador de plaquetas. Schorer et al ¹¹⁶ han descrito que la endotoxina y la IL-1 β estimula la liberación del factor de von Willebrand desde el endotelio el cual promueve la concentración de plaquetas en aquel punto generando un ambiente procoagulante. La trombina, por su parte, es uno de las moléculas que más capacidad tiene de activar a las plaquetas. Además, la expresión de selectina P en las plaquetas activadas mediará la adhesión de estas plaquetas a las células endoteliales y leucocitos que a su vez harán que mediante la activación del factor nuclear kappaB se expresen mayores cantidades de FT.

La actividad procoagulante está compensada por tres importantes sistemas anticoagulantes: antitrombina, el sistema de la proteína C y el sistema inhibidor del FT . Durante los procesos inflamatorios, el funcionamiento de estos tres sistemas está disminuido. Por ejemplo, se conoce que en el SIRS los niveles de antitrombina están marcadamente disminuidos a consecuencia de una menor síntesis, degradación por parte de elastasas liberadas por neutrófilos activados y finalmente (el aspecto más importante cuantitativamente) por un excesivo consumo de la molécula a consecuencia de una producción continua de trombina ¹¹⁷. La proteína C es activada cuando la trombina se une al endotelio en presencia de trombomodulina. Durante los procesos inflamatorios

graves, el sistema de la proteína C funciona defectuosamente a consecuencia de una presencia disminuida de trombomodulina en la superficie endotelial. Esta circunstancia está mediada por moléculas proinflamatorias: FNT- α e IL-1 β ¹¹⁸. Finalmente, se ha visto que la administración de dosis elevadas del sistema de inhibidor del FT bloquea la formación de trombina que se produce en los procesos inflamatorios¹¹⁹.

Otro aspecto que se ve alterado por la inflamación es la fibrinólisis. Los reguladores más importantes de los activadores e inhibidores del plasminógeno son el FNT- α y la IL-1 β ¹²⁰. La presencia de estas citoquinas en la circulación permite la liberación de los activadores del plasminógeno desde sus depósitos localizados en las células endoteliales. Sin embargo, la actividad de los activadores se ve contrarrestada por la liberación de los inhibidores, a su vez, de los activadores de plasminógeno. Uno de los que tiene un papel más relevante es el Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1). Cuando esta molécula está presente se produce una inhibición de la fibrinólisis, de esta manera no se elimina adecuadamente la fibrina formada conduciendo a la formación de trombos en la microvasculatura. En animales de experimentación con deficiencia en la formación de activadores de plasminógeno se ha demostrado que ante un estímulo infeccioso presentan mayor depósito de fibrina en algunos órganos. Por otro lado, aquellos animales con incapacidad genética de producir PAI-1, fueron incapaces de depositar fibrina secundaria al mismo estímulo infeccioso¹²¹.

Se sabe que los fenómenos procoagulantes potencian, a su vez, la inflamación. Esto conduce a la creación de un círculo vicioso donde es más probable el desarrollo de disfunción multiorgánica. En este sentido, se ha descrito que la trombina, el factor Xa y la fibrina pueden estimular directamente las células mononucleares y endoteliales facilitando la síntesis de IL-6 e IL-8¹²². *In vivo* también ha podido demostrarse, mediante experimentos realizados en voluntarios sanos, que la administración de

factores de la coagulación activados (factor VIIa) causa un aumento significativo de los niveles plasmáticos de IL-6 e IL-8 ¹²³. El mecanismo exacto mediante el cual los factores de la coagulación activados aumentan la producción de las citoquinas proinflamatorias es a través de los llamados receptores de las proteasas activadas (PARs, del inglés, protease-activated receptors). Se han descrito 4 tipos de PARs. Estos receptores están localizados en la membrana de las células endoteliales, mononucleares, plaquetas, fibroblastos y células musculares lisas ¹²⁴. Concretamente, PAR-1, PAR-3 y PAR-4 son receptores que se unen a la trombina. Además, el PAR-1 y PAR-2 también pueden servir como receptor para el complejo FT-factor VIIa y factor Xa. Una vez unidos a sus ligandos estos receptores son capaces de activar respuestas que conducen a la producción de radicales libres del oxígeno, aumentar la expresión de moléculas de adhesión y activar el complejo mayor de histocompatibilidad clase II.

Finalmente, la presencia de fibrinógeno y fibrina estimula en las células endoteliales y monocitos la producción de citoquinas proinflamatorias entre las que se incluyen el FNT- α y la IL-1 β . Se ha descrito que el efecto del fibrinógeno y la fibrina sobre las células mononucleares es a través del los Toll-like receptor 4 que a su vez actúan como receptores de endotoxina ¹²⁵.

5.4.3. Coagulación y fibrinólisis durante la CEC

Una vez expuesta las relaciones que existen entre la coagulación y la inflamación debe señalarse que durante la cirugía cardiaca con CEC se produce una activación de la coagulación. Tradicionalmente, la activación de la coagulación relacionada con la CEC se creía asociada a la vía intrínseca. En este caso, el factor XII es uno de los puntos clave. Este resulta activado una vez se pone en contacto la sangre con el circuito de CEC. No obstante, se ha visto que pacientes con déficit congénito del

factor XII son capaces de generar trombina durante la CEC ¹²⁶. Este hecho sugiere que la vía extrínseca, que requiere la expresión y activación del factor tisular y que a su vez, como se reflejado anteriormente, está estrechamente ligado a los fenómenos proinflamatorios de este tipo de cirugía, juega un papel muy importante ¹²⁷.

Las medicaciones habituales durante este tipo de procedimientos, como pueden ser la heparina y la protamina, las cuales son utilizadas para modular la coagulación, pueden tener importantes propiedades inmunomoduladoras. De la heparina se han descrito importantes propiedades antiinflamatorias ¹²⁸. Cuando la heparina es neutralizada mediante la utilización de protamina pueden verse diversos efectos cardiovasculares entre los que se incluyen hipertensión pulmonar, hipotensión sistémica y disminución del consumo de oxígeno miocárdico, gasto cardiaco, frecuencia cardiaca y resistencias vasculares sistémicas. Además, la interacción heparina-protamina es capaz de activar, por si mismo, la respuesta inflamatoria por varios mecanismos entre los cuales se incluye la activación del complemento, liberación de histamina, producción de tromboxano, óxido nítrico y formación de anticuerpos ¹²⁹.

El balance pro-anticoagulante se ve ampliamente alterado en la cirugía cardiaca. La activación de factores procoagulantes como la trombina implica la utilización profiláctica de medicación anticoagulante previamente a la CEC para evitar la formación de trombos cuando la sangre contacte con las superficies extrañas. En los casos más agresivos de activación de la coagulación, donde pudieran intervenir condicionantes genéticos, se asiste a una activación de las plaquetas y formación continua de trombina que puede desencadenar, si se mantiene la situación, una coagulación intravascular diseminada. El resultado es una formación, también continua, de fibrina que se deposita en la microvasculatura produciendo dificultad del paso de sangre y secundariamente facilitar la disfunción de diferentes órganos ¹³⁰.

5.4.4. Aspectos genéticos de la cirugía cardiaca.

La atención clínica especializada a los pacientes sometidos a cirugías de alto riesgo constituye un área de conocimiento importante dentro de la Medicina moderna. Además, requiere un enfoque multidisciplinar. Durante las últimas décadas se ha logrado un avance importante en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que subyacen en torno a la agresión quirúrgica. Sin embargo, los clínicos e investigadores desconocen, en gran medida, los determinantes genéticos y moleculares que condicionan el pronóstico de las grandes cirugías.

Siempre ha sido de gran interés la evaluación del riesgo preoperatorio. En el caso de cirugías no-cardíacas, se han desarrollado índices clásicos como los descritos por Goldman et al ¹³¹. Actualmente, los protocolos clínicos habituales utilizan, en este tipo de cirugías, tests cardiológicos para mejorar la estratificación perioperatoria aunque, lamentablemente, el valor predictivo es bajo ¹³². De forma similar, se han propuesto varios sistemas de estratificación del riesgo en cirugía cardiaca, haciendo especial hincapié en aspectos relacionados con la mortalidad, complicaciones no fatales, utilización de recursos y satisfacción del paciente ¹³³. No obstante, se ha visto mediante un análisis prospectivo de estos sistemas de evaluación preoperatorio, que existen discrepancias en la determinación del pronóstico individual además de errores, de sobreestimación o infraestimación, en algunos subgrupos de pacientes ¹³⁴. Debido, en gran parte, a la falta de precisión en la clasificación individual, durante los últimos años se están buscando nuevas variables a través de las cuales se pueda predecir más eficazmente el pronóstico y complicaciones asociadas a la cirugía cardiaca. La detección precoz de un subgrupo de pacientes que posean un riesgo aumentado de padecer complicaciones postoperatorias es de gran interés clínico en particular y sanitario en general si se atiende, por ejemplo, a los gastos atribuibles a las

complicaciones postoperatorias. Según cálculos del sistema sanitario norteamericano, aproximadamente 40 millones de pacientes son sometidos, anualmente, a cirugía cardíaca. Esto supone un gasto sanitario de 450 billones de dólares por año. Si además se añade que un tercio de los pacientes tienen más de 65 años y de estos cerca del 40% padecen factores de riesgo cardiovascular ¹³⁵, el número de complicaciones perioperatorias cardiovasculares puede alcanzar el número de 1.25 millones por año lo que resulta en un gasto sanitario adicional de 25 billones de dólares. Además, se espera que en el año 2020 el número de intervenciones quirúrgicas cardiovasculares se incrementará un 25% lo que, asociado a un mayor envejecimiento de la población, hace previsible un aumento del 100% de las complicaciones cerebrales, cardíacas y renales asociadas a la cirugía cardíaca ¹³⁶.

Entre las nuevas variables que se están considerando recientemente aparecen, con fuerza creciente, las genéticas. Las variaciones en el genoma que determinan la susceptibilidad a desarrollar complicaciones postoperatorias no sólo tienen que ver con aquellos determinantes genéticos que influyen en el desarrollo de comorbilidades (por ejemplo, se han identificado mediante la utilización de técnicas que analizan amplias regiones del genoma y basándose en estudios familiares algunas variables genéticas asociadas a enfermedades cardiovasculares tales como la cardiopatía isquémica ¹³⁷ y el ictus cerebral ¹³⁸) si no que se ha postulado que la variabilidad genética de vías (cascadas de reacciones) específicas que intervienen en los procesos fisiopatológicos durante la cirugía, entre ellas la de la coagulación, pueden tener gran importancia en la aparición de algunos tipos de complicaciones ¹³⁹. Otros genes candidatos con interés clínico pueden ser aquellos relacionados con el metabolismo lipídico, funcionamiento de canales iónicos y el mantenimiento de la integridad de la membrana celular ¹⁴⁰. Una aproximación a la influencia de las variables genéticas en el pronóstico de la cirugía

cardiaca es a través de estudios de asociación. Los más relevantes quedan reflejados en la tabla 1.

Tabla 1. Asociación de polimorfismos genéticos con complicaciones en el postoperatorio de cirugía cardiaca.			
Gen	Polimorfismo	Tipo de cirugía	OR/ p
Cirugía de revascularización: fallo del injerto			
FV	R506Q(FVL)	Revascularización/CEC	3.29 ¹⁴¹
ITGB3	L33P(PIA1/PIA2)	Revascularización/CEC	2.5 ¹⁴²
CMA1	-1905 A/G	Revascularización/CEC	P= 0.005 ¹⁴³
Fibrilación auricular postoperatoria			
IL-6	-174 G/C	Revascularización/CEC	3. 25 ¹⁴⁴
Eventos cardiacos postoperatorios mayores			
ACE	In/del	Revascularización/CEC	3.1 ¹⁴⁵
ITGB3	L33P	Revascularización/CEC	4.7 ¹⁴⁶
SELP	N562D	Revascularización + cirugía valvular/CEC	18.5 ¹⁴⁷
Transplante: rechazo del injerto.			
FNT/ IL-10	-308 G/A/ -1082 G/A	Transplante cardiaco.	p≤ 0.05 ¹⁴⁸
Sangrado perioperatorio			
FV	R506Q (FVL)	Todos los tipos de cirugía con CEC	P= 0.01 ¹⁴⁹
Complicaciones neurológicas			
IL-6	-174 G/C	Todos los tipos de cirugía con CEC	3.3 ¹⁵⁰
Perioperative renal failure			
AGT	M235T	Revascularización/CEC	32.19 (valor de F) ¹⁵¹
FV: factor V. FVL: factor V de Leiden. CEC: circulación extracorporea. ITGB3: glicoproteína IIIa. CMA1: herat chumase. IL-6: interleuquina-6. ACE: encima convertidora de angiotensina. SELP: P-selectina.. AGT: angiotensinógeno.			

Algunos de estos polimorfismos requieren, por su interés, algunos comentarios adicionales: existen pocos estudios que analicen el papel de los genes de las principales moléculas proinflamatorias en el pronóstico de la cirugía cardiaca. Se puede destacar, en este sentido, el trabajo desarrollado por el grupo español de Merino et al ¹⁵² que analizaron los polimorfismos del FNT- β e IL-1ra en relación con el desarrollo del síndrome de bajo gasto tras la revascularización miocárdica con circulación extracorpórea (excluyendo el bajo gasto secundarios a infarto de miocardio). Estos autores han descrito que existe significativamente más riesgo para desarrollar bajo gasto periooperatorio en aquellos pacientes con algún alelo G en el primer intrón del TNF- β y en pacientes homocigotos A2 para el gen de la IL-1ra. Otro molécula proinflamatoria, la IL-6, es sintetizada en respuesta a diferentes estímulos inflamatorios. Niveles elevados de esta interleuquina se han asociado con el desarrollo ¹⁵³ y gravedad de la enfermedad coronaria ¹⁵⁴ y con una mayor inestabilidad de la placa arteriosclerótica ¹⁵⁵. Brull et al ¹⁵⁶ analizaron el genotipo del gen de la IL-6 en pacientes sometidos a by-pass coronario y su relación con los niveles plasmáticos de esta citoquina en el periodo postoperatorio. Los pacientes con el polimorfismo consistente en una C en la posición – 572 del gen presentaron niveles significativamente superiores de IL-6 respecto a otros genotipos analizados 6 horas después de la intervención .

Por otro lado, el gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) puede presentar inserciones/delecciones en el intrón 16. Los pacientes homocigotos para la delección en esa posición (DD) desarrollan un mayor crecimiento e hipertrofia de las cavidades izquierdas si padecen hipertensión o cardiopatías, pero no es sujetos sanos ¹⁵⁷. La presencia del alelo D se ha asociado en el postoperatorio de cirugía cardiaca con el desarrollo de vasculopatía severa en el trasplante cardiaco ¹⁵⁸, ¹⁵⁹.

Las variaciones genéticas en los genes que codifican los receptores de las glucoproteínas en la superficie plaquetaria pueden ayudar a identificar también a pacientes con mayor riesgo isquémico. Mathew et al ¹⁶⁰ son los primeros autores que relacionan el polimorfismo del gen de la proteína GPIIIA con un estado procoagulante y el desarrollo de ictus después de by-pass coronarios.

El polimorfismo E469 del ICAM-1 se ha asociado con un efecto protector de vasculopatía en el trasplante cardiaco ¹⁶¹.

Existen otros grupos de genes candidatos sobre los cuales sólo existen estudios preliminares. Algunos de ellos están implicados en la respuesta a las catecolaminas. Philip et al ¹⁶² han observado que el polimorfismo G>T en la posición 894 del gen que codifica la sintetasa de óxido nítrico se asocia a una respuesta aumentada a la fenilefrina. Por su parte, el alelo E4 del gen de la proteína APOE se ha relacionado con el deterioro de la función renal y neurológica después de la cirugía cardiaca ^{163, 164}.

5.5 Inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1).

5.5. 1. PAI-1: función.

El PAI-1 es el principal inhibidor de los activadores del plasminógeno. Inactiva rápidamente al t-PA (del inglés, tissue plasminogen activator) y al u-PA (del inglés, urokinase-type plasminogen activator) y actúa como proteína de fase aguda. Es una glicoproteína (50-kDa) de una única cadena. Presenta similitudes estructurales con otras proteínas de la familia de las serpinas. Se sintetiza de novo (*in vitro*) por las siguientes células: hepatocitos, células endoteliales, plaquetas, adipocitos e incluso miocitos ¹⁶⁵ aunque se desconoce con exactitud qué tipo de células son las principales responsables de su secreción *in vivo*. Además, los gránulos- α de las plaquetas contienen gran cantidad

de PAI-1 principalmente en forma libre. La síntesis se regula por varios mediadores entre los que se incluyen: endotoxina, IL-1, FNT, factor de crecimiento de fibroblastos-2, lipoproteínas, glucosa, insulina y glucocorticoides. El PAI-1 es eliminado de la circulación por el hígado. El ritmo de secreción es circadiano describiéndose un pico matutino.

El PAI-1 puede encontrarse de tres formas diferentes. Una forma activa, otra inactiva y una tercera, latente. La forma activa tiene una vida media de 1 hora convirtiéndose posteriormente en forma latente. Esta es más estable y puede pasar a forma activa. Cuando la forma activa forma un complejo con la vitronectina se multiplica por 2-4 veces la vida media del PAI-1 constituyendo la forma más eficaz de inhibidor.

Un exceso o defecto de PAI-1 puede provocar alteraciones trombóticas o hemorrágicas respectivamente ¹⁶⁶. Por ejemplo, los déficits congénitos de PAI-1 se han relacionado con sangrados excesivos tras cirugía o trauma ¹⁶⁷. Por el contrario, un exceso de PAI-1 se ha relacionado con fenómenos trombóticos. Este concepto ha sido demostrado en animales manipulados genéticamente con hiperproducción de PAI-1 en los que se ha visto que sufrían trombosis venosas e isquemia en las zonas acras ¹⁶⁸.

Existen diferentes situaciones clínicas en las que los niveles de PAI-1 están elevados. Por ejemplo, algunos estudios han señalado una asociación entre la hipofibrinólisis debida a una elevada concentración de PAI-1 plasmática y la enfermedad coronaria ¹⁶⁹. Incluso se ha descrito que existe una elevación de los niveles de PAI-1 previamente a la existencia de un infarto de miocardio ¹⁷⁰. Los niveles elevados de PAI-1 también se han asociado a recurrencia y a una mayor mortalidad durante el primer mes después de padecer un infarto de miocardio ¹⁷¹. El PAI-1 se ha relacionado directamente con la trombosis intramural que es un hallazgo frecuente en

las placas arterioscleróticas que se complican y que juega un papel principal en el estrechamiento de la luz vascular. Por este motivo si se producen alteraciones locales en la actividad fibrinolítica debida al incremento de producción de PAI-1 se puede asistir a una rápida progresión de depósitos de fibrina y acumulo de matriz extracelular conduciendo a una disminución del flujo sanguíneo tisular ¹⁷². Además, durante la enfermedad isquémica coronaria se activa el sistema renina angiotensina. Se ha descrito una asociación entre la activación de este sistema y los niveles de PAI-1. También se conoce que la angiotensina II induce la expresión de PAI-1 ¹⁷³. Otros factores asociados a la enfermedad coronaria como la obesidad y la diabetes también han sido asociados a unos niveles plasmáticos de PAI-1 más elevados ¹⁷⁴. Las hormonas sexuales también se relacionan con los niveles de PAI-1. Los estrógenos, bien de manera directa o indirecta, disminuyen la concentración plasmática. Por este motivo se sabe que durante la menopausia los niveles de PAI-1 son más elevados ¹⁷⁵.

Por otro lado, una actividad fibrinolítica reducida bien debida a una disminución en la concentración del activador de plasminógeno o a un aumento del inhibidor de plasminógeno ha sido asociada a episodios de trombosis venosa profunda ¹⁷⁶. No sólo eso, Schulman et al ¹⁷⁷ en un amplio estudio prospectivo han descrito que si los niveles de PAI-1 permanecían elevados 6 meses después de ocurrido el primer episodio de trombosis venosa profunda, este hecho se correlacionaba con el riesgo de recurrencia.

Se debe señalar también que el PAI-1 es un reactante de fase aguda que se encuentra estrechamente relacionado con aquellas variables que intervienen en los procesos inflamatorios. En concreto se ha descrito una mayor producción de PAI-1 paralelamente a la producción de ciertas citoquinas como FNT- α , IL-1, IL-6 ¹⁷⁸.

Finalmente, se sabe que el PAI-1 compite con la trombomodulina para unirse a la trombina que, en combinación con la inhibición de la proteína C activada, genera un

ambiente procoagulante y, por tanto, con mayor riesgo de formar trombos intravasculares ¹⁷⁹. Además, recientemente Brodsky et al ¹⁸⁰ han descrito la capacidad que tiene el PAI-1 de formar micropartículas procoagulantes en una cantidad que es dosis dependiente.

5.5.2. Polimorfismo 4G/5G del PAI-1.

El gen del PAI-1 tiene varios loci polimórficos. Estos quedan resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Polimorfismos de gen del PAI-1		
Localización	(pb)	Tipo
Región Promotora	-844	G/A
	-675	4G/5G
	-153	(CA)n
Intrón 4	7.843	(CA)n
Exón 8	9.785	G/A
3'-UTR	11.053	T/G
	11.320	CGCGCCCC
	12.078	G/A
	19.9k	HindIII

Uno de los más estudiados es una inserción/delección en la posición - 675 del promotor. Este polimorfismo afecta a la unión de proteínas nucleares encargadas de regular la transcripción. Se han asociado niveles más altos de PAI-1 al genotipo 4G/4G.

El alelo 4G es capaz de unir sólo un activador de la transcripción, mientras el alelo 5G puede unir bien un represor o un activador produciéndose, globalmente, niveles más bajos de PAI-1¹⁶⁶. Aunque la región promotora también se ve regulada por factores ambientales como pudieran ser los niveles de triglicéridos (se han observado niveles más altos de PAI-1 en individuos con genotipo 4G/4G e hipertrigliceridemia¹⁸¹) se ha descrito que los individuos con genotipo 4G/4G presentan niveles plasmáticos aproximadamente un 25% más elevados que los individuos 5G/5G¹⁸².

El papel del polimorfismo 4G/5G del gen del PAI-1 en el riesgo de trombosis venosa profunda (TVP) es, a pesar de todo, controvertido. Grubic et al¹⁸³ analizaron la asociación entre este polimorfismo y la presencia de TVP confirmada. Ninguno de los genotipos se asoció a la presencia de TVP. Sin embargo, en pacientes con TVP y genotipo 4G/4G se observaron niveles de PAI-1 significativamente más elevados respecto a pacientes 5G/5G. Akar et al¹⁸⁴, han descrito que el alelo 4G incrementa el riesgo de TVP fundamentalmente si está heredado junto al factor V de Leiden. Este hecho se asocia con un riesgo 5 veces superior de padecer TVP. Algo parecido ocurría con pacientes con déficit de proteína S. Zoller et al¹⁸⁵ han demostrado que en pacientes con déficit hereditario de proteína S, la presencia de un genotipo 4G/4G incrementa de manera significativa la presencia de embolismo pulmonar. Por otro lado, recientemente, se han publicado dos estudios (uno de ellos basado en un metaanálisis y otro en una población amplia de pacientes, más de 5000) que relacionan la presencia del genotipo 4G/4G con un riesgo significativamente alto de desarrollar infarto de miocardio^{186, 187}.

La potencia biológica de este polimorfismo queda de manifiesto si analizamos su papel en el pronóstico de otras entidades con una actividad inflamatoria elevada. En pacientes con sepsis meningocócica, Hermans et al¹⁸⁸ han demostrado que los pacientes con genotipo 4G/4G presentaron unos niveles plasmáticos de PAI-1 significativamente

superiores al resto de los genotipos. Además, este estudio describió un riesgo significativamente elevado (justamente el doble) de mortalidad en pacientes con genotipo 4G/4G. Otros autores confirmaron este hecho al describir, de nuevo, una mayor mortalidad en pacientes con genotipo 4G/4G cuando estos padecen un proceso séptico general ¹⁸⁹ e incluso se ha descrito también, en pacientes con sepsis meningocócica, cómo los pacientes supervivientes que tuvieron genotipo 4G/4G padecieron mayores secuelas vasculares ¹⁹⁰.

Finalmente, en pacientes politraumatizados también se ha analizado la importancia pronóstica del polimorfismo 4G/5G. Menges et al ¹⁹¹ han observado que los pacientes con al menos un alelo 4G, no sólo presentaron niveles plasmáticos de PAI-1 significativamente superiores respecto a los no portadores del alelo 4G, sino que además, en ellos, fueron detectados también niveles plasmáticos significativamente elevados de FNT- α e IL-1. Además, los portadores del alelo 4G tuvieron una incidencia significativamente elevada de sepsis y fracaso multiorgánico. En este estudio, el genotipo 4G/4G se asoció, también, a una mayor mortalidad.

5.6. Interpretación de los Estudios Genéticos.

En general gran parte de las entidades clínicas que interesan al paciente crítico tienen un carácter multifactorial (influencia de variables ambientales y genéticas). Desde el punto de vista exclusivamente las enfermedades del paciente crítico (entre las que incluimos el SIRS desarrollado en el contexto de la cirugía cardiaca) son enfermedades poligénicas donde, a diferencia de las monogénicas, múltiples genes y factores ambientales interaccionan y se modulan ¹⁹². Algunas características de las enfermedades poligénicas que conviene señalar son: 1) más de un gen participa en las manifestaciones fenotípicas de la enfermedad. 2) los genes participantes en la

enfermedad presentan una penetrancia incompleta. 3) pueden existir manifestaciones fenotípicas de la enfermedad causada solamente por factores ambientales. 4) existe una interacción entre los genes participantes y el ambiente que modula la expresividad de la enfermedad.

Existen dos métodos de aproximación al análisis de los determinantes genéticos en las enfermedades poligénicas. Por un lado a través del análisis de ligamiento. En este tipo de estudios se intenta identificar una región del genoma que es transmitida a través de los familiares y que se asocia al fenotipo de interés. Este tipo de análisis ha sido más eficaz en la descripción de enfermedades monogénicas ¹⁹³. Por otro lado están los estudios de asociación. En este tipo de estudios se utilizan sujetos no relacionados (no familiares) afectados por la enfermedad que se quiere estudiar (casos) y sujetos no relacionados que no se encuentran afectados por la enfermedad (controles). En ambos grupos se comparan las frecuencias de los alelos del gen candidato. Se denomina gen candidato a aquel gen que se elige para el análisis genético y que se ha demostrado que puede ser importante, fisiopatológicamente, en la instauración o pronóstico de la enfermedad. Por ejemplo, si se analiza el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, un buen gen candidato pudiera ser el gen del FNT- α .

En términos prácticos, cuando se logra una asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo de interés y la enfermedad investigada debe tenerse en cuenta que esta asociación puede atribuirse a una de estas tres circunstancias: 1) el polimorfismo analizado tiene una implicación funcional importante en la enfermedad e interviene directamente en la manifestación del fenotipo. 2) el polimorfismo analizado está en desequilibrio de ligamiento (el desequilibrio de ligamiento describe la situación en la que una combinación de secuencias polimórficas se presentan en una población con una frecuencia que no es la esperada. Implica que el conjunto de secuencias

polimórficas son heredadas de forma coordinada. Dicho de otra manera, el genotipo que estamos analizando se hereda conjuntamente con otro genotipo que no estamos midiéndolo, adyacente, y que es el verdadero determinante genético de la enfermedad que estamos considerando.). 3) En el peor de los casos, los hallazgos son producto del azar. En este último caso, para minimizar al máximo la influencia del azar, en los estudios de asociación debe tenerse en consideración algunos principios importantes:

1) Que el gen candidato sea fisiopatológicamente importante en la enfermedad estudiada. El inconveniente desde este punto de vista es que, como quedó señalado anteriormente, en las enfermedades poligénicas existen varios genes que son, a buen seguro, clínicamente importantes.

2) Que exista una adecuada selección de los casos y los controles. Esto exige que se describa perfectamente el fenotipo que se está investigando (enfermedad). En muchas ocasiones se debe recurrir a definiciones de consenso (p.e. sepsis) que hace difícil el diagnóstico. La mayoría de estudios de asociación emplean una variable dicotómica en relación con el fenotipo (afectado/no afectado). Además, se aconseja que tanto casos como controles pertenezcan al mismo grupo étnico¹⁹⁴. Recientemente, Joel et al¹⁹⁵ en un análisis sistemático de la literatura refieren que uno de los errores más frecuentes en los estudios de asociación, que conduce a la aparición de falsos positivos, son las diferencias étnicas entre los casos y los controles.

3) Que la población de casos y controles estén en equilibrio de Hardy-Weinberg. El equilibrio de Hardy-Weinberg es un modelo teórico para genética de poblaciones. El concepto de equilibrio en el modelo de Hardy-Weinberg se basa en las siguientes hipótesis : 1. La población es panmíctica (todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es al azar). 2. La población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos).

3. La población no está sometida a migración, mutación o selección (no hay pérdida ni ganancia de alelos). 4. Las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación. Bajo estas circunstancias las poblaciones genéticas se mantienen en equilibrio.

4) Si se analizan múltiples polimorfismos, se deben utilizar test estadísticos para corregir comparaciones múltiples.

6.- HIPOTESIS.

La hipótesis de esta Tesis fue que los pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea que posean un genotipo homocigoto 4G/4G (que a su vez les condiciona una mayor producción de PAI-1 y por tanto el desarrollo de un ambiente más procoagulante frente a un estímulo inflamatorio) pueden tener un peor pronóstico postoperatorio requiriendo, por tanto, un mayor nivel de cuidados hospitalarios.

7.- OBJETIVOS.

7.1 Primarios.

a) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y la aparición de complicaciones neurológicas postoperatorias.

b) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y el sangrado postoperatorio a través del drenaje torácico.

7.2 Secundarios.

a) Explorar la relación entre el genotipo homocigoto 4G/4G y la ventilación mecánica prolongada en el periodo postoperatorio.

b) Explorar la relación entre el genotipo homocigoto 4G/4G y la estancia prolongada en UCI.

c) Explorar la relación entre el genotipo homocigoto 4G/4G y la estancia prolongada hospitalaria.

d) Explorar la relación entre el genotipo homocigoto 4G/4G y otras complicaciones postoperatorias: infarto perioperatorio, bajo gasto perioperatorio y fracaso renal agudo.

8.- MATERIAL Y MÉTODOS.

8.1. Tipo de Estudio.

Se ha realizado, por una parte, un estudio de casos-controles y por otro lado un estudio prospectivo de cohortes. Ambos observacionales. No intervencionistas. Los pacientes fueron reclutados en la Unidad de Cuidados Intensivos de postoperados de Cirugía Cardíaca en el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid. El seguimiento de los pacientes se realizó durante su estancia en la UCI y en planta de hospitalización convencional en el Servicio de Cirugía Cardíaca.

El periodo de estudio fueron 24 meses. Una primera parte (12 meses) se empleó en el reclutamiento de pacientes e inclusión de las variables clínicas en la base de datos. Las variables preoperatorios, perioperatorias y postoperatorias fueron recogidas prospectivamente. En una segunda parte (6 meses) se realizó el análisis del genotipo y se incluyeron las variables genéticas en la base de datos. Finalmente, en una tercera parte (6 meses) se analizaron los resultados y se redactó la presente tesis.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital 12 de Octubre. Los pacientes fueron incluidos en el presente estudio si cumplían los criterios de inclusión que se señalan más adelante y accedían a firmar el consentimiento informado que en todos los casos se solicitó al propio paciente.

Todos los pacientes y los controles fueron españoles de raza caucásica. Se consideraron controles 111 sujetos aparentemente sanos seleccionados de la misma área geográfica que los casos.

Como parte de los procedimientos preoperatorios habituales el ácido acetilsalicílico fue suspendido 4 días antes de la intervención quirúrgica. Además, se realizó un estudio previo con ultrasonografía en busca de patología carotídea en aquellos pacientes con historia previa de ictus y/o accidente isquémico transitorio o

endarterectomía carotídea previa. Los especialistas en Medicina Intensiva que se encargaron del cuidado de estos pacientes no tuvieron acceso al genotipo de los mismos hasta una vez finalizado el estudio.

8.2. Criterios de Inclusión.

Fueron reclutados aquellos pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea.

Los tipos de cirugía incluidos fueron: revascularización miocárdica, cirugía valvular, cirugía mixta (revascularización miocárdica más cirugía valvular), cirugía aórtica y trombectomías pulmonares.

8.3. Criterios de Exclusión.

Fueron excluidos aquellos pacientes sometidos previamente a cirugía cardíaca, cirugía cardíaca urgente o emergente, pacientes en diálisis crónica, pacientes con insuficiencia hepática y aquellos pacientes con una infección activa.

8.4. Definición de variables.

Complicación Neurológica: Se refiere, por un lado, a la presencia de un ictus que queda definido como el desarrollo de una focalidad neurológica, de reciente aparición, detectada en el periodo postoperatorio que persiste 24 horas o más. Además, también se consideró complicación neurológica la presencia de encefalopatía en la que se engloban pacientes con delirio (consistente en un cuadro agudo y transitorio caracterizado por una disfunción global de las funciones cognitivas, disminución del nivel de conciencia, incremento de la actividad psicomotriz y alteraciones del ciclo

sueño-vigilia¹⁹⁶), coma o crisis epilépticas¹⁹⁷ en cualquier momento durante el periodo postoperatorio en UCI.

El diagnóstico de ictus y encefalopatía se realizó por los especialistas en Medicina Intensiva encargados del cuidado diario de los pacientes en la UCI de Cirugía Cardíaca del Hospital 12 de Octubre. Los pacientes, a su vez, fueron incluidos en el estudio si las complicaciones neurológicas no fueron sospechosas de atribuirse a otras causas de deterioro neurológico (p.e demencia) y/o causas médicas tales como alteraciones metabólicas, hipoxia o fármacos.

Ventilación Mecánica Prolongada fue definida como la necesidad de soporte ventilatorio más de 24 horas¹⁹⁸. Se ha utilizado un sistema de predicción de necesidad de ventilación mecánica prolongada que ha sido previamente descrito en pacientes sometidos a cirugía cardíaca¹⁹⁹. El fundamento de este sistema de predicción es el siguiente: se considera la comorbilidad (tabaquismo, diabetes, angina inestable e insuficiencia cardíaca congestiva). A cada uno de ellos se le asigna un valor de 0.25 y se suma para cada paciente. También se considera la fracción de eyección. La fórmula general sería: 5.409 (total calculado para comorbilidad) $- 0.437$ (fracción de eyección) $- 1.821$. Los pacientes con un valor por encima de 0 fueron catalogados de *alto riesgo* de padecer VMP. Los pacientes con una puntuación por debajo de 0 se catalogaron con *bajo riesgo* para PVM. En esta tesis se calculó un valor medio para los pacientes homocigotos 4G/4G y un valor medio para los pacientes no homocigotos 4G.

Se consideró **Estancia Prolongada en UCI** si el paciente no fue dado de alta hasta las 48 horas o más. Se consideró **Estancia Hospitalaria Prolongada** si el paciente permanecía en el hospital dos semanas o más²⁰⁰.

Infarto Agudo de Miocardio Perioperatorio fue definido como la presencia de CK-MB mayores o iguales de 90 UI/l y la presencia de de QR al menos en dos derivaciones del electrocardiograma que no estuvieran presente previamente.

Síndrome de Bajo Gasto fue definido como la necesidad de fármacos vasoactivos durante al menos 24 horas ¹⁹⁸.

Fracaso Renal Agudo fue definido como la presencia de unos niveles de creatinina plasmática mayores o iguales a 1.5 mg/dl en el postoperatorio o necesidad de diálisis o hemofiltración. Si los pacientes sufrían previamente insuficiencia renal crónica, se consideró fracaso renal agudo si los niveles de creatinina doblaron los basales.

La **mortalidad** hace referencia a si el paciente falleció durante su estancia en UCI o en la planta de Cirugía Vascular.

Se ha utilizado preoperatoriamente la escala EuroScore (del inglés: **European System for Cardiac Operative Risk Evaluation**) para la evaluación del riesgo de mortalidad relacionada con la cirugía ²⁰¹, ²⁰². La tabla 3 refleja las variables incluidas en el cálculo de esta variable. Aquellos pacientes con una puntuación mayor o igual a 6 son considerados de alto riesgo ²⁰³.

Tabla 3. Variables incluidas en el cálculo del EuroScore

Factores del paciente			Factores cardiacos		
Edad (a.)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="0"/>	Angina inestable	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Sexo	<input type="text" value="..."/>	<input type="text" value="0"/>	Fración de eyección de V.I.	<input type="text" value="..."/>	<input type="text" value="0"/>
Enfermedad pulmonar crónica ¹	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	I.A.M. reciente	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Arteriopatía extracardiaca	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Presión sistólica pulmonar > 60 mmHg	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Disfunción neurológica	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Factores operatorios		
Cirugía cardiaca previa	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Emergencia	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Creatinina > 200 µmol/ L	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Cirugía distinta a coronaria aislada	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Endocarditis activa	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Cirugía sobre la aorta torácica	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>
Situación preoperatoria crítica	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>	Rotura septal post-infarto	<input type="text" value="No"/>	<input type="text" value="0"/>

Se consideró la presencia de hipercolesterolemia, hipertensión arterial y diabetes si el paciente estaba recibiendo tratamiento específico en el momento de la inclusión en el estudio.

8.5. Circulación extracorpórea : procedimiento general.

Inicialmente, todo paciente que es sometido a cirugía cardiaca con CEC es sometido a monitorización invasiva de la presión arterial, monitorización de la presión en aurícula derecha a través de catéter venoso central o monitorización de las presiones pulmonares y presión de enclavamiento a través del catéter de Swann-Ganz. Además, el paciente es sometido a anestésica general.

De forma general, el establecimiento de la CEC se realiza en aquellas intervenciones quirúrgicas cardíacas en las que es preciso que el corazón se halle vacío, parado y protegido contra la isquemia. Conceptualmente se trata de una máquina 'corazón-pulmón'.

El establecimiento de la CEC conlleva una serie de pasos generales: una vez que está listo el campo quirúrgico se preparan las tubuladuras que servirán de conexión entre el paciente y la máquina de CEC. Una vez realizada la esternotomía y expuesto el corazón (tras la escisión y fijación del pericardio), se procede a la heparinización completa del paciente (empleando generalmente heparina sódica intravenosa, la cual se puede administrar por una vía venosa central o mediante inyección directa en la aurícula derecha). Una vez anticoagulado el paciente, se inserta en la aorta ascendente la cánula aórtica que será la encargada de introducir en el organismo la sangre que impele la bomba de CEC tras su oxigenación. A continuación, se introduce una cánula en la aurícula derecha (a través de la orejuela derecha), la cual drenará toda la sangre desaturada que llega al corazón. El siguiente paso, una vez que se vaciado el corazón, consiste en conseguir que este deje de latir sin sufrir las consecuencias de la isquemia. Para ello, se coloca una cánula en la aorta ascendente, a través de la cual se inyectará en las arterias coronarias una solución denominada 'solución de cardioplejia' (compuesta, entre otras cosas, por sangre fría y potasio) que consigue que el corazón deje de latir en diástole y permanezca sin sufrir los efectos de la isquemia durante un plazo aproximado de 20-30 minutos. Esto se denomina cardioplejia anterógrada. Además de la vía anterógrada, se puede inyectar cardioplejia haciendo un recorrido inverso al que realiza la circulación fisiológicamente (desde las venas coronarias hacia los capilares) insertando otra cánula, en este caso, en el seno coronario. Este tipo de protección cardíaca se conoce como cardioplejia retrógrada y es especialmente útil en los casos de

pacientes con patología coronaria, que no permite que la cardioplejia anterógrada se distribuya adecuadamente por la circulación cardiaca.

En resumen, la CEC permite que se pueda realizar una intervención quirúrgica sobre el corazón y los grandes vasos, estando el paciente en asistolia pero garantizando el mantenimiento de la circulación en el resto del organismo y el mínimo sufrimiento del corazón.

En este estudio se ha utilizado para establecer la CEC un circuito de polivinilcloruro que incluye un filtro de 40- μ m, una bomba de rodillo SARNs® y un oxigenador de membrana Cobe®. La canulación aórtica se realizó en áreas libres de arteriosclerosis. Esta circunstancia se comprobó mediante presión digital. La protección miocárdica se realizó mediante solución cardiopléjica anterógrada intermitente. Durante la CEC se ha mantenido un flujo que osciló entre 2.4 y 4.8 l/min/m² una presión arterial media entre 50 y 70 mmHg. Al finalizar la intervención, la anticoagulación fue revertida con protamina. La temperatura sistémica se mantuvo entre 28 y 32°C.

8.6. Protocolo de retirada de la ventilación mecánica.

En todos los pacientes incluidos en el estudio se ha utilizado un protocolo estandarizado de retirada de la ventilación mecánica. Este protocolo consiste en la comprobación, inicialmente, del estado de alerta del paciente y la capacidad de obedecer órdenes. Posteriormente, se insta al paciente que realizara una inspiración profunda. Si el paciente es capaz de realizar una fuerza inspiratoria negativa superior a 20 cm de H₂O se coloca una presión positiva continua en el respirador de 8 cm de H₂O (suficiente para superar la resistencia de la tubuladura). Los pacientes cumplieron

criterios de extubación si la situación clínica se mantenía estable y en la gasometría realizada 1 hora después presentaban $\text{pH} > 7.30$, $\text{pCO}_2 < 50$ mmHg y $\text{pO}_2 > 70$ mmHg con una FiO_2 de 0.4.

8.7. Protocolo de alta de UCI.

Los pacientes se consideraron en situación de ser dados de alta de la UCI cuando cumplieron los siguientes criterios: saturación arterial $\geq 90\%$ necesitando una concentración de oxígeno $\leq 50\%$ administrada mediante mascarilla, estabilidad hemodinámica que se tradujo en ausencia de fármacos vasoactivos y ausencia de alteraciones del ritmo (o en su defecto con control farmacológico), tubos de drenaje torácico retirados o con un débito inferior a 50 ml/h, producción horaria de orina ≥ 0.5 ml/Kg/h y ausencia de actividad epileptiforme.

8.8. Protocolo de alta del Hospital.

Por otro lado, los pacientes se consideraron en situación de ser dados de alta hospitalaria cuando cumplieron los siguientes criterios: estabilidad hemodinámica y del ritmo cardiaco, ausencia de fiebre, heridas quirúrgicas limpias y secas, tolerancia de dieta por vía oral e independencia para sus actividades diarias.

8.9. Análisis del polimorfismo 4G/5G del gen del PAI-1.

El ADN fue aislado procedente de sangre total (sangre arterial o venosa, indistintamente). Se obtuvo para ello 10 cc de sangre en un tubo que contenía EDTA como anticoagulante. Posteriormente, mediante una solución osmótica se lisaron los glóbulos rojos. El producto resultante de la lisis se centrifugó obteniéndose un acúmulo de células nucleadas en la parte inferior del tubo (a partir de las cuales se

extrajo el ADN) y otro de hematíes fragmentados en la parte superior del mismo. Estos últimos y el plasma fueron eliminados mediante aspiración. La extracción propiamente dicha se realizó mediante DNAzol que básicamente consiste en una operación secuenciada en la que se aplican detergentes celulares y más tarde alcoholes a dosis crecientes con el fin de compactar el ADN.

Posteriormente, en la determinación exacta del polimorfismo genético motivo de estudio, se han utilizado *primers* específicos que flanquean la región donde se conoce está situado el polimorfismo. Estos fueron PAI-1F 5'-cacagagagagtctggccacgr-3' y PAI-1R 5'-agaccaagagtcctctgttgg-3'. La PCR (del inglés: Polymerase Chain Reaction) se realizó en un volumen total de 50 µl en los cuales están contenidos 125 ng de ADN, 190 µmol/l de dNTP, 5 µmol/L de 16-dUTP/biotin, 12.5 pmol/L de cada *primer*, and 0.75 U de *Taq* polimerasa en un buffer de 1x *Taq* polimerasa [20 mmol/L Tris HCl, pH 8.5; 16 mmol/L (NH₄)₂SO₄; 2.5 mmol/L MgCl₂; and 150 µg/mL BSA]. El producto final de la PCR contuvo la amplificación de 100 pares de bases (pb). Este producto fue digerido por una enzima de restricción (*Bsl-I*). La presencia de 5 guaninas en el lugar polimórfico hace que la enzima de restricción no identifique su lugar de corte y se mantienen las 100 pb sin seccionar. La presencia de 4 guaninas permite a la enzima de restricción escindir la molécula de ADN en dos segmentos (uno de 77 y otro de 23 pb). Los fragmentos obtenidos después de la digestión con la enzima de restricción fueron sometidos a electroforesis en un gel de poliacrilamida al 10% aplicando bromuro de etidio para visualizarlos, posteriormente, mediante luz ultravioleta.

Los genotipos fueron clasificados en 3 grupos: pacientes homocigotos 5G/5G, pacientes heterocigotos 4G/5G y pacientes homocigotos 4G/4G. Figura 1.

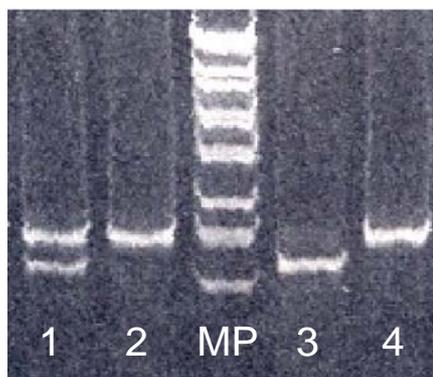


Figura 1.

Pié de figura. Patrón de restricción *Bsl-I* de los productos de amplificación del gen PAI-1 para la identificación del polimorfismo 4G/5G. En las calles 2 y 4 se ven individuos homocigotos para el alelo 5G, en la calle 3 se ve un individuo homocigoto para 4G y en la calle 1 un heterocigoto 4G/5G. MP, es la calle correspondiente al marcador de peso molecular.

8.10. Formulario de recogida de datos.

El formulario de recogida de datos de este estudio constó de las siguientes partes:

- 1) Identificación del paciente: mediante el número de historia, iniciales de su nombre manteniéndose el anonimato.
- 2) Variables demográficas: edad, sexo, índice de masa corporal.
- 3) Antecedentes personales: historia de tabaquismo, diabetes, hipercolesterolemia, hipertensión arterial, fibrilación auricular crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, historia previa de enfermedad isquémica cerebral, insuficiencia renal crónica.
- 4) Tratamiento actual: antiagregantes, anticoagulantes.

5) Clase funcional.

6) Tipo de cirugía: cirugía valvular, revascularización miocárdica, mixta, cirugía aortica y otras.

7) Características de la Cirugía: Tiempo de cirugía, Tiempo de CEC, Tiempo de clampaje aórtico.

8) Escala de gravedad: Euroscore.

9) Antifibrinolítico empleado durante la cirugía.

10) Variables postoperatorias: complicaciones neurológicas, drenaje torácico a las 6, 24 horas y drenaje total, ventilación mecánica prolongada, estancia prolongada en UCI, estancia hospitalaria prolongada, , infarto de miocardio perioperatorio, síndrome de bajo gasto y fracaso renal agudo.

11) Variables genéticas: genotipos.

8.11. Análisis estadístico.

Los cálculos estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico SPSS versión 11.0 (SPSS Inc). Para la realización de las comparaciones se consideraron dos grupos: pacientes homocigotos 4G/4G (por un lado) y pacientes heterocigotos 4G/5G y homocigotos 5G/5G (por otro lado).

La comparación de variables cualitativas se realizó mediante el test estadístico Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher cuando fue preciso. Las horas de ventilación mecánica y los días de estancia hospitalaria se reflejaron como mediana y rango intercuartílico (del inglés, IQR 25%-75%). Además, para las variables cualitativas, se calculó el Riesgo Relativo (RR).

Para el cálculo de las variables independientemente asociadas a las complicaciones neurológicas, ventilación mecánica prolongada, estancia en UCI

prolongada, estancia hospitalaria prolongada, se realizó un análisis multivariante mediante una regresión logística binaria 'pasos hacia adelante'. En el modelo multivariante se incluyeron aquellas variables cuya asociación, mediada mediante un análisis univariante, tuviera un valor de $p \leq 0.20$ o fueran clínicamente relevantes. En el modelo final sólo se incluyeron aquellos predictores con un nivel de significación $p \leq 0.05$. Para el RR y Odd Ratio (OR) se consideró el intervalo de confianza (IC) del 95%. Para analizar la influencia del pronóstico neurológico en las variables ventilación mecánica prolongada, estancia prolongada en UCI y estancia hospitalaria prolongada se llevaron a cabo dos modelos de regresión logística en los que se incluyeron, de manera independiente, por un lado complicaciones neurológicas globales (ictus más encefalopatía) y por otro encefalopatía aisladamente. Se realizó, además, un análisis de las interacciones entre las variables.

Para investigar las variables relacionadas con la cantidad de drenaje postoperatorio se realizó inicialmente una exploración de las posibles diferencias entre genotipos mediante una t de student y posteriormente para describir e identificar la importancia relativa de las variables descritas en la literatura en relación con esta variable, y teniendo en cuenta que la variable drenaje postoperatorio es una variable cuantitativa, se realizó un análisis multivariante mediante regresión lineal múltiple.

La precisión del modelo multivariante se evaluó mediante la bondad de ajuste de Homer-Lemesow²⁰⁴.

9.- RESULTADOS.

9.1. Población del estudio.

El presente estudio se realizó durante un periodo de dos años consecutivos. Fueron incluidos 260 pacientes sometidos a cirugía cardiaca con CEC. Además, 111 controles aparentemente sanos, y de la misma área geográfica, fueron incluidos en el estudio.

9.2. Análisis del genotipo.

La tabla 4 refleja la distribución de genotipos en el grupo de casos y controles.

Tabla 4. Distribución de genotipos en la población de casos y controles			
	Genotipo homocigoto 4G/4G n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n (%)	Genotipo homocigoto 5G/5G n(%)
Casos n= 260	47 (18.1)	131 (50.4)	82 (31.5)
Controles n= 111	29 (26.1)	59 (53.2)	23 (20.7)

No se han observado diferencias significativas en la distribución de los genotipos entre los casos y los controles.

Por su parte, las frecuencias alélicas en ambos grupos poblacionales fueron: casos, 0.43 para el alelo 4G y 0.57 para el alelo 5G. Controles, 0.53 para el alelo 4G y 0.47 para el alelo 5G.

La distribución de alelos no difiere significativamente de la ley de Hardy-Weinberg en la cohorte de casos y controles.

9.3. Edad.

La media de edad en la población general de pacientes ha sido de 64 (DE 11). En la población de pacientes homocigotos 4G/4G la media de edad ha sido 64.18 (DE 11.4); en los pacientes heterocigotos 4G/5G la media de edad ha sido 65.3 (DE 10.6) y finalmente en los pacientes homocigotos 5G/5G la media de edad ha sido 63.9 (DE 12.7). No se han encontrado diferencias significativas en la edad entre los grupos comparados. Además, 99 pacientes (38.1%) tuvieron una edad superior a 70 años. De estos, 18 pacientes (38.3%) correspondieron al grupo de pacientes homocigotos 4G/4G, 48 pacientes (36.6%) correspondieron al grupo de pacientes heterocigotos 4G/5G y 33 pacientes (40.2%) al grupo de pacientes homocigotos 5G/5G.

La edad media de los controles ha sido 62.4 (DE 11.6). De estos 42 controles (37.8%) tuvieron una edad superior a 70 años.

9.4. Género.

La relación hombre/mujer en la población general de pacientes fue (0.6/0.4); en la población de pacientes homocigotos 4G/4G (0.61/0.39), en la población de pacientes heterocigotos 4G/5G (0.61/0.39) y en la población de pacientes homocigotos 5G/5G (0.64/0.36).

La relación hombre/mujer en el grupo control fue 0.62/0.38.

9.5. Índice de Masa Corporal.

El Índice de Masa Corporal (IMC) fue de 27.2 Kg/m² (DE 4.11) en la población general de pacientes. En el grupo de pacientes homocigotos 4G/4G fue de 27.2 Kg/m² (DE 4.1). En el grupo de pacientes heterocigotos 4G/5G fue 27 Kg/m² (DE 4.1) y en el

grupo de pacientes homocigotos 5G/5G fue de 27.5 Kg/m² (DE 4). En esta variable tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos analizados.

En el grupo control el IMC fue de 27.5 Kg/m² (DE 4.5).

9.6. Comorbilidad.

Tabla 5. Comorbilidad y Genotipos en la población de casos				
	Población general de casos n= 260 n(%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n(%)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 n(%)
Tabaquismo activo	108(41.5)	19(40.5)	55 (42)	34 (41.6)
Hipertensión arterial	145(55.8)	27(57.4)	73 (55.7)	45 (54.9)
Diabetes	43(16.5)	8(17)	19 (14.5)	16 (19.5)
Enfermedad isquémica cerebral previa	20(7.7)	4(8.5)	7 (5.3)	9 (11)
Insuficiencia renal crónica	17(6.5)	3(6.4)	10 (7.6)	4 (4.9)
Hipercolesterolemia	103(39.6)	19(40.4)	51 (38.9)	33 (40.2)
Fibrilación auricular rónica	32(12.3)	4(8.5)	18 (13.7)	10 (12.2)
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	20(7.7)	4(8.5)	10 (7.6)	6 (7.3)

Para las variables analizadas no fueron encontradas diferencias significativas entre los subgrupos considerados.

9.7. Tratamiento habitual.

Los tratamientos habituales más frecuentes no mostraron diferencias significativas entre los grupos analizados. La tabla 6 resume los tratamientos distribuidos por genotipos.

Tabla 6. Tratamientos habituales según genotipo en la población de casos				
	Población general de casos n= 260 n(%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n(%)	Geotipo homocigoto 5G/5G n=82 n(%)
Vasodilatadores	102(39.2)	20(42.6)	51 (38.9)	31 (37.8)
Anticoagulantes	86(33.1)	17(36.2)	43 (32.8)	26 (31.7)
Antiagregantes	92(35.4)	15(31.9)	45 (34.4)	32 (39)
B-bloqueantes	90(34.6)	15(31.9)	48 (36.6)	27 (32.9)
Diuréticos	118(45.4)	25(53.2)	93(43.7)	31 (37.8)

9.8. Clase funcional preoperatoria.

La tabla 7 resume las clases funcionales preoperatorias según los genotipos analizados.

Tabla 7. Clase Funcional Preoperatoria en la población de casos.				
	Población general de casos n= 260 n(%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n(%)	Geotipo homocigoto 5G/5G n=82 n(%)
I	51(19.6)	12(25.5)	23 (17.6)	23 (17.6)
II	90(34.6)	12(25.5)	46 (35.1)	46 (35.1)
III	84(32.3)	19(40.4)	43 (32.8)	43 (32.8)
IV	35(13.5)	4(8.5)	19 (14.5)	19 (14.5)

No se han encontrado diferencias significativas entre los grupos comparativos para las clases funcionales. Existe una tendencia no significativa a que los pacientes homocigotos 4G/4G presenten una incidencia menor de clase funcional IV.

9.9. Riesgo preoperatorio: Escala EuroScore.

Tabla 8. Puntuaciones medias en la escala de riesgo preoperatorio EuroScore				
	Población general de casos n= 260 Media (DE)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 Media (DE)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 Media (DE)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 Media (DE)
EuroScore	5.2 (2.6)	5.6 (3)	5 (2.4)	5.1 (2.8)

No se han encontrado diferencias significativas en los valores medios de la escala EuroScore para los grupos comparados.

La tabla 9 refleja la distribución de pacientes con puntuación en la escala EuroScore igual o mayor que 6. Estos pacientes, como se ha explicado en el apartado de material y métodos, son considerados de alto riesgo.

Tabla 9. Distribución de puntuaciones de EuroScore \geq 6			
Población general de casos n= 260 n(%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n(%)	Geotipo homocigoto 5G/5G n=82 n(%)
122 (46.9)	25 (53.2)	57 (43.5)	40 (48.8)

La distribución no ha mostrado diferencias significativas entre los grupos comparativos.

9.10. Tipo de cirugía cardíaca.

Tabla 10. Distribución del tipo de intervenciones quirúrgicas según genotipo				
	Población general de casos n= 260 n(%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n(%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n(%)	Geotipo homocigoto 5G/5G n=82 n(%)
Revascularización	73(28.1)	8(17)	39 (29.8)	26 (31.7)*
Cirugía Valvular	140(53.8)	29 (61.7)	69 (52.7)	42 (51.2)
Cirugía Valvular más Revascularización	29(11.2)	5 (10.6)	14 (10.7)	10 (12.2)
Cirugía Aórtica	11(4.2)	3 (6.4)	6 (4.6)	2 (2.4)
Otras cirugías	7(2.7)	2 (4.3)	3 (2.3)	2 (2.4)

* $p \leq 0.05$

El porcentaje de pacientes heterocigotos 4G/5G y homocigotos 5G/5G en los que se realizó cirugía de revascularización miocárdica exclusivamente fue significativamente más alto que en los pacientes 4G/4G. El resto de los procedimientos quirúrgicos no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

9.11. Características temporales de la cirugía.

Tabla 11. Valores temporales medios				
	Población general de casos n= 260 Media (DE)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 Media (DE)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 Media (DE)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 Media (DE)
Duración CEC (minutos)	119.6 (42.3)	116.2 (47.1)	120.6 (44.2)	199.6 (50.7)
Tiempo de clampaje aórtico (minutos)	92.1(30.5)	87.1 (31.2)	93.6 (32)	92.7 (27.7)

No se han encontrado diferencias significativas entre los grupos comparativos para la duración de la CEC y el clampaje aórtico.

9.12. Prevención del riesgo de sangrado.

En la población analizada se han utilizado fundamentalmente dos fármacos para prevenir el sangrado perioperatorio: aprotinina y ácido tranexámico. La tabla 12 refleja la distribución de fármacos entre los genotipos considerados.

Tabla 12. Distribución de la administración de aprotinina y ácido tranexámico				
	Población general de casos n= 223 n (%)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 n (%)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 n (%)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 n (%)
Aprotinina	117 (45)	21 (44.7)	55 (42)	41 (50)
Acido tranexámico	106 (40.8)	19 (40.4)	49 (40)	38 (47)

No se han encontrado diferencias significativas en la utilización de ambos tipos de fármacos entre los grupos de comparación. En 37 pacientes, a criterio de anestesista y cirujano, no se ha utilizado medicación preventiva de sangrado. Dentro de este subgrupo de pacientes tampoco existieron diferencias significativas entre genotipos.

9.13. Riesgo de ventilación mecánica prolongada.

La tabla 13 refleja la distribución de valores medios en la escala de ventilación mecánica prolongada entre los genotipos analizados.

Tabla 13. Escala clínica de ventilación mecánica prolongada			
Población general de casos n= 260 Media (DE)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 Media (DE)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 Media (DE)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 Media (DE)
- 0.71 (0.24)	- 0.67 (0.23)	- 0. 76 (0.31)	- 0.73 (0.29)

No se han encontrado diferencias significativas en el riesgo de ventilación mecánica prolongada entre los grupos de comparación. Según esta escala todos los grupos presentan un riesgo bajo de permanencia con ventilación mecánica.

9.14. Complicaciones neurológicas. Incidencia.

En nuestro estudio hemos identificado 54 pacientes con complicaciones neurológicas (20%). De estas, 14 fueron ictus (5.4%) y el resto, es decir, 40 fueron encefalopatías (14.6%).

Todas las complicaciones neurológicas fueron detectadas dentro de las 48 horas del periodo postoperatorio.

En todos los casos, a excepción de 3 pacientes que por razones de inestabilidad hemodinámica fue imposible su movilización, se realizó tomografía axial computerizada cerebral. Todas las pruebas de imagen resultaron normales.

9.15. Complicaciones neurológicas. Antecedentes personales.

Tabla 14. Complicaciones neurológicas y antecedentes personales. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Complicaciones neurlógicas globales n= 54	Ausencia de complicaciones neurológicas n= 206	p	RR	IC 95%
> 70 años	32 (59.3)	69 (32.5)	0.002	3.01	1.63-5.58
Mujer	26(48.1)	78(37.8)	0.17	1.52	0.83-2.7
Tabaquismo activo	21(38.9)	87(42.2)	0.75	0.87	0.47-1.60
Diabetes	9(16.7)	34(16.5)	1	1.02	0.45-2.26
Hipercolesterolemia	21(38.9)	82(39.8)	1	0.96	0.52-1.77
Enfermedad isquémica cerebral previa	5(9.3)	15(7.3)	0.62	1.29	0.45-3.74
Hipertensión arterial	34(63)	111(53.9)	0.23	1.45	0.78-2.69
Fibrilación auricular crónica	9(16.7)	23(11.2)	0.35	1.59	0.68-3.6
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	3(5.6)	17(8.3)	0.77	0.65	0.18-2.31
Insuficiencia renal crónica	8(14.8)	9(4.4)	0.01	3.80	1.4-10.4
Fracción de eyección ≤ 60%	16(29.6)	57(27.7)	0.86	1.01	0.56-2.12

En nuestro estudio, sólo la edad superior a 70 años y la presencia de insuficiencia renal crónica se asociaron a un riesgo significativamente superior de desarrollar complicaciones neurológicas globales. Cabe destacar que el haber padecido algún tipo de enfermedad isquémica cerebral previamente no se asocia con este tipo de complicaciones. Tampoco se asocian otras variables que habitualmente se encuentran relacionadas con eventos isquémicos tales como tabaquismo, diabetes, hipercolesterolemia e hipertensión arterial.

9.16. Complicaciones neurológicas. Variables pre y perioperatorias.

En la tabla 15 se describen mediante un análisis univariante las variables pre y perioperatorias relacionadas con las complicaciones neurológicas.

Tabla 15. Complicaciones neurológicas. Variables pre y perioperatorias. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Complicaciones neurológicas globales n= 54 n(%)	Ausencia de complicaciones neurológicas n= 206 n(%)	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	43(79.6)	79(38.3)	0.001	6.28	3.06-12.9
Tiempo de CEC \geq 150 min	17(31.5)	43(20.9)	0.1	1.74	0.89-3.38
Tiempo de clampaje aórtico \geq 60 min	34(63)	130(63.1)	0.98	0.99	0.53-1.84
Síndrome de bajo gasto	21(38.9)	39(18.9)	0.05	2.72	1.4-5.21
Fracaso renal agudo	20(37)	26(12.6)	0.001	4.07	2.04-8.1
Infarto de miocardio perioperatorio	3(5.6)	14(6.8)	0.74	0.8	0.22-2.9

Un riesgo preoperatorio elevado, desarrollar bajo gasto en el periodo perioperatorio y desarrollar fracaso renal agudo fueron las tres variables que se asociaron al desarrollo de complicaciones neurológicas. En nuestro estudio ni el tiempo de CEC ni el tiempo de clampaje aórtico se asoció con esta complicación. Además, el infarto de miocardio sin desarrollo de bajo gasto tampoco se asocia a mayor número de complicaciones neurológicas.

9.17. Complicaciones neurológicas globales y genotipos.

La tabla 16 muestra el análisis univariante que asocia el desarrollo de complicaciones neurológicas con los genotipos analizados.

Tabla 16. Complicaciones neurológicas según los genotipos analizados.				
	Población general de casos n= 260 Media (DE)	Genotipo homocigoto 4G/4G n= 47 Media (DE)	Genotipo heterocigoto 4G/5G n =131 Media (DE)	Genotipo homocigoto 5G/5G n=82 Media (DE)
Complicaciones neurológicas globales	54 (20.8)	17 (36.2)*	23 (17.6)	14 (17.1)

* $p \leq 0.05$.

Se han encontrado una incidencia significativamente superior de complicaciones neurológicas en los pacientes homocigotos 4G/4G cuando son comparados con el resto de los pacientes.

La tabla 17 refleja el RR de los pacientes homocigotos para el desarrollo de complicaciones neurológicas.

Tabla 17. Análisis univariante y Riesgo Relativo en pacientes homocigotos 4G/4G					
	Complicaciones neurológicas n= 54 n (%)	Ausencia de complicaciones neurológicas n= 206 n (%)	p	RR	IC
Pacientes homocigotos 4G	17 (31.5)	30 (14.6)	0.01	2.7	1.25-5.4

9.18. Complicaciones neurológicas globales. Análisis multivariante.

La tabla 18 refleja las variables independientemente asociadas, en nuestro estudio, al desarrollo de complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca.

Tabla 18. Complicaciones neurológicas. Análisis multivariante.		
	Complicaciones neurológicas globales OR (95% CI) n=54	p
EuroScore ≥ 6	5.5 (2.6 - 12)	0.001
Síndrome de bajo gasto	3.7 (1.4-6.6)	0.01
Fracaso renal agudo	2.5 (1.2 - 5.4)	0.02
Genotipo 4G/4G	3.1 (1.4 -6.6)	0.005
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.3

El genotipo homocigoto 4G/4G es una variable independientemente asociada al desarrollo de complicaciones neurológicas. Por otro lado, la puntuación en la escala EuroScore ≥ 6 fue la variable con una asociación más fuerte a estas complicaciones. Además, otras variables asociadas fueron el fracaso renal agudo y el bajo gasto perioperatorio.

9.19. Ictus perioperatorios. Antecedentes personales.

Tabla 19. Ictus perioperatorios y antecedentes personales. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Ictus perioperatorios n= 14 n (%)	Ausencia de ictus perioperatorios n= 246 n (%)	p	RR	IC 95%
> 70 años	12 (85.7)	87 (35.4)	0.003	6.6	1.7-24.2
Mujer	9 (64.3)	95 (38.6)	0.09	2.8	0.9-8.7
Tabaquismo	0 (0)	35 (14.2)	0.2	0.9	0.9-1
Diabetes	4 (28.6)	39 (15.9)	0.2	2.1	0.6-7
Hipercolesterolemia	5 (35.7)	98 (39.8)	1	0.8	0.32.5
Enfermedad isquémica cerebral previa	1 (7.1)	19 (7.7)	1	0.9	0.1-7.4
Hipertensión arterial	8 (57.1)	137 (55.7)	1	1	0.3-3.1
Fibrilación auricular crónica	3 (21.4)	29 (11.8)	0.4	2	0.5-7.7
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	0 (0)	20 (8.1)	0.6	0.9	0.9-1
Insuficiencia renal crónica	0 (0)	17 (6.9)	0.4	0.9	0.8-0.9
Fracción de eyección ≤ 60%	2 (14.3)	42 (17.1)	1	0.8	0.2-3.7

En nuestra serie sólo la edad superior a 70 años se asocia a un riesgo significativamente elevado de padecer ictus perioperatorios.

9.20. Ictus perioperatorios. Variables pre y perioperatorias.

La tabla 20 describe las variables pre y perioperatorias asociadas con el desarrollo de ictus perioperatorios.

Tabla 20. Ictus perioperatorios. Variables pre y perioperatorias. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Ictus perioperatorios n= 14 n (%)	Ausencia de ictus perioperatorios n= 246 n (%)	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	14 (100)	108 (43.9)	0.001	16.6	2.1-128
CEC \geq 150 min	4 (28.6)	56 (22.8)	0.7	1.3	0.4-4.4
Tiempo de clampaje aórtico \geq 60 min	8 (57.1)	156 (63.5)	0.8	0.7	0.2-2.3
Síndrome de bajo gasto	1 (7.1)	25 (10.2)	1	0.7	0.1-5.4
Fracaso renal agudo	4 (28.6)	42 (17.1)	0.08	2.7	0.9-8.7
Infarto de miocardio perioperatorio	1 (7.1)	16 (6.5)	1	1.1	0.1-8.9

A diferencia de las complicaciones neurológicas globales, sólo el EuroScore \geq 6 y el fracaso renal agudo se asocian significativamente al desarrollo de ictus perioperatorios.

9.21. Ictus perioperatorios y genotipos.

Tabla 21. Ictus perioperatorios según los genotipos analizados.				
	Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 82) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 47) n (%)
Ictus perioperatorios	14 (5.4)	4 (8.5)	5 (3.8)	5 (6.1)

Tabla 22. Análisis univariante y Riesgo Relativo de padecer ictus perioperatorios en pacientes homocigotos 4G/4G					
	Ictus perioperatorios n= 14 n (%)	Ausencia de ictus perioperatorios n= 246 n (%)	p	RR	IC
Homocigotos 4G	4 (28.6)	10 (17.5)	0.3	1.8	0.6-6.3

El riesgo de padecer una complicación neurológica tipo ictus en el periodo postoperatorio es casi el doble en los pacientes homocigotos 4G/4G. Sin embargo, no alcanza significación estadística.

No se realizó un análisis multivariante explorando los predictores asociados con los ictus perioperatorios por el bajo número de casos (n=14).

9.22. Encefalopatía. Antecedentes personales.

Tabla 23. Encefalopatía postoperatoria y antecedentes personales. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Encefalopatía postoperatoria n= 40 n (%)	Ausencia de encefalopatía n= 220 n (%)	p	RR	IC 95%
> 70 años	21(52.5)	78(35.5)	0.041	2.01	1.02-3.9
Mujer	18(45)	86(39.1)	0.48	1.27	0.6-2.5
Tabaquismo	5(12.5)	30(13.6)	0.84	0.9	0.32-2.49
Diabetes	5(12.5)	38(17.3)	0.45	0.68	0.25-1.86
Hipercolesterolemia	16(40)	87(39.5)	0.95	1.01	0.51-2.02
Enfermedad isquémica cerebral previa	4(10)	16(7.39)	0.5	1.4	0.4-4.9
Hipertensión arterial	26(65)	119(54.1)	0.2	1.57	0.78-3.2
Fibrilación auricular crónica	6(15)	26(11.8)	0.57	1.31	0.5-3.43
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	3(7.5)	17(7.7)	0.96	0.9	0.27-3.47
Insuficiencia renal crónica.	8(20)	9(4.1)	0.05	5.86	2.1-16.3
Fracción de eyección ≤ 60%	13(32.5)	60(27.3)	0.49	1.28	0.62-2.65

Al considerar exclusivamente la encefalopatía, resultaron significativamente asociadas las mismas variables que se asociaron, a su vez, a las complicaciones neurológicas globales. Tampoco aquellas variables relacionadas habitualmente con el desarrollo de complicaciones isquémicas como el tabaquismo, diabetes e hipertensión arterial se asociaron con esta complicación.

9.23 Encefalopatía postoperatoria. Variables pre y perioperatorias.

Tabla 24. Variables pre y perioperatorias asociadas a encefalopatía postoperatoria (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Encefalopatía postoperatoria n= 40 n(%)	Ausencia de encefalopatía n= 220 n(%)	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	29(72.5)	93(42.3)	0.05	3.6	1.71-7.57
Tiempo de CEC \geq 150 min	12(30)	48(21.8)	0.25	1.53	0.72-3,24
Tiempo de clampaje aórtico \geq 60 min	25(62.5)	139(63.2)	0.93	0.97	0.48-1.94
Síndrome de bajo gasto	10(25)	16(7.3)	0.05	4.25	1.76-10.2
Fracaso renal agudo	15(37.5)	31(14.1)	0.05	3.65	1.73-7.7
Infarto de miocardio perioperatorio	2(5)	15(6.8)	0.67	0.71	0.15-3.2

Las variables pre y perioperatorias asociadas al desarrollo de encefalopatía postoperatoria son las mismas que las asociadas al desarrollo de complicaciones neurológicas globales.

9.24. Encefalopatía postoperatoria y genotipos.

La tabla 25 muestra la distribución de las entidades incluidas en el concepto encefalopatía postoperatoria según genotipos.

Tabla 25. Distribución del tipo de encefalopatía postoperatoria según genotipos.					
		Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 82) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 47) n (%)
Encefalopatía postoperatoria	Delirio	15 (5.8)	4 (8.5)	9 (6.9)	2 (2.4)
	Coma	18 (6.9)	6 (12.8)	8 (6)	4 (4.9)
	Crisis convulsiva	7 (2.7)	3 (6.4)	1 (0.8)	3 (3.7)

La tabla 26 refleja el RR de los pacientes homocigotos 4G/4G para el desarrollo de encefalopatía postoperatoria.

Tabla 26. Encefalopatía y genotipo homocigoto 4G/4G					
	Encefalopatía postoperatoria n= 40 n (%)	Ausencia de encefalopatía n= 220 n (%)	p	RR	IC
Genotipo homocigoto 4G	13 (27.7) *	27 (12.7)	0.014	2.7	1.1-6.5

Los pacientes homocigotos 4G/4G tienen un riesgo significativamente superior de desarrollar encefalopatía postoperatoria respecto a los pacientes heterocigotos y homocigotos 5G/5G.

9.25. Encefalopatía postoperatoria. Análisis multivariante.

La tabla 27 refleja los predictores independientes, en nuestro estudio, para el desarrollo de encefalopatía en el postoperatorio de cirugía cardíaca.

Tabla 27. Encefalopatía postoperatoria. Análisis multivariante.		
	Encefalopatía postoperatoria OR (95% CI) n=54	P
EuroSCORE ≥ 6	3 (1.3 - 6.7)	0.007
Síndrome de bajo gasto	4.5 (1.7 - 11.9)	0.002
Fracaso Renal Agudo	2.4 (1.1 - 5.4)	0.03
Genotipo homocigoto 4G/4G	2.9 (1.3 -6.7)	0.01
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.2

9.26. Evolución clínica de las complicaciones neurológicas.

Dentro de los 54 casos registrados de complicaciones neurológicas se han producido 2 muertes encefálicas y un estado vegetativo persistente.

En los casos de pacientes que sufrieron ictus todos tuvieron una evolución favorable en la UCI donde 9 de ellos (65% de los casos) tuvieron una recuperación total de la focalidad neurológica y el otros 5 (35% de los casos) tuvieron una recuperación parcial en el momento del alta de UCI que se tradujo en una leve mono o hemiparesia en el momento del alta

Las encefalopatías también tuvieron una evolución favorable en UCI. Sólo el 10 pacientes (25% de los casos) presentaban una leve bradipsiquia en el momento del alta de la UCI. Ninguna crisis comicial se volvió a repetir en la planta.

En el momento del alta hospitalaria, todos los pacientes eran independientes para las actividades de la vida diaria.

9.27. Drenaje torácico postoperatorio. Genotipos.

Tabla 28. Distribución del drenaje postoperatorio según los genotipos. Tiempo contabilizado desde su ingreso en UCI.				
	Población general de casos cc Media (DE)	Genotipo homocigo 4G/4G cc Media (DE)	Genotipo heterocigoto 4G/5G cc Media (DE)	Genotipo homocigoto 5G/5G cc Media (DE)
6 horas	224±190	197.6±190	228±193	232±186
24 horas	475.6±322.3	444.7±342	462±301	515.8±343
Drenaje total	652.2±577	722.4±415	603±449	691±502

No se han encontrado diferencias significativas entre los grupos comparativos en relación con el drenaje postoperatorio. En general, puede apreciarse una tendencia no significativa hacia un incremento en el volumen de drenaje torácico en los pacientes que no son homocigotos 4G/4G a las 6 y 24 horas.

8.25 Drenaje torácico postoperatorio por genotipos y en función de medicación preventiva de sangrado: aprotinina.

Tabla 29. Distribución del sangrado postoperatorio según los genotipos en el grupo tratado con aprotinina. Tiempo contabilizado desde su ingreso en UCI.

	Población general de casos cc Media (DE)	Pacientes Homocigotos 4G/4G cc Media (DE)	Pacientes homocigotos 4G/5G cc Media (DE)	Pacientes homocigotos 5G/5G cc Media (DE)
6 horas	205 (201)	135.9 (101.8)*	209 (212.5)	246.2 (221)
24 horas	438 (325.3)	314.5 (180.3)*	440 (332.6)	525.5 (367)
Drenaje total	616 (544.4)	468.7 (406.5)	618 (532.3)	716 (639.9)

* $p < 0.05$

Los pacientes homocigotos 4G/4G tuvieron una cantidad de drenaje torácico significativamente menor a las 6 y 24 horas respecto a los otros genotipos. Sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas en el drenaje total aunque se sigue manteniendo la tendencia.

9.29. Drenaje torácico postoperatorio por genotipos y en función de medicación preventiva de sangrado: ácido tranexámico.

Tabla 30. Distribución del drenaje postoperatorio según los genotipos en el grupo tratado con ácido tranexámico.				
	Población general de casos cc Media (DE)	Pacientes Homocigotos 4G/4G cc Media (DE)	Pacientes homocigotos 4G/5G cc Media (DE)	Pacientes homocigotos 5G/5G cc Media (DE)
6 horas	229.5 (156)	202.6 (125.7)	251 (177.5)	213.8 (138)
24 horas	494.7 (286)	492.6 (238.4)	493 (278.4)	497.3 (323)
Drenaje total	636.5 (379)	698.6 (457)	606.2 (348)	644 (380.4)

No se han encontrado diferencias significativas en el volumen de drenaje torácico, entre los grupos comparativos, en el subgrupo de pacientes tratados con ácido tranexámico.

9. 30. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico en las 6 primeras horas. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G.

Tabla 31. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico a las 6 horas. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G		
	t (95% CI)	p
Edad > 70 años.	0.4 (-66 a 41.5)	0.7
Género	- 0.7 (69 a 33)	0.8
Tratamiento anticoagulante	-0.23 (-52.8 a 51.6)	0.9
Tratamiento antiagregante	1.5 (-13 a 96)	0.14
Tiempo de CEC	0. 5 (-0.4 a -0.7)	0.6
EuroScore ≥ 6	0.8 (-13 a 96)	0.1
Medicación preventiva de sangrado	0.3 (-33 a 7.2)	0.7
Genotipo homocigoto 4G/4G	-1.7 (-113 a 7.2)	0.08

En nuestra serie ninguna de las variables incluidas en el modelo se comporta como un predictor independiente para el drenaje torácico postoperatorio en las 6 primeras horas.

9.31. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico en las 24 primeras horas. Modelo para genotipo 4G/4G.

Tabla 32. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico a las 24 horas. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G		
	t (95% CI)	p
Edad > 70 años.	-0.97 (-132 a 45)	0.3
Género	- 1.1(-130 a 41)	0.3
Tratamiento anticoagulante	-0.1 (-92 a 82)	0.9
Tratamiento antiagregante	2.3 (18 a 200)	0.02
Tiempo de CEC	1.3 (-0.4 a 1.5)	0.2
EuroScore ≥ 6	1.1 (-37 a 140)	0.2
Medicación preventiva de sangrado	0.8 (-59 a 71)	0.2
Genotipo homocigoto 4G/4G	-1.32 (-168 a 33)	0.2

El tratamiento antiagregante se comporta como una variable independientemente asociada al drenaje postoperatorio a las 24 horas.

9.32. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico total. Modelo para genotipo 4G/4G.

Tabla 33. Regresión lineal múltiple. Drenaje torácico total. Modelo para genotipo homocigoto 4G/4G		
	t (95% CI)	p
Edad > 70 años.	-1.4 (-245 a 33)	0.1
Género	- 0.7(-183 a 84)	0.5
Tratamiento anticoagulante	0.05 (-131 a 138)	0.9
Tratamiento antiagregante	2.6 (46 a 331)	0.01
Tiempo de CEC	0.8 (-0.8 a 2.2)	0.4
EuroScore ≥ 6	2 (5 a 284)	0.04
Medicación preventiva de sangrado	-0.6 (-131 a 71)	0.6
Genotipo homocigoto 4G/4G	-0.5 (-196 a 118)	0.6

El tratamiento antiagregante previo a la cirugía y la variable EuroScore ≥ 6 se asocian de manera independiente al drenaje postoperatorio total.

9.33. Reintervención por sangrado.

En nuestro estudio un total de 12 pacientes (4.6%) necesitaron una reintervención quirúrgica debido al sangrado postoperatorio. La distribución de estos pacientes fue la siguiente: homocigotos 4G/4G, 2 pacientes (16.7%); heterocigotos 4G/5G, 6 pacientes (50%); y homocigotos 5G/5G, 4 pacientes (33.3%). Aunque el tamaño muestral para analizar esta variable es muy pequeño parece existir una tendencia a padecer un menor riesgo de reintervención por resangrado en el grupo de pacientes homocigotos 4G/4G.

9.34. Ventilación mecánica prolongada. Antecedentes personales.

Tabla 34. Ventilación mecánica prolongada. Antecedentes personales. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo).					
	Ventilación mecánica prolongada n= 30	Ventilación mecánica No prolongada n= 230	p	RR	IC 95%
> 70 años	19(63.3)	80(34.8)	0.002	3.23	1.5-7.1
Mujer	14(46.7)	90(39.1)	0.42	1.36	0.63-2.92
Tabaquismo	10(33.3)	98(42.6)	0.33	0.67	0.3-1.5
Diabetes	6(20)	37(16.1)	0.58	1.30	0.5-3.4
Hipercolesterolemia	11(36.7)	92(40)	0.72	0.86	0.39-1.91
Hipertensión arterial	20(66.79)	125(54.3)	0.2	1.68	0.75-3.7
Fibrilación auricular crónica	6(20)	26(11.3)	0.17	1.96	0.73-5.24
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	1(3.3)	19(8.3)	0.34	0.38	0.49-2.96
Insuficiencia renal crónica	4(13.3)	13(5.7)	0.1	2.56	0.78-8.5
Fracción de Eyección ≤ 60%	7(23.3)	35(15.2)	0.25	1.69	0.67-4.2

En nuestra serie sólo la edad avanzada se asocia en el análisis univariante a una ventilación mecánica prolongada.

9.35. Ventilación mecánica prolongada. Variables pre y perioperatorias.

Tabla 35. Ventilación mecánica prolongada. Variables pre y perioperatorias. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Ventilación mecánica prolongada n= 30	Ventilación mecánica No prolongada n= 230	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	25(83.3)	97(42.2)	0.001	6.85	2.5-18.5
Tiempo de CEC \geq 150 min	8(26.7)	52(22.6)	0.62	1.24	0.52-2.96
Tiempo de clampaje aórtico \geq 60 min	17(56.7)	147(63.9)	0.43	0.73	0.34-1.59
Síndrome de bajo gasto	7(23.3)	19(8.3)	0.01	3.38	1.28-8.9
Fracaso renal agudo	13 (43.3)	33 (14.3)	0.001	4.6	2-10.2
Transfusión en quirófano	13(56.5)	77(37.4)	0.75	2.17	0.9-5.2
Complicaciones nerológicas globales	25(83.3)	29(12.6)	0.01	34.6	12.2-97.6
Complicaciones nerológicas: ictus	11 (7.3)	19 (7.8)	0.001	43.8	11.2-170.6
Complicaciones nerológicas: encefalopatía	14(46.)	26(11.3)	0.01	6.86	3-15.7

9.36. Ventilación mecánica prolongada. Genotipos.

La tabla 44 muestra el análisis univariante que asocia la ventilación mecánica prolongada con los genotipos analizados.

Tabla 36. Estancia hospitalaria prolongada según los genotipos analizados.				
	Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 47) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 82) n (%)
Ventilación mecánica prolongada	30 (11.5)	11 (23.4)	11 (8.4)	8 (9.8)

La tabla 37 refleja el RR de los pacientes homocigotos en relación con la ventilación mecánica prolongada.

Tabla 37. Análisis univariante. Ventilación mecánica prolongada y grupos comparativos.					
	Ventilación mecánica prolongada n= 30 n (%)	Ventilación mecánica No prolongada n= 230 n (%)	p	RR	IC
Pacientes homocigotos 4G	11(36.1)	36(15.7)	0.01	3.38	1.4-7.1

La mediana de horas de ventilación mecánica en los pacientes homocigotos 4G/4G fue significativamente más elevada que en el grupo de pacientes no homocigotos 4G/4G (10 horas [Rango intercuartílico 7-25] vs 8 horas [Rango intercuartílico 6.3-12], $p < 0.05$).

9.37. Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas globales.

Tabla 38. Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones Neurológicas globales.		
	OR (95% CI)	p
Edad >70 años	1.3 (0.4-3.7)	0.6
EuroScore ≥ 6	2.2 (0.6-7.7)	0.2
Síndrome de bajo gasto	1.7 (0.9-3.1)	0.09
Fracaso renal agudo	1.7 (0.6-4.9)	0.3
Genotipo homocigoto 4G/4G	1.8 (0.6-5.5)	0.2
Complicaciones Neurológicas globales	34.6 (12-97)	0.001
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.3

Las complicaciones neurológicas es el único factor que se asocia a una ventilación mecánica prolongada.

9.38. Ventilación mecánica prolongada. Análisis

multivariante. Complicaciones neurológicas: ictus.

Tabla 39. Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones neurológicas: ictus.		
	OR (95% CI)	p
Edad > 70 años.	1.1 (0.4-3.2)	0.8
EuroScore \geq 6	2.3 (0.7-7.9)	0.2
Síndrome de bajo gasto	2.9 (1.6-5.4)	0.001
Fracaso renal agudo	2.9 (1-8.2)	0.04
Genotipo homocigoto 4G/4G	4.6 (1.6-13.7)	0.001
Complicaciones Neurológicas: ictus.	39 (8.4-185)	0.001
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

En este modelo además de los ictus perioperatorios los pacientes con genotipo 4G/4G se comportan como predictores independientes.

9.39. Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas: encefalopatía.

Tabla 40. Ventilación mecánica prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones Neurológicas: encefalopatía.		
	OR (95% CI)	p
Edad > 70 años.	1.8 (0.7-4.5)	0.2
EuroScore ≥ 6	3.5 (1.2-10.7)	0.025
Síndrome de bajo gasto	1.7 (0.9-5.9)	0.06
Fracaso renal agudo	2.3 (0.9-5.9)	0.08
Genotipo homocigoto 4G/4G	2.7 (1.2-7)	0.04
Complicaciones neurológicas: encefalopatía.	3.3 (1.2-3)	0.01
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

Este modelo se comporta de manera similar al anterior si bien la encefalopatía tiene una OR menor que los ictus perioperatorios.

9.40. Estancia prologada en UCI. Antecedentes personales.

Tabla 41. Antecedentes personales. Estancia prolongada en UCI (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Estancia prolongada en UCI n= 65	Estancia no prolongada en UCI n= 195	p	RR	IC 95%
Edad > 70 años	33(50.8)	66(33.8)	0.015	2.01	1.14-3.56
Mujer	34(52.3)	122(62.6)	0.114	1.52	0.86-2.60
Tabaquismo	23(35.4)	85(43.6)	0.245	0.70	0.39-1.26
Diabetes	11(16.9)	32(16.4)	0.923	1.03	0.49-2.19
Hipercolesterolemia	23(35.4)	80(41)	0.420	0.78	0.43-1.41
Enfermedad isquémica cerebral previa	5(9.3)	15(7.3)	0.620	1.29	0.45-3.74
Hipertensión arterial	35(53.8)	110(56.4)	0.718	0.902	0.51-1.58
Fibrilación auricular crónica	7(10.8)	25(12.8)	0.66	0.80	0.33-1.99
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	3(4.6)	17(8.7)	0.28	0.5	0.14-1.78
Insuficiencia renal crónica	7(10.8)	10(5.1)	0.11	2.23	0.81-6.13
Fracción de eyección ≤ 60%	15(23.1)	27(13.8)	0.08	1.86	0.92-3.78

El único antecedente personal asociado estancia en UCI prolongada es la edad avanzada. Además, se ha observado que la existencia de una fracción de eyección disminuida supone un riesgo casi doble de permanecer prolongadamente en la UCI aunque no alcanza la significación estadística.

9.41. Estancia prolongada en UCI . Variables pre y perioperatorias.

Tabla 42. Estancia prolongada en UCI. Variables pre y perioperatorias. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Estancia prolongada en UCI n= 65	Estancia No prolongada en UCI n= 195	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	44(67.7)	78(40)	0.001	3.14	1.73-5.69
Tiempo deCEC \geq 150 min	23(35.4)	37(19)	0.002	2.33	1.25-4.35
Tiempo de clampaje Aórtico \geq 60 min	43(66.2)	121(62.1)	0.55	1.19	0.66-2.15
Síndrome de bajo gasto	33(50.8)	27(13.8)	0.002	6.41	3.40-12
Fracaso renal agudo	32(49,2)	14(7,2)	0.001	12.53	6.04-26
Infarto de miocardio perioperatorio	6(9,2)	11(5.6)	0.31	1.7	0.6-4.8
Complicaciones nerológicas globales	31(47.79)	23(11.8)	0.001	6.8	3.5-13
Complicaciones nerológicas: ictus.	8 (12.3)	6 (3.1)	0.008	4.4	1.4-13.2
Complicaciones nerológicas: encefalopatía.	22(33.8)	18(9.2)	0.001	4.2	1.94-9

El desarrollo de fracaso renal agudo es, en nuestra serie, la variable que presenta un RR más elevado de estancia prolongada en UCI. Además, todas las complicaciones neurológicas se han asociado a una estancia prolongada en UCI.

9.42. Estancia prolongada en UCI. Genotipos.

Tabla 43. Estancia prolongada en UCI según los genotipos analizados.				
	Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 47) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 82) n (%)
Estancia prolongada en UCI	65 (25)	13 (20)	30 (46.2)	22 (33.8)

No se han encontrado diferencias significativas en la estancia en UCI entre los genotipos considerados.

La tabla 44 describe el riesgo relativo de los genotipos en relación con la estancia prolongada en UCI.

Tabla 44. Estancia prolongada en UCI y genotipos. (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Estancia prolongada en UCI n= 65	Estancia no prolongada en UCI n= 195	p	RR	IC 95%
Pacientes homocigotos 4G	13(27.7)	52(24.4)	0.64	1.18	0.58-2.41

La presencia de genotipo homocigoto 4G/4G no se asocia con una estancia prolongada en UCI.

9.43. Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas globales.

Tabla 45. Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante.		
	OR (95% CI)	p
Tiempo de CEC \geq 150 min	2.4 (1.1-5.1)	0.03
Bajo gasto perioperatorio	11.1 (3.8-32)	0.001
Fracaso renal Agudo	12.2 (5.4-27.3)	0.001
Complicaciones neurológicas globales	3 (1.3-7.2)	0.01
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

El desarrollo de fracaso renal agudo es la variable que de forma independiente más se asocia a una estancia prolongada en UCI. Las complicaciones neurológicas globales, por su parte, también se comportan como un predictor independiente para esta variable.

9.44. Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas: ictus.

En el modelo se han considerado como complicaciones neurológicas exclusivamente los ictus.

Tabla 46. Estancia prolongada en UCI ($\geq 48h$). Análisis multivariante.		
	OR (95% CI)	p
Tiempo de CEC ≥ 150 min	2.3 8 (1.1-5.1)	0.04
Bajo gasto Perioperatorio	14.8 (5.1-42.6)	0.001
Fracaso renal agudo	14 (6.1-31.8)	0.001
Complicaciones neurológicas : ictus.	6.8 (1.9-24.3)	0.003
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

El modelo que se obtiene cuando se considera exclusivamente las complicaciones neurológicas tipo ictus es semejante al anterior si bien cabe destacar que los ictus aumentan su valor predictivo.

9.45. Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas : encefalopatía

En el modelo se han considerado como complicaciones neurológicas exclusivamente la encefalopatía.

Tabla 47. Estancia prolongada en UCI. Análisis multivariante.		
	OR (95% CI)	p
Tiempo de CEC \geq 150 min	2.4 (1.1-5.1)	0.03
Bajo gasto perioperatorio	11.1 (3.8-31.9)	0.001
Fracaso renal agudo	12.2 (5.4-27.3)	0.001
Complicaciones neurológicas : encefalopatía	3.8 (1.3-7.2)	0.01
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

En todos los modelos realizados las complicaciones neurológicas (globales, ictus o encefalopatía) persisten independientemente asociados a una estancia prolongada en UCI. Sin embargo, el genotipo no aparece asociado con esta variable.

9.46. Estancia hospitalaria prolongada. Antecedentes personales.

Tabla 48. Estancia hospitalaria prolongada. Antecedentes personales. Chi-cuadrado y Riesgo Relativo.					
	Estancia hospitalaria prolongada n= 39	Estancia hospitalaria No prolongada n= 221	p	RR	IC 95%
Edad > 70 años	17(43.6)	82(37.1)	0.44	1.31	0.65-2.61
Mujer	26(66.7)	130(58.9)	0.35	0.71	0.34-1.46
Tabaquismo	18(46.2)	90(40.7)	0.52	1.24	0.62-2.47
Diabetes	7(17.9)	16.3(36)	0.79	1.12	0.46-2.74
Hipercolesterolemia	14(35.9)	89(40.3)	0.60	0.83	0.40-1.68
Enfermedad isquémica cerebral previa	5(12.8)	15(6.8)	0.19	2.02	0.68-5.91
Hipertensión arterial	21(53.8)	124(56.1)	0.79	0.91	0.46-1.80
Fibrilación auricular crónica	3(7.7)	29(13.1)	0.34	0.55	0.16-1.90
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	5(12.8)	15(6.8)	0.19	2.02	0.68-5.91
Insuficiencia renal crónica	6(15.4)	11(5)	0.15	3.47	1.20-10
Fracción de eyección ≤ 60%	6(15.4)	36(16.3)	0.88	0.93	0.36-2.39

En el análisis univariante ninguna de las variables de los antecedentes personales se asocia a una estancia hospitalaria prolongada. La enfermedad isquémica cerebral previa muestra una tendencia hacia la asociación pero sin llegar a la significación estadística.

9.47. Estancia hospitalaria prolongada. Variables pre y perioperatorias.

Tabla 49. Estancia hospitalaria prolongada. Variables pre y perioperatorias (Chi-cuadrado y Riesgo Relativo)					
	Estancia hospitalaria prolongada n= 39	Estancia hospitalaria No prolongada n= 221	p	RR	IC 95%
EuroScore \geq 6	25(64.1)	97(43.9)	0.02	2.3	1.1-4.6
Tiempo de CEC \geq 150 min	28.2(11)	49(22.2)	0.41	1.37	0.64-2.96
Tiempo de clampaje aórtico \geq 60 min	53.8(21)	143(64.7)	0.43	1.57	0.49-5.03
Síndrome de bajo gasto	46.2(18)	42(19)	0.018	2.9	1.2-7.3
Fracaso renal agudo	21(53.8)	25(11.3)	0.001	9.1	4.3-19.4
Infarto de miocardio perioperatorio	5(12.8)	12(5.4)	0.08	2.56	0.84-7.7
Complicaciones neurológicas globales	18(46.2)	42(19)	0.001	4.4	2.1-9
Complicaciones neurológicas: ictus	4 (10.3)	10 (4.5)	0.2	2.4	0.7-8.1
Complicaciones neurológicas: encefalopatía.	14(35.9)	26(11.8)	0.001	4.2	1.9-9

Una puntuación igual o superior a 6 en la escala EuroScore, el síndrome de bajo gasto y el desarrollo de fracaso renal agudo se asocian, en el análisis univariante, a una estancia hospitalaria prolongada. Además, las complicaciones neurológicas también juegan un papel importante. En nuestro estudio, las complicaciones neurológicas globales, así como la encefalopatía, se asocian significativamente a una estancia prolongada. Con respecto a los ictus postoperatorios, existe una tendencia aunque no alcanza la significación estadística.

9.48. Estancia hospitalaria prolongada. Genotipos.

La tabla 50 muestra el análisis univariante que asocia la estancia hospitalaria prolongada con los genotipos analizados.

Tabla 50. Estancia hospitalaria prolongada según los genotipos analizados.				
	Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 47) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 82) n (%)
Estancia hospitalaria prolongada	39 (15)	13 (27.7)	15 (11.5)	11 (13.4)

La tabla 51 refleja el RR de los pacientes homocigotos en relación con la estancia hospitalaria prolongada.

Tabla 51. Análisis univariante. Estancia hospitalaria prolongada y grupos comparativos.					
	Estancia hospitalaria prolongada n= 39 n (%)	Estancia hospitalaria No prolongada n= 221 n (%)	P	RR	IC
Pacientes homocigotos 4G/4G	13(33.3)	34(15.4)	0.007	2.75	1.28-5.87

El genotipo homocigoto 4G/4G se asocia a un riesgo superior al doble de permanecer 2 semanas o más en el hospital cuando se compara con los otros grupos.

La mediana de días de estancia hospitalaria en los pacientes homocigotos 4G/4G fue significativamente superior a la de los pacientes no homocigotos 4G/4G (9 días [Rango intercuartílico 7-15] vs 7 días [Rango intercuartílico 7-10], $p \leq 0.05$).

9.49. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas globales.

Tabla 52. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones Neurológicas Globales.		
	OR (95% CI)	p
Edad > 70 años	0.8 (0.3-2)	0.7
Insuficiencia renal crónica	1.4 (0.7-2.6)	0.4
EuroScore ≥ 6	1.2 (0.4-3)	0.7
Síndrome de bajo gasto	2.3 (0.7-7)	0.1
Fracaso renal agudo	7.9 (3.5-18)	0.001
Genotipo homocigoto 4G/4G	2.6 (1.1-6.5)	0.03
Complicaciones Neurológicas globales.	2.4 (1.1-5.5)	0.04
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

La variable que de forma independiente más se asocia a una estancia hospitalaria prolongada es el desarrollo de fracaso renal agudo. El genotipo homocigoto 4G/4G y las complicaciones neurológicas globales también se asocian de manera independiente.

9.50. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas: ictus.

Tabla 53. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones Neurológicas: ictus.		
	OR (95% CI)	p
Edad > 70 años	0.8 (0.3-2)	0.7
Insuficiencia renal crónica	1.5 (0.7-2.9)	0.2
EuroScore \geq 6	1.3 (0.5-3.4)	0.4
Síndrome de bajo gasto	2.9 (1.1-8.5)	0.05
Fracaso renal agudo	9.8 (4.5-21.6)	0.001
Genotipo homocigoto 4G/4G	3.2 (1.3-7.6)	0.007
Complicaciones neurológicas: ictus.	1.6 (0.4-6.6)	0.5
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

Cuando se considera en el modelo exclusivamente los ictus perioperatorios resulta interesante destacar que el genotipo homocigoto 4G/4G permanece como predictor independiente.

9.51. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante.

Complicaciones neurológicas: encefalopatía.

Tabla 54. Estancia hospitalaria prolongada. Análisis multivariante. Complicaciones Neurológicas: encefalopatía.		
	OR (95% CI)	p
Edad > 70 años	0.9 (0.4-2.1)	0.8
Insuficiencia renal crónica	1.3 (0.6-2.6)	0.4
EuroScore ≥ 6	1.3 (0.5-3.2)	0.5
Síndrome de bajo gasto	2.3 (0.7-7.2)	0.1
Fracaso renal agudo	7 (2.9-16.6)	0.001
Genotipo homocigoto 4G/4G	3 (1.2-7.6)	0.01
Complicaciones neurológicas: encefalopatía.	1.7 (0.6-4.7)	0.3
	Bondad de ajuste de Homer-Lemeshow	0.8

Aunque la encefalopatía sólo muestre una tendencia no significativa, la variable genotipo homocigoto 4G/4G se mantiene como predictor independiente.

9.52 Otras complicaciones según genotipos.

Tabla 55. Distribución de otras complicaciones según genotipos.				
	Población general de casos (n= 260) n (%)	Pacientes homocigotos 4G/4G (n= 47) n (%)	Pacientes heterocigotos 5G/4G (n= 131) n (%)	Pacientes homocigotos 5G/5G (n= 82) n (%)
Infarto de miocardio perioperatorio	17 (6.5)	3 (6.4)	9 (6.9)	5 (6.1)
Bajo gasto perioperatorio	26 (10)	3 (6.4)	13 (9.9)	10 (12.2)
Fracaso renal agudo	46 (17.7)	9 (19.1)	21 (16)	16 (19.5)

No se han encontrado diferencias significativas en la incidencia de estas complicaciones y los grupos comparativos. En el caso concreto del fracaso renal agudo, la distribución de pacientes que necesitaron técnicas de soporte extrarrenal fue homogénea entre los genotipos analizados.

La mortalidad en nuestra serie ha sido del 2.3% (6 pacientes).

10. DISCUSIÓN.

A pesar de las mejoras en la técnica quirúrgica, de los mecanismos empleados en la aplicación de la circulación extracorpórea y del tratamiento médico que se prescribe a los pacientes sometidos a cirugía cardíaca, siguen produciéndose complicaciones perioperatorias algunas de las cuales, por ejemplo las complicaciones neurológicas, tienen unos mecanismos fisiopatológicos que no están completamente dilucidados. Este tipo de complicaciones asociadas a la cirugía cardíaca conllevan por una lado, desde el punto de vista individual, importantes secuelas personales algunas de ellas discapacitantes y, desde el punto de vista social, un considerable gasto sanitario²⁰⁵.

10.1. Población.

Para la realización de esta tesis se han reclutado pacientes sometidos a cirugía cardíaca con CEC. La elección de un subgrupo tan específico de pacientes tiene que ver con la premisa inicial de incluir en el estudio una cohorte de pacientes suficientemente homogénea para poder extrapolar los resultados. Es bien conocido que uno de los elementos que limitan la generalización de los resultados en los estudios de asociación es la elección de casos y controles heterogéneos. Algunos estudios publicados incluyen para su análisis pacientes intervenidos con y sin CEC²⁰⁶. Este hecho hace muy difícil la interpretación de los resultados dado que un factor ambiental importante, como la CEC, es una variable que tiene un peso específico, por sus connotaciones fisiopatológicas, que no es en absoluto despreciable. Además, como el objetivo primario de este estudio fue investigar los factores de riesgo asociados al desarrollo de complicaciones neurológicas, se descartaron los pacientes que no fueron intervenidos con CEC porque existen datos en la literatura que describen una incidencia menor de este tipo de complicaciones en la cirugía cardíaca sin CEC²⁰⁷. Consideramos, por tanto,

a estos pacientes un subgrupo diferente en el que, quizá, fuera posible la comprobación de las mismas hipótesis.

Por otro lado, dado que el presente estudio es un estudio de asociación entre variables clínicas y genéticas, se comprobó que los alelos 4G y 5G del gen del PAI-1 estuvieran en equilibrio de Hardy-Weinberg que como fue señalado en el apartado de material y métodos significa que nuestros casos proceden de una población panmictica. También es importante señalar que la distribución de los genotipos homocigotos 4G/4G, heterocigoto 4G/5G y homocigoto 5G/5G no difieren de la distribución reflejada en la literatura relativa a otras poblaciones caucásicas y descritas, a su vez, en otros estudios de asociación ²⁰⁸. Por su parte, los controles que han sido seleccionados de la misma área geográfica que los casos y que son sujetos seleccionados al azar, muestran unas características similares a los casos en cuanto a la distribución de alelos y genotipos.

Otro de los aspectos que se comprobaron fue que los pacientes intervenidos tuvieran una distribución homogénea de los antecedentes personales habida cuenta que algunos de estos se han relacionado con el pronóstico postoperatorio. Ninguno de los antecedentes personales muestra diferencias significativas entre los grupos de comparación. Concretamente, se ha descrito que en las últimas décadas, con la mejora en las técnicas quirúrgicas, ha aumentado significativamente la edad media y paralelamente la comorbilidad de los pacientes sometidos a cirugía cardiaca ²⁰⁹. En nuestro estudio, casi el 40% de los pacientes, independientemente del grupo comparativo y sin que existan diferencias significativas, se ubica en el rango de edad superior a 70 años.

Además, otra de las comprobaciones que se realizaron, dado que el segundo de los objetivos primarios ha sido analizar el sangrado postoperatorio, fue asegurarnos, como así ha sido, que la medicación habitual de los casos (específicamente,

anticoagulantes, antiagregantes) tuviera una distribución homogénea (sin diferencias significativas) entre los grupos comparativos.

Finalmente, se ha descrito que el motivo más frecuente para someter a un paciente a cirugía cardíaca es la isquemia miocárdica y por tanto el procedimiento más frecuentemente realizado es la revascularización miocárdica ²¹⁰. En nuestra serie, sin embargo, el procedimiento más frecuentemente realizado fue la cirugía valvular seguida de la revascularización miocárdica. Este hecho puede explicarse porque en nuestro estudio los casos seleccionados provienen de una cohorte de pacientes intervenidos con CEC. Como es bien sabido, en algunos casos, la cirugía de revascularización miocárdica puede llevarse a cabo sin CEC.

10.2. Complicaciones neurológicas.

10.2.1. Incidencia.

La incidencia de las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardíaca es variable. En el caso del ictus perioperatorio, la incidencia varía en gran medida dependiendo del tipo de análisis (retrospectivo o prospectivo). Por ejemplo, en estudios prospectivos la incidencia varía desde 1.5% ²¹¹ hasta 5.2 %²¹². En cambio, en estudios retrospectivos sólo se describen incidencias que oscilan entre 0.8%²¹³ y 3.2% ²¹⁴. En nuestro estudio, donde las complicaciones neurológicas fueron recogidas prospectivamente, hemos encontrado una incidencia del ictus perioperatorio de 5.4% (14 pacientes). Existen series donde esta incidencia es superior como la descrita por Colman et al²¹⁵ en una cohorte de pacientes sometidos a cirugía mixta donde la incidencia de este tipo de complicaciones alcanzó el 11%.

En el caso de encefalopatía, que es una entidad a la que se ha prestado menos atención que al ictus perioperatorio, la incidencia oscila entre 8.4%²¹⁶ y el 32%²¹⁷. En

nuestra serie, la incidencia fue del 15.4 % (40 pacientes). En relación con la identificación de la encefalopatía tiene importancia, más que la recogida prospectiva o retrospectiva (en nuestro estudio prospectiva) de los datos, la utilización de escalas que permitan aumentar la sensibilidad a la hora de la identificación de los casos. En este sentido, se han descrito incidencias mayores en estudios donde la determinación de esta variable se realizó mediante test psicométricos ²¹⁸.

Además, como se describe en la literatura ²¹⁹ y, paralelamente a lo que ocurre en nuestro estudio, la incidencia de eventos neurológicos en el periodo postoperatorio fue superior en las primeras 48 horas después de la intervención. En algunas series, no obstante, se han descrito que las complicaciones neurológicas se producen mayoritariamente varios días, incluso una semana, después de la cirugía ²²⁰. Esta circunstancia se ha asociado directamente con el desarrollo de arritmias, sobretodo fibrilación auricular, en el periodo postoperatorio tardío. La distribución temporal de las complicaciones neurológicas en nuestro estudio descarta, al menos en parte, que las complicaciones neurológicas sean atribuidas mayoritariamente a arritmias cardiacas.

10.2.2. Variables relacionadas.

En este apartado se discutirá las variables que se describen asociadas a las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca. Más adelante se discute el posible papel del genotipo homocigoto 4G/4G como posible factor de riesgo en este tipo de complicaciones actuado, sobretodo, como intensificador del efecto de otros factores de riesgo.

Desde la identificación de las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca como un problema sanitario de primera magnitud, se han desarrollado modelos predictivos preoperatorios con la intención de identificar los

pacientes con mayor riesgo de padecer este tipo de complicaciones. Algunos de estos modelos son muy generales y sólo hacen referencia a aspectos globales investigando, por ejemplo, el valor predictivo del género masculino o femenino. Según Hogue et al ²²¹ las mujeres presentan mayor número de eventos neurológicos perioperatorios tras cualquier tipo de cirugía cardiaca y la mortalidad a los 30 días es mayor cuando esta complicación ocurre. En nuestro estudio, si bien la incidencia de complicaciones neurológicas fue más elevada en el sexo femenino no ha alcanzado la significación estadística.

Existen otros estudios que ahondan en la búsqueda de factores predictivos de complicaciones neurológicas como el desarrollado por Charlesworth et al ²²² o el llevado a cabo por Stamou et al ²²³ que realizaron un estudio pormenorizado durante un periodo de 10 años. Estos últimos autores identificaron que la insuficiencia renal crónica, haber padecido recientemente un infarto de miocardio, la enfermedad carotidea, haber padecido con anterioridad un evento isquémico cerebral, la hipertensión arterial, la diabetes, la edad avanzada, la disfunción ventricular previa a la cirugía, el bajo gasto perioperatorio y la fibrilación auricular se asociaban significativamente al desarrollo de complicaciones neurológicas. Si bien este estudio se diferencia del presente en la duración del mismo, y por tanto en el número de pacientes incluidos, también se diferencia en que fue realizado retrospectivamente y presta atención exclusivamente a los ictus perioperatorios. En cualquier caso, en nuestro estudio, también identificamos la edad avanzada, la insuficiencia renal crónica y el síndrome de bajo gasto como variables asociadas, en el análisis univariante, al desarrollo de complicaciones neurológicas. Además, en nuestro modelo multivariante, se mantienen como variables predictoras de complicaciones neurológicas la puntuación en la escala EuroScore ≥ 6 , fracaso renal agudo, bajo gasto perioperatorio y el genotipo homocigoto 4G/4G. Cabe destacar que

los modelos multivariantes de nuestro estudio correspondientes a complicaciones neurológicas globales y encefalopatía son superponibles.

La presencia en nuestro modelo multivariante de la variable de riesgo preoperatorio alto medido mediante la escala EuroScore (que incluye variables del paciente tales como la disfunción neurológica previa a la cirugía, variables cardiológicas y variables relacionadas con el tipo de cirugía) es importante porque esta escala ha sido considerada una herramienta robusta y fiable con un elevado poder predictivo y con una excelente capacidad de comparación entre centros ²²⁴. Resulta lógico que un riesgo preoperatorio alto se asocie al desarrollo de complicaciones. Es más, recientemente Toumpoulis et al ²²⁵ han descrito en una amplia serie de pacientes sometidos a recambio valvular con o sin cirugía de revascularización cómo el EuroScore, herramienta que inicialmente fue diseñada para evaluar el riesgo de mortalidad hospitalaria, se asocia al desarrollo de complicaciones postoperatorias entre las que se incluyen las neurológicas.

El bajo gasto perioperatorio puede considerarse un estado de hipoperfusión tisular. Aunque intuitivamente puede aceptarse que la hipoperfusión pueda ser un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones neurológicas se desconoce qué grado y duración de la hipoperfusión es crítica para el desarrollo de este tipo de complicaciones. Los pacientes añosos y aquellos con comorbilidades (p.e. diabetes) pueden ser un subgrupo de pacientes donde la hipoperfusión, unido a un calibre vascular disminuido, que condiciona una alteración en la autorregulación cerebral, puede conducir un mayor riesgo de complicaciones neurológicas. Independientemente del bajo gasto desarrollado por complicaciones específicas (p.e. infarto de miocardio perioperatorio), otras variables relacionadas con la perfusión tisular durante la intervención son de gran interés. En este sentido, el nivel óptimo de tensión arterial media (TAM) durante la CEC es motivo de

controversia. Existen muy pocos estudios en la literatura que analicen conjuntamente las variables hemodinámicas durante la CEC y las complicaciones neurológicas. En uno de los pocos estudios randomizados, Gold et al ²²⁶ asignaron 124 pacientes a un grupo considerado de baja TAM durante la CEC (50 a 60 mmHg) y otros 124 pacientes fueron asignados a un grupo considerado de alta TAM durante la CEC (80 a 100 mmHg). El subgrupo de alta TAM tuvo un riesgo combinado de complicaciones cardíacas y neurológicas significativamente menor que el subgrupo de baja TAM. En nuestro estudio la TAM durante la CEC osciló, en todos los pacientes, entre 50 y 70 mmHg. Por lo que nuestros pacientes, según este estudio y desde el punto de vista hemodinámico durante la CEC, pudieran considerarse de alto riesgo para el desarrollo de complicaciones neurológicas. Otros autores como Caplan et al ²²⁷ han sugerido que la disminución del flujo sanguíneo tiene una correlación directa con la disminución, a su vez, del lavado de micrémolos (de los que más adelante se comentará su naturaleza y origen) de la circulación cerebral. Por otro lado, la necesidad de un flujo tisular adecuado es una circunstancia necesaria si se tienen en consideración la importancia de la perfusión de los tejidos en el paciente crítico para impedir el desarrollo de complicaciones ²²⁸.

Respecto al fracaso renal agudo, si bien han sido descritos perfectamente los mecanismos que intervienen en el desarrollo de alteraciones neurológicas en la insuficiencia renal crónica ²²⁹, bastante menos información existe en la fisiopatología de el deterioro neurológico en el fracaso renal agudo. No obstante, es bien sabido que en este contexto pueden existir diferentes grados de encefalopatía secundarias a alteraciones electrolíticas (entre las que podemos encontrar variaciones del calcio, magnesio y sodio, además de alteraciones en la osmolaridad plasmática). Por otro lado, la insuficiencia renal conduce a la acumulación de numerosas sustancias orgánicas que

en conjunto reciben el nombre de neurotoxinas urémicas y de las que no se ha identificado todavía una única como causante de la conocida como encefalopatía urémica ²³⁰. Es importante señalar que aunque la insuficiencia renal crónica y la aguda compartan los mismos mecanismos neurotóxicos, por la velocidad de instauración, la sintomatología será más acentuada en los pacientes que desarrollen fracaso renal agudo ²³¹.

En otro orden de cosas, los émbolos de gran tamaño, algunas veces asociados a trombos intracardiacos ²³², pueden jugar un papel importante en el desarrollo de complicaciones neurológicas ²³³. De hecho se ha descrito que en los infartos que interesan a un territorio vascular muy delimitado tienen una gran importancia las embolias con origen en la aorta ascendente y cavidades cardiacas ²³⁴. En cualquier caso, si bien es cierto que los macroémbolos son cada vez más infrecuentes durante la cirugía cardiaca moderna, los microémbolos siguen constituyendo un problema que puede considerarse intrínsecamente asociado a este tipo de cirugía ²³⁵, ²³⁶. Por ejemplo, la bomba de circulación extracorpórea, concretamente la parte interna de las tubuladuras, crea una zona de alto riesgo en la producción de microémbolos incluso en pacientes perfectamente anticoagulados. Además, durante la CEC la circulación pulmonar que actúa de filtro entre la circulación venosa y la arterial está eliminada por lo que estas partículas pueden llegar a la circulación cerebral. La naturaleza de estos émbolos puede ser gaseosa, partículas de material trombótico o lipídico. Las características de estos émbolos fue investigada por Abu-Omar et al ²³⁷ mediante doppler transcraneal. El número de estos varía significativamente en función del procedimiento quirúrgico desarrollado: en primer lugar se sitúan las operaciones en las que se abren las cámaras cardiacas, en segundo lugar la cirugía de revascularización con CEC y finalmente las técnicas realizadas sin CEC. En este mismo estudio se describe qué tipo de émbolos se

producen. Los más frecuentes parecen ser los gaseosos aunque los constituidos por partículas pueden alcanzar el 20% si la cirugía se realiza con las cámaras cardíacas abiertas. En nuestro estudio el tipo de cirugía más frecuente fue la cirugía valvular (siendo necesario la apertura de las cámaras cardíacas) por lo que el porcentaje de émbolos no gaseosos debió ser considerable. Además, no debe olvidarse como fuente potencial de émbolos la sangre procedente de la succión postcardiotomía. Aunque este tipo de sangre es filtrada previamente a su retorno hacia el paciente, es una fuente importante de émbolos lipídicos que se derivan de adipocitos procedentes de la grasa mediastínica ²³⁸. Por otro lado, tampoco se descarta que las zonas ateromatosas de la aorta puedan ser la fuente de microémbolos ²³⁹, ²⁴⁰. Desde esta perspectiva, la técnica quirúrgica podría ser importante ya que se conoce que un momento importante, en el cual pueden ser detectados mediante doppler transcranial gran cantidad de émbolos, es el del clampaje aórtico ²⁴¹. La menor manipulación de la aorta mediante un solo clampaje en vez de dos, durante la CEC, parece asociarse según Grega et al ²⁴² a una incidencia significativamente menor de ictus y encefalopatía. Existe, no obstante, algún dato contradictorio en este sentido. Por ejemplo, Lund et al ²⁴³ han descrito que en la cirugía de revascularización miocárdica llevada a cabo sin CEC, a pesar de reducirse significativamente el número de microémbolos, este hecho no se asocia a un mayor rendimiento neuropsicológico. Estos autores reconocen que su serie es demasiado pequeña (52 pacientes de los cuales 29 de ellos se operaron sin CEC) para poder realizar generalizaciones.

Una circunstancia que no debe perderse de vista es la potenciación de los mecanismos que pueden causar complicaciones neurológicas. Por ejemplo, como señala Caplan et al ²²⁷ la concurrencia de hipoperfusión y microtrombos, cualquiera que sea su origen, puede que multipliquen sus efectos individuales. Estos autores sugieren que

al reducirse el flujo cerebral por hipoperfusión, sobremanera en zonas de estrechamiento vascular previo, se acelera la formación de trombos y este hecho condiciona el aumento de probabilidades de generar émbolos dada la facilidad de embolizar que tienen los trombos recientemente formados. Émbolos, que según los mismos autores, también pueden estar formados por agregados de plaquetas con fibrina y en los que los factores hemorreológicos de la sangre juegan un papel importante en su mantenimiento o lisis. Naturalmente, el tamaño y el número total de émbolos son variables importantes. A estos factores hay que añadir otros factores que condicionan un aumento de la viscosidad sanguínea como puede ser el hematocrito y los niveles séricos de fibrinógeno, además del número de plaquetas y su función. Finalmente, estos autores afirman que los factores séricos de la coagulación y fibrinólisis entre los que se incluye el inhibidor del activador del plasminógeno juegan también un papel importante.

10.2.3. Mecanismos lesionales comunes.

En un estudio denominado McSPI²⁴⁴ de características multicéntricas, y en el que se incluyeron pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria, se consideraron las complicaciones neurológicas subdivididas en dos grupos: complicaciones neurológicas tipo I (lesiones focales o lesiones causantes de estupor o coma) y complicaciones neurológicas tipo II (que incluye el deterioro intelectual, el déficit de memoria y las crisis convulsivas).

A pesar del esfuerzo realizado por los autores a la hora de analizar separadamente ambos tipos de complicaciones neurológicas y aun pareciendo que ambos grupos (I y II) pueden parecer grupos diferentes en cuanto a la expresividad clínica, y probablemente pronóstico, se ha descrito un hecho conceptualmente importante: la mayoría de los pacientes con déficits neurológicos globales como

encefalopatía o coma comparten los mismos mecanismos de daño cerebral que aquellos que sólo desarrollan déficits hemisféricos focales ²⁴⁵. Este concepto está basado en el estudio de las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de la cirugía cardiaca mediante resonancia magnética nuclear (RMN). El denominador común de estas lesiones consiste en émbolos distribuidos a lo largo de múltiples territorios vasculares cerebrales como describe Wityk et al ²⁴⁶ subrayando la importancia de las lesiones isquémicas en el desarrollo de encefalopatía postquirúrgica. En esta misma línea se encuentra el estudio desarrollado recientemente por Perez-Vela et al ²⁴⁷ que han logrado demostrar lesiones isquémicas (y por tanto lesiones estructurales) mediante RMN en pacientes con encefalopatía leve-moderada. En este último estudio el tamaño y la distribución de las lesiones postoperatorias sugirieron como mecanismo patogénico pequeñas embolias en territorios arteriales distales. Además, debe tenerse en consideración que los fenómenos isquémicos pueden desarrollarse incluso en pacientes asintomáticos lo que aumenta la complejidad del problema. Así, Steinberg et al ²⁴⁸ han demostrado que en pacientes a los que se les realizó una RMN antes y después de la cirugía (cirugía de recambio valvular) y que no mostraron ningún tipo de sintomatología neurológica después de la intervención casi el 60% de ellos presentaban lesiones isquémicas en la RMN que, aunque localizadas en regiones cerebrales silentes, pueden ser potencialmente susceptibles de causar cambios en la personalidad o un menor rendimiento en los test neuropsicológicos. Recientemente, Knipp et al ²⁴⁹, en una serie de pacientes sometidos a cirugía cardiaca valvular, volvieron a señalar que pueden existir lesiones isquémicas cerebrales, sin déficits motores focales, que se manifiesten clínicamente como déficits neurocognitivos (en cuyo caso la mejoría parece ser, según los autores, absoluta en aproximadamente 4 meses) o de forma silente. Aún más, Friday et al ²⁵⁰ han descrito, también mediante el uso de RMN, cómo pueden existir idénticas

lesiones neurológicas en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con y sin CEC. En definitiva el ictus, la encefalopatía o incluso el coma postoperatorio pueden ser una manifestación clínica diferente de un hecho fisiopatológico común basado en la isquemia cerebral ²⁵¹. Este hecho ahonda más si cabe en la necesidad de buscar otras variables, que bien pudieran ser genéticas, que expliquen la variabilidad en el comportamiento clínico.

10.2.4. Otros mecanismos lesionales.

Existen otros mecanismos que pueden influir en el desarrollo de las complicaciones neurológicas. La enfermedad isquémica cerebral previa como se ha mencionado, y se ha subrayado en otros estudios, parece asociarse al desarrollo de estas complicaciones ²⁵². En cualquier caso, los resultados son contradictorios. Si bien sería razonable pensar que en estos pacientes por tener, a priori, una peor circulación en el territorio cerebral son más susceptibles de desarrollar este tipo de complicaciones, no todos los estudios se muestran concordantes a la hora de asociar las lesiones isquémicas previas con el desarrollo de complicaciones neurológicas como es el caso del estudio desarrollado por Puskas et al ²⁵³ donde sólo los accidentes isquémicos transitorios y las estenosis carotídeas, pero no los ictus previos, se asocian de manera independiente con las lesiones neurológicas postoperatorias. En nuestro estudio esta variable no se asocia en el análisis univariante ni en el multivariante quizá condicionado por el hecho de haber incluido bajo el epígrafe de 'enfermedad isquémica cerebral previa' tanto los accidentes isquémicos transitorios como los ictus.

El tiempo de CEC pudiera ser también una variable importante. Si bien en el estudio de Stamou et al ¹⁹⁸ y en el nuestro esta variable no se asocia a este tipo de complicaciones, sin embargo, otros autores han descrito que un tiempo de CEC superior

a 2 horas se asocia a un riesgo significativamente superior de ictus potoperatorios ²⁵⁴ . Además, aunque hay autores que comparten que conceptualmente el origen de las complicaciones neurológicas puede ser el mismo, consideran oportuno matizar que aquellos pacientes que desarrollan un infarto en el territorio limítrofe suelen tener un tiempo de CEC superior a 120 minutos reflejando el hecho que este tipo de lesiones neurológicas, a parte de microémbolos, pueden intervenir mecanismos de bajo flujo.

Respecto a las arritmias postoperatorias, la fibrilación auricular parece tener especial importancia ²⁵⁵ . Se ha descrito que este tipo de arritmia se relaciona con complicaciones neurológicas tardías ²⁵⁶ . Lahtinen et al ²⁵⁷ describen que son necesarios una media de 2.5 episodios de fibrilación auricular previamente a la aparición de una complicación de este tipo. En nuestro estudio todas las complicaciones neurológicas fueron diagnosticadas en las primeras 48 horas.

Otro de los factores que se ha asociado al desarrollo de complicaciones neurológicas, especialmente a la encefalopatía, es la temperatura a la que se desarrolla la intervención. En este sentido Nathan et al ²⁵⁸ han descrito un efecto beneficioso de la hipotermia moderada (34°C). Los autores consideran como mecanismos probables de protección de la hipotermia, por un lado, la modulación del daño isquémico y por otra la disminución de la carga embólica. En nuestro estudio las temperaturas estuvieron protocolizadas en ambos grupos comparativos y no mostraron diferencias significativas. Sin embargo, el problema desde el punto de vista neurológico puede no residir en la temperatura intraoperatoria sino en el recalentamiento del paciente. Lo que no parece tan claro es si este ascenso de la temperatura, peor cuanto más bruscamente se produce ²⁵⁹ , es dañino por si mismo o exacerba otros potenciales mecanismos fisiopatológicos

260

Otra variable que se postula como potencial causante de complicaciones neurológicas es el desarrollo de edema cerebral postquirúrgico relacionado con la activación de la cascada inflamatoria ²⁶¹. En este sentido, Kálmán et al ²⁶² han descrito cómo las concentraciones de IL-6 en el líquido cefalorraquídeo se mantienen elevadas hasta 6 meses después de la cirugía cardiaca momento en el cual parece producirse una respuesta antiinflamatoria declinando las concentraciones de IL-6 y elevándose las de una citoquina antiinflamatoria como es la IL-4. La relación entre la inflamación y la coagulación ha sido reflejada previamente. La activación de la coagulación y los microtrombosis secundaria se ha relacionado directamente con la disfunción orgánica ²⁶³. Durante los procesos inflamatorios aumentan los niveles de PAI-1 que impiden que se fibrinolisen, eliminándose, los depósitos de fibrina ²⁶⁴. En concreto recientemente se ha descrito que el incremento de los niveles de PAI-1 que ocurre en todos los procesos inflamatorios está relacionado, al menos en parte, con la interacción del FNT (a través del Factor Nuclear-KappaB) en la región promotora del gen del PAI-1, en concreto, en la zona del polimorfismo 4G/5G ²⁶⁵.

La información relacionada con el papel de la disfunción de la barrera hematoencefálica en el desarrollo de complicaciones neurológicas es escasa y contradictoria ^{266, 267}.

10.2.5. El polimorfismo genético puede potenciar otros factores de riesgo.

Naturalmente, como ocurre en los sistemas complejos, el resultado (en este caso el pronóstico) tiene un carácter multifactorial. Concretamente, las variables genéticas pueden modular bien el grado o intensidad de la complicación o la capacidad de regenerar el daño producido ²⁶⁸. Por este motivo, interactuando con los mecanismos

anteriormente expuestos y, en algunos casos potenciándolos, existen factores genéticos que pueden jugar un papel relevante en el pronóstico ^{269, 270}. Además, a medida que progresa la utilización de herramientas de biología molecular en el ámbito clínico, las recomendaciones a cerca de la determinación del pronóstico aconsejan, cuando sea posible, la investigación de marcadores moleculares individualizados previamente a la realización de cirugías mayores (no sólo cirugía cardiaca)²⁷¹. Comienza a haber autores que sugieren la necesidad de incluir variables genéticas en las escalas predictoras de riesgo de complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca ¹⁵⁰. En este sentido, como quedó reflejado en la hipótesis de este estudio, se ha tratado de comprobar la importancia relativa un genotipo que genera un ambiente antifibrinolítico y procoagulante con el desarrollo de complicaciones neurológicas.

Aunque existe una evidencia creciente que sugiere un solapamiento entre factores de riesgo modificables y susceptibilidad genética en relación con el desarrollo de complicaciones isquémicas cerebrales ²⁷² en la población general, el presente estudio es el primero que asocia un genotipo homocigoto 4G/4G con el desarrollo de complicaciones neurológicas, mayor permanencia del paciente con ventilación mecánica y mayor estancia hospitalaria en pacientes sometidos a cirugía cardiaca. A continuación se discutirá el efecto potenciador del genotipo homocigoto 4G/4G sobre otros factores de riesgo en relación con el desarrollo de complicaciones neurológicas precisamente por su capacidad antifibrinolítica y procoagulante.

Actualmente no existen dudas que los niveles elevados de PAI-1 son un factor de riesgo independiente, también, para eventos cardiovasculares ²⁷³. Los niveles de PAI-1 pueden estar condicionados, al menos en parte, por variables genéticas. La variación genética más ampliamente estudiada es el polimorfismo 4G/5G en la región promotora. Ericsson et al ²⁷⁴ han demostrado que la actividad plasmática del PAI-1 es

significativamente superior en sujetos homocigotos 4G/4G que en sujetos 5G/5G. Por otro lado también se ha visto, en estudios experimentales, como la respuesta celular ante la presencia de IL-1 en células HepG2 es diferente si estas tienen o no el alelo 4G: la producción de ARNm es 6 veces superior en las células con el alelo 4G²⁷⁵.

Además, la microtrombosis asociada al genotipo 4G/4G ha sido relacionada con el pronóstico de la sepsis y el trauma. Un hecho que no debe perderse de vista es que durante la cirugía cardíaca, especialmente si se realiza con CEC, lo mismo que ocurre durante los procesos sépticos y el trauma grave, se produce un estado inflamatorio de gran magnitud. En cuanto a la sepsis, Hermans et al²⁷⁶ estudiaron la relación entre el genotipo 4G/5G y los niveles de PAI-1 con el pronóstico en pacientes con sepsis meningocócica. Describieron que los pacientes con genotipo homocigoto 4G/4G tuvieron niveles significativamente más elevados de PAI-1 y presentaron un riesgo relativo de fallecimiento 2 veces superior a los pacientes heterocigotos y homocigotos 5G/5G. Además, recientemente, Haralambous et al²⁷⁷ han demostrado que en pacientes, también con sepsis meningocócica, aquellos que presentaban un genotipo 4G/4G tuvieron un riesgo significativamente elevado de desarrollar complicaciones vasculares relacionadas con la sepsis (atribuidas a trombosis vasculares) y mayor mortalidad. Por otro lado, en pacientes politraumatizados graves Menges et al²⁷⁸ demostraron que el genotipo 4G/4G también se asoció a niveles más elevados de PAI-1 y una mortalidad significativamente mayor.

Recientemente se ha profundizado en el entendimiento de los mecanismos a través de los cuales el PAI-1 puede causar complicaciones vasculares. Estos mecanismos estarán exacerbados en los pacientes homocigotos 4G/4G. Brodsky et al²⁷⁹ en un estudio experimental en el que investigaron los mecanismos, no ya antifibrinolíticos, sino procoagulantes del PAI-1 han demostrado que la presencia de

PAI-1 se asocia a la liberación de micropartículas por parte de las células endoteliales. Estas micropartículas que llevan en su constitución material fosfolipídico son un estímulo potente para la activación del factor tisular que, a su vez, activa al factor VII conduciendo a la formación de trombina. La trombina, además de iniciar la formación de trombos vasculares, genera un círculo vicioso porque es capaz de estimular la síntesis de más PAI-1 ²⁸⁰. Por último, se sabe que el PAI-1 puede acentuar el ambiente procoagulante a través de la inhibición de un potente anticoagulante natural como es la proteína C ²⁸¹. En el contexto de todos estos mecanismos fisiopatológicos Vergouwen et al ²⁸² recientemente han logrado demostrar que el alelo 4G en la región promotora del gen del PAI-1 incrementa el riesgo de lesiones isquémicas después de padecer hemorragia subaracnoidea secundaria a un aneurisma. Los autores proponen específicamente la formación de microtrombos como mecanismo esencial en el desarrollo de áreas isquémicas alrededor de las zonas de vasoespasmo. Además, en este interesante artículo se discute que uno de los mecanismos a través de los cuales el nimodipino juega un papel neuroprotector es mediante su capacidad de disminuir los niveles de PAI-1 plasmáticos.

Hasta ahora se ha discutido que el genotipo 4G/4G puede considerarse como un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones neurológicas por su capacidad procoagulante o antifibrinolítica coadyuvando a otros factores de riesgo. Otro punto de vista que puede resultar interesante es la relación que existe entre la inflamación y el desarrollo de eventos isquémicos cerebrales. Tohgi et al ²⁸³ han demostrado que existe una elevación de la proteína C reactiva previamente al desarrollo de ictus en pacientes hospitalizados por otras causas. Según los autores estos datos inducen a pensar que el estado inflamatorio puede ser un factor de riesgo para este tipo de eventos. Renckens et al ²⁸⁴ han demostrado en animales de experimentación que aquellos que no tenían el gen

del PAI-1 mostraban un nivel significativamente menor de IL-6 y tenían una menor capacidad de generar fibrosis tras la administración de una sustancia causante de un daño tisular estéril. Además, como señala Wagerle et al ¹⁰⁶ a consecuencia de la inflamación se pierde la capacidad vasodilatadora del endotelio vascular lo que puede contribuir al desarrollo de complicaciones neurológicas. En nuestro estudio, si bien se parte de un estado de inflamación elevado propio de la CEC, los pacientes con genotipo 4G/4G pueden potenciar el ambiente proinflamatorio. La capacidad procoagulante, y las consecuencias circulatorias, del genotipo analizado en este estudio puede ser más eficaz en un ambiente donde existe menos capacidad vasodilatadora. Más específicamente, Grocott et al ¹⁵⁰ subraya la importancia de la inflamación en el desarrollo de complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca al describir la asociación de dos polimorfismos de genes de proteínas de la inflamación como son el gen de la proteína C reactiva y el de la IL-6 con este tipo de complicaciones. Sorprendentemente en este estudio, en el que se analizan también genes de la coagulación, ninguno de estos se asocia a complicaciones neurológicas. A diferencia de nuestro estudio, el grupo de Grocott ha considerado pacientes sometidos a cirugía cardiaca con CEC pero en su serie sólo existen un 20% de sustituciones valvulares frente casi un 50% en nuestro estudio. Además, otra diferencia con nuestro estudio es que en el suyo se han reclutado pacientes de diferentes razas (negra, caucásica, hispana, asiática e india americana además de otro subgrupo de raza que describen como desconocida). Por el contrario, en nuestro estudio, con la intención que los resultados fueran lo más extrapolable posibles sólo consideramos pacientes de raza caucásica.

Otro aspecto que resulta interesante destacar es que en el análisis del genotipo no se puede perder de vista el ambiente del medio interno que rodea al paciente en relación con el fenotipo (en este caso complicaciones neurológicas). Desde este punto de vista

puede afirmarse que la importancia funcional del genotipo homocigoto 4G/4G puede verse modulada por el estado de inflamación que envuelve la CEC. Posiblemente esta es la explicación más plausible para los resultados obtenidos en otros estudios que analizaron este polimorfismo bajo la perspectiva de eventos isquémicos cerebrales en población general. Así, Roest M et al ²⁸⁵ describieron en una larga serie que las mujeres homocigotas 4G/4G tuvieron un riesgo significativamente menor de desarrollar un evento isquémico cerebral que el resto de genotipos. La explicación para este hecho según los autores puede ser doble: por un lado se conoce que alrededor de la placa aterosclerótica existen unos niveles elevados del activador tisular de plasminógeno que conduce a la formación de plasmina que a su vez activa a las metaloproteinasas de la matriz. Existe evidencia que las metaloproteinasas intervienen en la ruptura de la placa de aterosclerótica. Por este motivo la expresión incrementada de PAI-1 alrededor de la placa puede inhibir al activador de plasminógeno y de esta manera estabilizar la placa ²⁸⁶. Otra explicación alternativa se relaciona con la inhibición del activador de plasminógeno que en el cerebro tiene funciones deletéreas asociadas a la degradación de la laminina y la muerte neuronal ²⁸⁷. Otros autores como Hoekstra et al ²⁸⁸ también apoyan el concepto de la estabilización de la placa aterosclerótica como mecanismo protector del genotipo 4G/4G del ictus cerebral. Lamentablemente estos estudios pueden tener ciertos sesgos en relación con la población seleccionada. En el primero de ellos sólo fueron seleccionadas mujeres. En el segundo sólo fueron considerados pacientes con edad mayor o igual a 65 años. Además, en este último estudio la población no se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinber. A parte de estas consideraciones de diseño, insistimos en el hecho concreto que bajo unas condiciones de inflamación extremas como ocurre en la CEC ^{289, 290}, la interacción ambiente-gen puede tener efectos deletéreos.

Además, haciendo hincapié en los posibles efectos sinérgicos protrombóticos del genotipo 4G/4G con otros mecanismos procoagulantes desarrollados durante la CEC, cabe señalar el estudio de Ranucci et al ²⁹¹ que describieron una asociación entre los niveles disminuidos de antitrombina en el postoperatorio de cirugía cardiaca con un empeoramiento en el pronóstico de los pacientes. Los niveles de antitrombina bajos fueron predictores independientes para estancia prolongada en UCI, eventos tromboembólicos y complicaciones neurológicas. Que esto sea así no sorprende si tenemos en consideración que la trombina interviene en la transformación de fibrinógeno en fibrina que activa la formación de trombos vasculares. Estos autores afirman que en presencia de niveles de antitrombina disminuidos pueden ocurrir eventos trombóticos microvasculares que pueden condicionar por un lado las complicaciones neurológicas y por otro los fenómenos tromboembólicos. También Dixon et al ²⁹² hacen hincapié en el hecho que según el nivel de activación de la coagulación durante la CEC hace más probable el desarrollo de disfunción multiorgánica. En este contexto protrombótico, la acción antifibrinolítica más procoagulante del genotipo 4G/4G puede tener un efecto sinérgico considerable.

Un dato que conviene señalar es que en nuestro estudio hemos encontrado diferencias significativas en el tipo de cirugía llevada a cabo entre los pacientes homocigotos 4G/4G y el resto de los genotipos. Concretamente, en el 17% de los pacientes homocigotos 4G/4G (n= 8) fueron realizados procedimientos de revascularización coronaria frente al casi 31% en los pacientes heterocigotos y homocigotos 5G/5G (n= 66). Este hecho es importante a la hora de interpretar los resultados. Si bien, pueden existir complicaciones neurológicas asociadas a cualquier tipo de cirugía cardiaca, estas son más frecuentes cuando se realizan recambios valvulares o procedimientos mixtos ²¹⁵. En definitiva, estos resultados sugieren que a

pesar de que en los pacientes homocigotos 4G/4G se realizó un tipo de cirugía menos complicado, la incidencia de complicaciones neurológicas fue significativamente mayor.

Finalmente, cabe destacar que dentro de la escasa literatura relativa a las variables genéticas asociadas a las complicaciones neurológicas, Mathew et al ²⁹³ han descrito que el polimorfismo del gen que codifica el receptor de una integrina plaquetaria (PIA2) se asocia con un empeoramiento de la función neurológica medido a través de test neurocognitivos.

10.3. Sangrado postoperatorio.

Inevitablemente todo acto quirúrgico implica un sangrado más o menos importante. La cirugía cardiaca no es una excepción. De acuerdo con la experiencia de cirujanos e intensivistas se podría destacar la alta variabilidad que existe entre pacientes cuando se analiza el sangrado postoperatorio. Se considera que aproximadamente el 20% de los pacientes sometidos a este tipo de cirugía tienen un sangrado importante en el periodo postoperatorio ²⁹⁴ y 5% requieren ser reintervenidos por este motivo ²⁹⁵. Además, el sangrado excesivo incrementa significativamente la morbi-mortalidad relacionada con este tipo de cirugía ²⁹⁶ e incrementa considerablemente el gasto sanitario ²⁹⁷ estimándose que los pacientes que se someten a cirugía cardiaca pueden llegar a consumir hasta el 20% de las reservas de hemoderivados ²⁹⁸.

Existen muchos factores que contribuyen a un mayor sangrado perioperatorio como son las intervenciones urgentes, edad, insuficiencia renal y el tiempo de CEC ²⁹⁹. En el presente estudio no hemos encontrado ninguna variable que se comporte como un predictor independiente para la variable 'drenaje torácico a las 6 horas de ingreso'. Respecto al 'drenaje a las 24 horas de ingreso', la variable tratamiento antiagregante previo se asocia independientemente con un mayor sangrado postoperatorio. Finalmente, si atendemos a la variable 'drenaje total' vemos que el tratamiento antiagregante previo y un valor ≥ 6 en la escala EuroScore se asocian independientemente a un mayor sangrado postoperatorio. Estos resultados corroboran los descritos en la literatura: recientemente Leong et al ³⁰⁰ asociaron el tratamiento antiagregante previo a la cirugía con un volumen de sangrado significativamente elevado en el periodo postoperatorio relacionándose esta circunstancia con el efecto y vida media de estos fármacos que se mantiene un periodo de tiempo prolongado. Por su parte Kapetanakis et al ³⁰¹ han

logrado demostrar esta misma circunstancia en cirugía cardiaca sin CEC. Además, los valores en la escala EuroScore elevados también se han asociado a un mayor sangrado postoperatorio ³⁰² indicando, en términos generales, que son pacientes con mayor riesgo quirúrgico.

En los últimos años han llevado a cabo estudios que no hacen otra cosa sino ahondar en la sospecha que el sangrado excesivo postoperatorio, al margen de cuestiones técnicas, puede tener una base genética ³⁰³. En este sentido Donahue et al ³⁰⁴ analizaron el efecto del Factor V de Leiden, un polimorfismo que conduce a la sustitución de una glutamina por una arginina (produciendo una variante que se hace resistente a la inactivación por parte de la proteína C) y que ha sido asociada a un riesgo aumentado de trombosis venosa ³⁰⁵. EL grupo de Donahue describieron que los pacientes portadores de la mutación tuvieron un volumen drenaje torácico significativamente menor que los pacientes que no portaban la mutación. Lamentablemente en este estudio, a diferencia del nuestro, no se considera la variable 'drenaje torácico total'. Este matiz es importante porque es posible que los ritmos de sangrado fueran diferentes en los periodos intermedios considerados (6 y 24 horas) y el volumen de sangrado final no fuera diferente.

El gen del PAI-1 parece un buen gen candidato para evaluar su efecto protector contra el sangrado. Anteriormente se ha descrito mutaciones de este gen que se han relacionado con un exceso de sangrado ³⁰⁶ e incluso se ha evaluado recientemente la actividad del PAI-1 en el contexto de las diátesis hemorrágicas ³⁰⁷. Hasta ahora no ha sido evaluada la asociación del genotipo homocigoto 4G/4G con un menor volumen de sangrado postoperatorio medido a través del drenaje torácico.

Al considerar la población general de pacientes, no hemos encontrado diferencias significativas entre el volumen de sangrado a través de los drenajes torácicos

en el periodo postoperatorio entre los grupos comparativos. Sin embargo, al analizar por separado los pacientes en función del tipo de medicación antifibrinolítica empleada para prevenir sangrado durante la cirugía (aprotinina o ácido tranexámico) hemos observado que los pacientes homocigotos 4G/4G tratados con aprotinina tienen un volumen de drenaje torácico a las 6 y 24 horas significativamente menor que los pacientes heterocigotos y homocigotos 5G/5G. Este efecto no se observa con los pacientes tratados con ácido tranexámico. La aprotinina es un polipéptido que actúa como un inhibidor, no específico, de las proteasas séricas y que está inmerso en una reciente controversia sobre su seguridad al haberse asociado a un mayor riesgo de desarrollar complicaciones tales como fracaso renal agudo, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca e incluso complicaciones neurológicas ³⁰⁸ en el postoperatorio de cirugía cardíaca específicamente de revascularización miocárdica. El ácido tranexámico es un inhibidor de la fibrinólisis que actúa principalmente vía inhibición de la activación del plasminógeno. Si bien, inicialmente, pudiera parecer contradictorio que el efecto descrito en nuestro estudio no se reprodujera en el grupo tratado con ácido tranexámico que tiene un efecto afín con el PAI-1, esta circunstancia podría explicarse por la imposibilidad relativa de incrementar aún más el efecto del ácido tranexámico en los pacientes hiperproductores de PAI-1 y, por el contrario, sumar los efectos de la aprotinina a los propios del PAI-1 en el subgrupo tratados con este último fármaco. En cualquier caso, lamentablemente, en nuestro estudio no hemos podido demostrar que la presencia de un genotipo procoagulante se asocie a un volumen de drenaje torácico total significativamente menor ni que, en el análisis multivariante, el genotipo homocigoto 4G/4G sea un predictor independiente de menor drenaje sanguíneo postoperatorio.

Por otro lado, existen estudios en la literatura, como el desarrollado por Welsby et al ³⁰⁹, que sí describen asociaciones positivas entre algunos polimorfismo de genes de

proteínas de la coagulación y glicoproteínas plaquetarias (concretamente, GPIIa-52C>T, GPIb- α 524C>T, FT-603A>G, Inhibidor del FT-399C>T, protrombina20210G>A, ECA I/D) con un mayor sangrado postoperatorio. Los autores destacan, en cualquier caso, que el modelo predictivo de sangrado mejora ostensiblemente cuando en el mismo modelo se incluyen variables clínicas y genéticas.

En nuestra serie sólo han necesitado reintervención por sangrado 12 pacientes (4.6%), resulta interesante señalar que sólo 2 pacientes fueron homocigotos 4G/4G. Obviamente el reducido número de casos imposibilita cualquier interpretación clínicamente relevante a este respecto.

Finalmente, se debe subrayar la complejidad de las alteraciones de la coagulación en el contexto de la cirugía cardiaca. Si bien el presente estudio ha sido diseñado desde el planteamiento a priori de una hipótesis procoagulante (genotipo homocigoto 4G/4G: efecto antifibrinolítico y procoagulante que conduce a mayor número de complicaciones neurológicas y menos sangrado postoperatorio), también hubiera sido posible un planteamiento a la inversa, es decir, haciendo hincapié en las complicaciones hemorrágicas perioperatorias. Si se hace una revisión de la literatura, existe bibliografía que demuestra que los mismos mecanismos inflamatorios que hemos mostrado como potencialmente procoagulantes en algunos pacientes puede observarse un comportamiento inverso. De esta manera existen pacientes en los que la activación del factor tisular y la generación de trombina conducen, paradójicamente, a una diátesis hemorrágica ³¹⁰. No sólo eso, pueden existir pacientes que ante la administración de dosis estándar de heparina sean capaces de producir niveles más elevados del inhibidor del factor tisular ³¹¹. Además, y lo que puede resultar más importante, hay pacientes en los que los niveles de PAI-1 pueden encontrarse disminuidos en el periodo perioperatorio si bien, generalmente, es a consecuencia del consumo del mismo por la

activación continua y muchas veces asociado a una cirugía prolongada³¹². No se puede descartar, en cualquier caso, que exista cierta predisposición genética a que predominen los mecanismos procoagulantes o hemorrágicos ante un estímulo tan proinflamatorio como es la cirugía cardíaca.

10.4. Ventilación mecánica prolongada.

La permanencia de un paciente conectado a ventilación mecánica un periodo de tiempo prolongado es una situación clínica importante que puede verse con cierta frecuencia en el postoperatorio de cirugía cardíaca ³¹³. Existe, no obstante, una gran dificultad para predecir individualmente el riesgo de esta complicación.

Se ha postulado, además, que los procesos inflamatorios que tienen lugar en este tipo de cirugía juegan un papel importante también en este tipo de complicaciones. Teniendo en cuenta estas dos últimas consideraciones se han desarrollado estudios en los que se trata de asociar el riesgo de necesitar ventilación mecánica prolongada con la presencia de genotipos relacionados directamente con la inflamación. En este sentido Yende et al ³¹⁴ han asociado la presencia de el genotipo AA en la posición +250 de gen de la linfotóxina α (LT α) y la ausencia del haplotipo LT α +250G/-308FNT-308G con duraciones de ventilación mecánica menos prolongadas. La característica que tienen en común el polimorfismo y la ausencia de haplotipo señalado es que ambos se asocia, a su vez, con hiperproducción de FNT y por tanto con un mayor ambiente proinflamatorio. Los autores discuten esta aparente contradicción en sus resultados bajo la perspectiva del potencial efecto beneficioso del FNT sobre el miocardio protegiéndolo de insultos isquémicos ³¹⁵ y de esta forma mejorar la hemodinámica cuya alteración pudieran condicionar más tiempo de ventilación mecánica; también mencionan como factor beneficioso el efecto pirogénico del FNT que podría mejorar más rápidamente la temperatura corporal después de la hipotermia inducida para la cirugía ³¹⁶ y facilitar así la extubación del paciente. Otros autores, como por ejemplo Tomasdottir et al ³¹⁷, han descrito la asociación de un genotipo proinflamatorio (pacientes homocigotos para el genotipo FNT- β 2 que conduce a la producción de niveles más elevados de FNT- α) con la presencia de una mayor insuficiencia

respiratoria en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con CEC. Algo semejante ocurre con el estudio de Holmes et al ³¹⁸ que describieron cómo los niveles elevados de C3a e IL-6 se asociaron con un retraso en la extubación. Con todos estos datos en la mano no parece claro que un ambiente pro-inflamatorio beneficie al pacientes desde punto de vista de la retirada de la ventilación mecánica. Además, en ninguno de estos estudios se mencionan otras variables que pudieran asociarse a este tipo de complicación.

En nuestro estudio, hemos encontrado una asociación entre el genotipo homocigoto 4G/4G y una mayor incidencia de ventilación mecánica prolongada. En este caso, como se ha explicado en la introducción, el genotipo homocigoto 4G/4G (por las asociaciones que existen entre la coagulación y la inflamación) se relaciona indirectamente con un ambiente proinflamatorio. Por este motivo, en nuestro caso, también de forma indirecta, sugerimos una asociación entre un genotipo potencialmente proinflamatorio con la presencia de ventilación mecánica prolongada. En cualquier caso, si bien el genotipo homocigoto 4G/4G se mantiene en el modelo multivariante de ventilación mecánica prolongada en el que se incluyen los ictus y la encefalopatía, conviene señalar que en nuestro estudio el predictor independiente más importante para la permanencia prolongada con ventilación mecánica es el desarrollo de complicaciones neurológicas. En el estudio que hemos descrito anteriormente esta complicación no se contempla. Nozawa et al ³¹⁹ también describieron cómo el nivel de conciencia disminuido medido mediante la Escala de Glasgow influye en el retraso de retirada de la ventilación mecánica. En su estudio se asociaron, mediante un análisis univariante, otras variables a esta complicación (aunque una diferencia importante respecto a esta tesis es que consideran la variable ventilación mecánica prolongada como el retraso de la retirada de la misma más allá de 10 días): disfunción ventricular izquierda, necesidad de fármacos vasoactivos y fracaso renal agudo. En nuestro modelo univariante hemos

encontrado asociadas las variables edad > 70 años, síndrome de bajo gasto, EuroScore \geq 6, fracaso renal agudo, genotipo homocigoto 4G/4G y las complicaciones neurológicas. Como se ha mencionado anteriormente sólo se mantienen en el modelo multivariante las complicaciones neurológicas y el genotipo homocigoto 4G/4G. En el modelo multivariante específico para ictus las variables independientemente asociadas a ventilación mecánica prolongada fueron: el propio ictus, el genotipo 4G/4G y el síndrome de bajo gasto.

10.5. Estancia prolongada en UCI.

En general las UCIs que atienden pacientes sometidos a cirugía cardíaca son Unidades que se caracterizan, por un lado, por estar altamente especializadas en el manejo de complicaciones cardiovasculares específicas del postoperatorio de cirugía cardíaca y, por otro lado, por tener un alto índice de recambio de pacientes estando, algunas veces, limitadas las intervenciones por la inexistencia de espacio físico por la imposibilidad de dar de alta a algunos pacientes.

Generalmente, se describe en la literatura una incidencia de estancia prolongada en UCI en torno al 35% y se asocia casi indefectiblemente al desarrollo de complicaciones, tales como fracaso multiorgánico, mayor mortalidad y aumento del gasto sanitario³²⁰. En nuestro estudio la incidencia de estancia prolongada en UCI fue del 25% (n= 65 pacientes).

Por otro lado, la literatura relacionada con la estancia prolongada en este tipo de UCIs es poco aclaratoria y se incluyen como variables asociadas a una mayor estancia, por ejemplo, la necesidad reexploración quirúrgica, edad avanzada, fracción de eyección deprimida, enfermedad pulmonar y el desarrollo de fracaso de algún órgano³²¹. La comparación de los estudios, en cualquier caso, es difícil porque no existe acuerdo a la hora de definir 'estancia prolongada en UCI'³²². En nuestro estudio, las variables independientemente asociadas a la estancia prolongada fueron: fracaso renal agudo, bajo gasto perioperatorio, tiempo de CEC y el desarrollo de complicaciones neurológicas. Ningún genotipo se asoció con esta complicación. En el estudio desarrollado por Hein et al³²³, si bien es un estudio retrospectivo, describen una asociación similar en cuanto a las variables relacionadas con la estancia en UCI pero no incluyen en la discusión las complicaciones neurológicas. Una variable importante que en nuestro estudio sólo ha sido asociada en el análisis univariante es la edad avanzada.

Existen, no obstante, en la literatura estudios que consideran la edad avanzada como un predictor independiente³²⁴. Por otro lado, no hemos podido demostrar que la escala de gravedad EuroScore ≥ 6 sea una variable que se asocie de manera independiente a esta complicación, en cambio otros autores como Nilsson et al³²⁵ consideran esta escala de riesgo preoperatorio como un buen predictor de estancia en UCI más de dos días.

Finalmente, otro punto conflictivo es la interpretación clínica de la estancia prolongada en UCI después de la cirugía cardiaca. Se ha descrito que dentro de los pacientes postoperados en general con estancia prolongada en UCI, la supervivencia a largo plazo es superior si son pacientes postoperados de cirugía cardiaca versus otros tipos de cirugías. Se argumenta, entre otras cosas, la naturaleza curativa de la cirugía cardiaca frente a otros tipos de cirugía³²⁶. Además, analizadas las supervivencias a los 6 meses y 3 años no parece que haya diferencias significativas entre los pacientes con y sin estancia prolongada en UCI después de la cirugía cardiaca³¹².

10.6. Estancia hospitalaria prolongada.

Desde hace muchos años el sistema sanitario pretende incrementar continuamente la calidad de la asistencia ajustando los gastos sanitarios ³²⁷. Por otro lado, la evaluación de resultados es una forma eficaz de controlar el proceso sanitario. Por este motivo se ha puesto mucho interés en evaluar objetivos concretos como puede ser la estancia hospitalaria ³²⁸ que como es bien conocido aumenta el consumo de recursos sanitarios ³²⁹.

La prolongación de la estancia hospitalaria también es importante desde el punto de vista del paciente portquirúrgico. Conocer qué pacientes tienen más riesgo de padecer complicaciones postoperatorias que conduzcan a incrementar significativamente la estancia hospitalaria es de gran interés a la hora de manejar los recursos sanitarios ³³⁰. Además, las variables relacionadas con la estancia hospitalaria prolongada en este tipo de pacientes no están del todo aclaradas describiéndose grandes variaciones entre centros ³³¹.

En nuestro estudio hemos identificado que las complicaciones neurológicas, el desarrollo de fracaso renal agudo y la presencia de un genotipo 4G/4G son variables independientemente asociadas a la estancia hospitalaria prolongada. Una posible explicación a este hecho es que los pacientes que sufren bien ictus o encefalopatía en el periodo postoperatorio permanecen más días en la sala de hospitalización convencional ²⁵² a la espera, especialmente en el caso de los pacientes con ictus o crisis comiciales, de la comprobación de la recuperación funcional ¹⁹⁷. En nuestro estudio, algunos pacientes que desarrollaron ictus (en concreto 9) tuvieron una recuperación total de la focalidad neurológica en la propia UCI, sin embargo, los restantes pacientes emplearon días de estancia hospitalaria a la espera de su evolución, comprobándose de esta manera como quedó reflejado en los resultados que sólo 5 pacientes presentaron en el momento

del alta hospitalaria una leve mono o hemiparesia. Por su parte, en el caso de las encefalopatías especialmente aquellas que cursaron con crisis comiciales, necesariamente fue obligatorio comprobar la ausencia de nuevas crisis y el ajuste de la medicación anticomicial lo que ha servido para dilatar su estancia hospitalaria ¹⁹⁷ .

En nuestro estudio sólo hemos identificado el EusoScore ≥ 6 asociado a la estancia prolongada hospitalaria en el análisis univariante. Sin embargo, hay estudios en la literatura, como el desarrollado por Toumpolis et al ²²⁵, que describen cómo esta escala puede ser un predictor independiente de esta complicación. En cualquier caso, estos autores consideran estancia hospitalaria prolongada la permanencia en el hospital más de 20 días.

10.7. Interpretación clínica.

Debe mencionarse inicialmente que los estudios genéticos de asociación entre variables clínicas y genéticas no demuestran causalidad. Además, sería muy difícil explicar a través del efecto de un solo polimorfismo cualquier tipo de pronóstico si consideramos que muchos de los aspectos que interesan al paciente crítico tienen un carácter poligénico y ambiental. No obstante, como quedó reflejando haciendo referencia a la literatura más relevante, el polimorfismo que analizamos en este estudio tiene una gran potencia biológica. Por este motivo la interpretación clínica de estos resultados pudiera ser que este polimorfismo, conjuntamente con otras variables, jugase un cierto papel en el desarrollo de complicaciones neurológicas y que por esta circunstancia los pacientes permanecieran más tiempo conectados a ventilación mecánica, estuvieran más tiempo en UCI y que a su vez permanecieran más tiempo en el hospital. No creemos que un polimorfismo per se pueda ser la causa única de los pronósticos analizados en este estudio.

10.8. Otras complicaciones postoperatorias.

Resultaría sorprendente que un mismo polimorfismo genético se hubiera asociado a diferentes tipos de complicaciones postoperatorias si bien tanto el bajo gasto perioperatorio, IAM perioperatorio y fracaso renal agudo pueden compartir, al menos en parte, mecanismos isquémicos que pudiera estar potenciados por el polimorfismos que hemos estudiado.

En cuanto al infarto de miocardio perioperatorio, se presenta aproximadamente en un 6% de los pacientes (la incidencia varia entre el 3 y el 31%^{332, 333}). Clásicamente se describe asociado a la cirugía de revascularización coronaria aunque no es exclusiva de ella. Puede verse, así, después de algunos tipos de cirugía valvular donde la etiología es por embolismo gaseoso³³⁴. En nuestra serie hemos identificado 17 pacientes (6.5% de los casos) y no hemos encontrado una asociación significativa con el genotipo homocigoto 4G/4G.

Respecto al bajo gasto perioperatorio cabría señalar que es una complicación importante. Aproximadamente un 6% de los pacientes intervenidos desarrollan esta complicación³³⁵. En nuestra serie hemos identificado 26 pacientes (10% de los casos). No hemos encontrado asociación entre el genotipo 4G/4G y el desarrollo de esta complicación. Se podrían hacer dos consideraciones. En primer lugar, el tamaño muestral del subgrupo de pacientes que desarrollaron bajo gasto puede resultar insuficiente para encontrar alguna asociación positiva. Además, y lo que puede resultar más problemático, es que en realidad el fenotipo (la manifestación clínica de esta complicación) puede ser consecuencia de un grupo heterogéneo de variables, alguna de ellas absolutamente independientes del genotipo, como pueden ser: hipovolemia (p.e. por poliuria secundaria al uso de manitol o furosemida, reposición de volumen insuficiente, venodilatación, etc.), ventilación mecánica (p.e. necesidades de PEEP

altas), hipotermia, aumento excesivo de la postcarga especialmente en presencia de precargas bajas, hipertensión pulmonar, depresión miocárdica farmacológica, taponamiento cardiaco e infarto miocárdico perioperatorio entre otras.

Finalmente, el fracaso renal agudo puede considerarse una de las complicaciones más importantes en el postoperatorio de cirugía cardiaca. El riesgo de desarrollar esta complicación oscila entre un 5% y 30% dependiendo de los criterios de inclusión ³³⁶, ³³⁷. En nuestro estudio se utilizaron los niveles de creatinina sérica como indicadores de fracaso renal agudo y hemos encontrado que 46 pacientes (17.7% de los casos) sufren esta complicación. En este caso tampoco hemos encontrado una asociación positiva entre el genotipo homocigoto 4G/4G y el desarrollo de fracaso renal agudo. Para esta complicación, donde el número de casos es considerable, un problema importante pudiera ser el criterio para definir el término fracaso renal agudo habida cuenta que los niveles de creatinina no son un reflejo directo del filtrado glomerular sobretodo en los periodos iniciales de esta complicación. Por este motivo se están desarrollando escalas para clasificar esta complicación de forma más objetiva ³³⁸ siendo posible que los genotipos de riesgo pudieran tener un efecto, más que en el desarrollo de fracaso renal agudo, en determinar la intensidad del mismo. Pudiera ser, también, que en cuanto al desarrollo de fracaso renal agudo en el periodo postoperatorio tuvieran más importancia algunos polimorfismos genéticos más directamente relacionados con los mecanismos inflamatorios renales y la respuesta vasoconstrictora que aquellos polimorfismos de la coagulación. En este sentido Stafford-Smith et al ³³⁹ describieron recientemente que en una amplia población de pacientes caucásicos sometidos todos ellos a cirugía de revascularización miocárdica, con y sin CEC, la presencia de los alelos en IL-6 – 572C, Angiotensinógeno +842C, Apolipoproteína E + 448C, receptor de angiotensinógeno-1 +

1166C y sintetasa endotelial de óxido nítrico + 894T se asociaron al desarrollo de fracaso renal agudo en el periodo postoperatorio.

11. LIMITACIONES.

Esta tesis doctoral tiene una serie de limitaciones que es necesario señalar:

1) En primer lugar el tamaño muestral no es suficientemente amplio para poder analizar separadamente los dos tipos de complicaciones neurológicas que consideramos (ictus y encefalopatía). El interés de analizar separadamente ambas entidades obedece, más bien que a considerarlos complicaciones diferentes (porque como ya se ha visto pueden compartir mecanismos fisiopatológicos), a la consideración de un diferente resultado funcional. El tamaño muestral puede condicionar, asimismo, la capacidad de analizar en el mismo estudio la gran cantidad de variables (factores de riesgo) que se puede asociar a las complicaciones neurológicas en este tipo de cirugía²⁰⁵. Además, un mayor número de casos hubiera contribuido a analizar, más pormenorizadamente, la interacción entre variables. Por ejemplo, una de las hipótesis que se barajan en el ámbito de la investigación de la genética aplicada a la enfermedad aguda es que los rasgos genéticos pudieran tener una importancia relativa mayor en los pacientes más jóvenes en los que, a su vez, la comorbilidad juega un papel menos preponderante. El contraste de esta hipótesis en el campo concreto de la cirugía cardiaca hace necesario el reclutamiento de una mayor cantidad de pacientes para incluir finalmente en el modelo multivariante la relación entre edad, genotipo y pronóstico.

2) Además, parece absolutamente necesario el uso de herramientas psicométricas que permitan cuantificar el deterioro cognitivo residual. Este tipo de herramientas facilitarían también la medición a largo plazo. Murkin et al³⁴⁰ a través de una conferencia de consenso describen los test neuropsicológicos aconsejados para la evaluación de este tipo de complicaciones.

3) Por otro lado, es imposible desmembrar definitivamente las complicaciones neurológicas tipo encefalopatía secundarias a lesiones isquémicas donde a buen seguro

los factores genéticos de la coagulación juegan un papel importante de las encefalopatías secundarias a fármacos anestésicos³⁴¹ o alteraciones metabólicas donde estas variables genéticas no jugarían un papel relevante. Es posible que en este último caso hubiera que considerar genes implicados en la síntesis de proteínas encargadas del metabolismo de los fármacos utilizados durante este tipo de cirugías.

4) Desde el punto de vista de la técnica quirúrgica, en nuestro estudio, el grado de arteriosclerosis aórtica fue evaluado manualmente sin utilización de ultrasonografía. Existen estudios en la literatura, como el llevado a cabo por Djaiani et al³⁴², que describen cómo la utilización de ecocardiografía transesofágica o el scanner epiaórtico son unas herramientas sensibles para la detección de enfermedad ateromatosa aórtica que, concretamente, si se comprueba un engrosamiento de la íntima de más de 2 mm en la aorta ascendente o cayado pueden ser un factor de riesgo para el desarrollo de lesiones isquémicas cerebrales, secundarias a microémbolos, en pacientes sometidos a cirugía cardiaca.

5) Aparte de la técnica quirúrgica y atendiendo a la información relacionada con el posible efecto deletéreo de la hipertermia sobre las complicaciones neurológicas²⁵⁹, parece necesario, sino estandarizar el recalentamiento de los pacientes, haber considerado esta variable en el análisis de este tipo de complicaciones.

6) Asimismo podría ser necesario un análisis pormenorizado de las variaciones hemodinámicas durante la CEC ya que se ha visto que variaciones importantes de los parámetros hemodinámicas durante la misma podría ser un factor importante en el desarrollo de complicaciones neurológicas³⁴³.

7) Por otro lado, como quedó reflejado en los resultados y la discusión, a pesar de haber utilizado la CEC como denominador común, no ha existido una distribución homogénea del tipo de cirugía entre los genotipos analizados. Parece, por tanto,

conveniente, en aras de una mayor homogeneización de la población, realizar un diseño de estudio donde las variables genéticas sean analizadas en grupos de pacientes en los que se ha realizado cirugía de revascularización miocárdica o cirugía de recambio valvular de forma separada. No sólo eso, quizá fuera necesario considerar, también separadamente, los pacientes que son intervenidos sin CEC porque se ha sugerido que en la fisiopatología de las complicaciones neurológicas si bien en la cirugía con CEC parece tener más importancia relativa los fenómenos embólicos, en la cirugía sin CEC las complicaciones neurológicas parecen asociarse más a fenómenos de aturdimiento miocárdico e hipoperfusión ³⁴⁴.

8) En relación con el sangrado postoperatorio, hubiera sido conveniente tener en consideración la transfusión de hemoderivados bien en quirófano o durante la estancia en UCI. La consideración de esta variable hubiera sido importante porque se ha descrito recientemente que la transfusión de plaquetas durante la cirugía cardiaca, en este caso de revascularización miocárdica, se ha asociado con el desarrollo de complicaciones postoperatorias entre las que se encuentra el ictus postoperatorio ³⁴⁵

9) Respecto a la estancia hospitalaria, si bien es cierto como se ha discutido previamente, que en la literatura no se tienen en consideración complicaciones neurológicas y mucho menos su asociación a factores genéticos, bien es cierto que otras variables que no hemos considerado en nuestro estudio pueden ser relevantes, a saber: desarrollo de infecciones nosocomiales, insuficiencia respiratoria, etc.

10) Un aspecto que no debe perderse de vista es la relación del PAI-1 con la edad. Se conoce que entre las variables que regulan la secreción de PAI-1, una de ellas es la edad. Los pacientes añosos tienen concentraciones más elevadas de PAI-1 ³⁴⁶. Por este motivo quizás hubiera sido conveniente realizar el estudio estratificando las edades y analizando los niveles plasmáticos de PAI-1.

12. IMPLICACIONES PRÁCTICAS.

Desde el punto de vista de las complicaciones neurológicas, han sido descritas estrategias preventivas que incluyen el establecimiento del riesgo individual de cada paciente previamente a la intervención quirúrgica, teniendo información del estado de arteriosclerosis de la aorta, investigando la existencia de arteriopatía carotídea, valorando individualmente el lugar de la canulación, evitando los clampajes aórticos repetidos, minimizando la succión tras cardiectomía y la disección de la grasa mediastínica y, cuando sea posible, realizar la cirugía sin CEC ³⁴⁷. Además, la posibilidad que exista una o varias variables genéticas que condicionen el pronóstico pueden ayudar a:

1) Introducir un nuevo elemento que ayude a explicar la etiopatogenia de las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca con el objetivo de individualizar los riesgos de cada paciente. Además, dado que se ha sugerido que el desarrollo de este tipo de complicaciones puede ser un factor de riesgo para desarrollar, a su vez, complicaciones neurológicas tardías como, por ejemplo, demencia ³⁴⁸, la identificación de variables genéticas podrían utilizarse como marcadores de riesgo de complicaciones neurológicas a largo plazo desencadenadas en el contexto de una cirugía cardiaca previa.

2) Además, si se confirman los factores de riesgo genético, se podría considerar en ciertos pacientes la utilización, cuando sea posible, de técnicas quirúrgicas alternativas ^{349, 350}, apoyándose para la toma de decisiones en técnicas de imagen como podrían ser la ecografía transesofágica, previamente a la canulación aórtica.

3) En pacientes de alto riesgo pueden utilizarse herramientas complementarias a la cirugía como pueden ser los filtros intraaórticos que son capaces de capturar émbolos provenientes de la aorta ³⁵¹. Otros procedimientos neuroprotectores incluyen la

utilización de fármacos entre los que se incluyen los gangliósidos, antagonistas de los receptores del glutamato y antioxidantes. También se ha sugerido que la infusión de prostaciclina durante la CEC puede disminuir la incidencia de complicaciones neurológicas relacionadas con cirugía de revascularización al prevenir la adhesión de las plaquetas a la superficie de las tubuladuras de la CEC disminuyendo de esta manera la microembolización ³⁵². La utilización de xenon durante la anestesia también ha sido sugerida como estrategia neuroprotectora probablemente relacionada por su acción antagonista sobre el receptor del N-metil-D-aspartato ³⁵³. Otros autores sugieren que la utilización de circuitos de CEC recubiertos de heparina pueden disminuir el número de complicaciones neurológicas, así Heder et al ³⁵⁴ mediante la utilización de test psicométricos han demostrado que en pacientes en los que se utilizó un circuito recubierto de heparina el rendimiento en estos test fue significativamente mejor. Bourbon et al ³⁵⁵ han sugerido la utilización de corticoides previamente a la cirugía para evitar, en la medida de lo posible, respuesta inflamatoria secundaria a los fenómenos de isquemia reperfusión. No se ha logrado demostrar, por otro lado, como pretendían Mathew et al ³⁵⁶, que la utilización de estatinas preoperatoriamente pudiera tener algún beneficio en relación con este tipo de complicaciones. En cualquier caso no ha sido analizada esta misma hipótesis en un subgrupo concreto de pacientes, por ejemplo en los pacientes homocigotos 4G/4G, teniendo en cuenta que la región promotora del gen del PAI-1 también es sensible a los lípidos. En pacientes de alto riesgo pueden utilizarse técnicas depurativas del medio interno (ultrafiltración) que se han comprobado útiles en la eliminación de mediadores inflamatorios, incluso, durante la cirugía cardiaca ³⁵⁷. La utilización de este tipo de técnicas requiere contar con personal entrenado en este tipo de técnicas que a su vez haga una elección adecuada del

tipo de filtro, tamaño de los poros del mismo, flujo y duración del ultrafiltrado que permita maximizar la eficacia del procedimiento.

4) También, si se confirmaran los factores de riesgo genético, podrían ser estos pacientes candidatos a un estudio más pormenorizado desde el punto de vista de las técnicas de neuroimagen para correlacionar, bien la exploración física o el resultado de test neuropsicológicos con los hallazgos obtenidos, por ejemplo, mediante la RMN.

5) Probablemente, en pacientes de alto riesgo de padecer complicaciones neurológicas, pudiera ser necesario un control más estricto de otras variables clínicas en el periodo postoperatorio, por ejemplo, la velocidad y nivel de recalentamiento o la glicemia. En este sentido Levetan ³⁵⁸ han demostrado la importancia del control de la glicemia en el pronóstico del ictus. Además, es bien conocido que las concentraciones elevadas de glucosa aumentan la expresión del gen del PAI-1 ³⁵⁹ por lo que este hecho podría potenciar, a su vez, el efecto procoagulante del PAI-1.

13. NUEVAS PERSPECTIVAS.

1) Nuevos genes candidatos: Las variables genéticas cada vez toman una mayor importancia en la interpretación de entidades clínicas como son los eventos isquémicos cerebrales ³⁶⁰. De hecho la literatura científica que describe asociaciones entre variables genéticas y el pronóstico de enfermedades poligénicas se ha incrementado exponencialmente en los últimos años y es previsible que se mantenga el crecimiento ³⁶¹. Además, nuevos genes candidatos siguen saliendo a la luz constantemente ³⁶². Algunos de ellos, asociados con posibles eventos isquémicos se relacionan, por ejemplo, con la matriz extracelular (estromelisina-1), inflamación (IL-6), metabolismo lipídico (lipasa hepática) o coagulación (factor V de Leiden) ²⁷⁰. Estos hechos son debidos, al menos en parte, a las herramientas de biología molecular que permiten un análisis del genotipo cada vez más rápido. Además, en el caso concreto de la cirugía cardiaca, la comprobación de la importancia relativa de estos nuevos genes candidatos quizá debería complementarse con la consideración de parámetros funcionales como serían bien la medición de ARNm o la concentración de proteínas (PAI-1, citoquinas, por ejemplo) que se producen durante la intervención de manera que se pueda correlacionar el componente estructural (polimorfismo) con la secreción de mediadores ³⁶³.

2) Exigencias metodológicas: Cada vez se diseñan estudios de mayores dimensiones y la cantidad de datos arrojados por estos son también mayores. Por este motivo hay que hacer hincapié en que los estudios de asociación reúnan unos aspectos metodológicos básicos para poder estandarizar los resultados a otras poblaciones. La necesidad de esta estandarización tiene que ver también con la preocupación que existe por la falta de reproductibilidad de los resultados de algunos estudios de asociación ³⁶⁴.

3) Abandono del análisis de un único SNP: Por otro lado, la tendencia general es considerar el análisis de una serie de polimorfismos que se hereden conjuntamente en vez del análisis de uno o varios polimorfismos aisladamente. Este grupo de polimorfismos heredados de forma conjunta reciben el nombre de haplotipo. Se sabe que en muchas ocasiones, en el caso de analizar un solo SNP, el efecto biológico puede estar determinado por otro (u otros) polimorfismo (/s) próximo que se hereda (/n) en bloque al estar en desequilibrio de ligamiento. Por ejemplo, en una región cromosómica con 36 polimorfismos y con capacidad para generar hipotéticamente millones de haplotipos sólo se han descrito 7 haplotipos ³⁶⁵. En el 2005 se ha terminado de realizar el mapa de estos haplotipos mediante un proyecto denominado 'HapMap Proje'.

4) Microarrays: Los chips o arrays de ADN son unas sondas de ADN unidas a un soporte sólido en una disposición regular y prefijada. El ácido nucleico diana que será detectado puede ser ADN o ARN y previamente a la hibridación debe ser marcado con una sustancia fluorescente o radioactiva. La principal ventaja con respecto a las técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa es que pueden detectarse en un único procesamiento miles de genes. Además, el hecho de poder medir ARN implica que se pueden detectar variaciones en la función de un gen. Por ejemplo, es posible que la combinación de genes activados e inhibidos pueda ser diferentes entre pacientes que desarrollan un cierto tipo de complicaciones respecto a los que no las desarrollan. A este concepto se le da el nombre de transcriptómica o genómica funcional. Concretamente Podgoreanu et al ³⁶⁶ recientemente han desarrollado un estudio basándose en un modelo animal en el que han descrito cómo aquellos animales que son sometidos a una intervención de cirugía cardiaca con CEC expresan de manera diferencial 42 genes respecto a un grupo control. Curiosamente

entre los genes que se regulan positivamente destaca el gen encargado de sintetizar el factor nuclear kappaB responsable, entre otras cosas, del incremento de la transcripción del gen del PAI-1 secundariamente a la reacción inflamatoria mediada por el FNT.

5) Sistemas complejos no lineales: Es bien conocido que la enfermedad en el paciente crítico no sigue un sistema lineal. Es decir, en muchas ocasiones un estímulo (p.e. tratamiento) no conduce necesariamente a una respuesta (p.e. curación). Existen muchas variables que interaccionan continuamente produciéndose retroalimentaciones positivas y negativas que a su vez son variables según el momento en que se produzcan. De esta manera es necesario sacar el entendimiento de la fisiopatología de cualquier proceso clínico en el que esté envuelto el paciente crítico de un modelo reduccionista y trasladarlo a un modelo en el que múltiples variables interactúan de una manera continua y cambiante. Calvano et al ³⁶⁷ han desarrollado un modelo basado en los sistemas complejos no lineales que mide la expresión de genes después de la administración de endotoxina bacteriana. Tal modelo pudiera ser realizable con otros estímulos que no fueran infeccioso como los que se producen durante la cirugía cardiaca, pe.: isquemia-reperfusión.

5) Eficacia diagnóstica: Las variables clínicas que se incluyan en los estudios de asociación deben de tener unos criterios diagnósticos lo más exactos posibles. Esto no siempre es posible. De esta forma, si nos referimos concretamente a las complicaciones neurológicas, a parte de la rigurosidad en el diagnóstico clínico y la utilización de test psicométricos cuando corresponda, podría ser de utilidad, por un lado, la utilización de la RMN que se ha descrito en el postoperatorio de cirugía cardiaca con una mejor relación coste-efectividad cuando se realiza en pacientes de alto riesgo de presentar complicaciones neurológicas ³⁶⁸ y, por otro lado, hacer uso de herramientas neurofisiológicas tales como los potenciales evocados que debido a su objetividad,

reproductibilidad y escasa variabilidad inter-observador la hacen recomendable para el estudio de pacientes sometidos a cirugía cardiaca ³⁶⁹. Otras técnicas diagnósticas que se han comenzado a utilizar en relación con las complicaciones neurológicas son la utilización de la saturación de la sangre obtenida de la vena yugular y la espectroscopia cercana a los infrarrojos.

6) Quizás deban considerarse en futuros estudios la utilización de marcadores moleculares, bien sistémicos o medidos en el líquido cefalorraquídeo, que complementen la información obtenida a partir de las variables genéticas. Existe marcadores bioquímicos que pertenecen a las células de la glía (proteína S100B), neuronas (enolasa específica de las neuronas o la isoforma cerebral de la creatina quinasa), células inflamatorias (IL-6), marcadores bioquímicos metabólicos como el lactato, los metabolitos del óxido nítrico ³⁷⁰ o incluso anticuerpos contra los receptores NMDA ³⁷¹ que se han asociado, según sus niveles, a un riesgo aumentado de desarrollar complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca. Recientemente, por ejemplo, Iohom et al ³⁷² han descrito que alguno de estos productos se asociaron a disfunción neurológica incluso en el postoperatorio de cirugías no cardiacas. Un aspecto que se debe tener en consideración es que este tipo de marcadores no tienen una relación directa con el impacto clínico de manera que un pequeño infarto en la capsula interna puede asociarse a una discreta elevación de cualquiera de los marcadores señalados y, sin embargo, suele asociarse a un déficit motor importante. En cualquier caso, sería deseable correlacionar posibles marcadores asociados a la estructura de los genes con marcadores bioquímicos en relación con el pronóstico funcional.

14. CONCLUSIONES.

Objetivos Primarios:

5 Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y la aparición de complicaciones neurológicas postoperatorias.

Conclusión 1a: Los pacientes con un genotipo homocigoto 4G/4G presentan un riesgo más elevado de presentar complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca con CEC. Esta variable es un predictor independiente para las complicaciones neurológicas globales y encefalopatía. Respecto a las complicaciones neurológicas tipo ictus esta variable muestra una tendencia hacia la significación presentando estos pacientes casi el doble de riesgo de desarrollar ictus perioperatorios.

b) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y el sangrado postoperatorio a través del drenaje torácico.

Conclusión 1b: Los pacientes con genotipo homocigoto 4G/4G y tratamiento antifibrinolítico con aprotinina tienen volúmenes de drenaje torácicos postoperatorios significativamente menores a las 6 horas y a las 24 horas de ingreso. Sin embargo, en el análisis multivariante el genotipo no se comporta como una variable independiente que proteja del sangrado excesivo postoperatorio.

Objetivos Secundarios:

a) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y la ventilación mecánica prolongada en el periodo postoperatorio.

Conclusión 2a: Los pacientes con genotipo homocigoto 4G/4G tienen más riesgo de permanecer bajo ventilación mecánica durante un tiempo prolongado (> 24 horas). El exceso de horas de ventilación mecánica es de 2 horas

en los pacientes homocigotos 4G/4G. Los pacientes con complicaciones neurológicas también padecen más frecuentemente este tipo de complicación.

b) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y la estancia prolongada en UCI.

Conclusión 2b: El genotipo 4G/4G no se asocia con una estancia prolongada en UCI \geq 48 horas. La variable que se comparta como un predictor independiente robusto son las complicaciones neurológicas.

c) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y la estancia prolongada hospitalaria.

Conclusión 2c: Los pacientes homocigotos 4G/4G tienen un riesgo más elevado de permanecer en el hospital más tiempo que el resto de los pacientes. El exceso de días de permanencia en el hospital es de 2 días en los pacientes homocigotos 4G/4G. Las complicaciones neurológicas también se asocian con esta complicación.

d) Explorar la relación entre el genotipo 4G/4G y otras complicaciones postoperatorias: infarto perioperatorio, bajo gasto perioperatorio y fracaso renal agudo.

Conclusión 2d: El genotipo 4G/4G no se asocia con ninguna de estas complicaciones. El bajo número de pacientes que sufren infarto de miocardio en nuestro estudio, la excesiva multicausalidad del bajo gasto perioperatorio y la importancia de otras variables diferentes a las procoagulantes o antifibrinolíticas en el caso del fracaso renal agudo pueden explicar este hecho.

15. RESUMEN

A consecuencia del carácter poligénico de las patologías que nos ocupan hace poco probable que un solo polimorfismo pueda explicar todas las complicaciones postoperatorias. Sin embargo, debemos subrayar que esta variación genética pudiera ser un factor de riesgo más que sumado a los ya referidos hiciera más probable la aparición de complicaciones neurológicas. A través del desarrollo de este tipo de complicaciones pudiera explicarse coherentemente que los pacientes estuvieran más tiempo bajo ventilación mecánica y fueran dados de alta más tardíamente del hospital. En definitiva, si futuros estudios confirmasen los presentes hallazgos, y los pacientes homocigotos 4G/4G (junto otros polimorfismos que puedan describirse en el futuro) pudieran considerarse de alto riesgo, la evaluación de estas variables genéticas podrían identificar precozmente pacientes en los cuales realizar una investigación preoperatorio más exhaustiva y considerar, cuando sea posible, la realización de técnicas quirúrgicas alternativas además de añadir información individual sobre el riesgo quirúrgico. Por tanto, nuestro estudio, además de aportar otra variable en el puzzle de etiopatogenia de las complicaciones neurológicas en el postoperatorio de cirugía cardiaca sugiere la consideración de de factores genéticos como marcadores o estratificadores de riesgo perioperatorio.

16. ABREVIATURAS.

- **A**: adenina.
- **ACTH**: hormona adrenocorticotropa.
- **ADN**: ácido desoxiribonucleico.
- **AGT**: angiotensinógeno.
- **AP**: abeta-PP.
- **APOE**: apolipoproteína E.
- **Arg**: arginina.
- **ARN**: ácido ribonucléico.
- **ARNm**: ARN mensajero.
- **Asp**: ácido aspártico.
- **C**: citosina.
- **CEC**: circulación extracorpórea.
- **CK-MB**: creatinin quinasa. Isoforma MB.
- **DE**: desviación estándar-
- **ECA**: enzima convertidora de angiotensina.
- **EuroScore**: European System for Cardiac Operative Risk Evaluation.
- **FNT**: factor de necrosis tumoral.
- **FT**: factor tisular.
- **FVL**: factor V Leiden.
- **G**: guanina.
- **Gln**: glutamine.
- **Gly**: glicina.
- **HLA**: antígeno leucocitario humano.
- **IC**: intervalo de confianza.

- **ICAM**: intercellular adhesion molecule.
- **Ig**: inmunoglobulina.
- **IL**: interleuquina.
- **IMC**: índice de masa corporal.
- **IQR**: rango intercuartílico.
- **Kg/m2**: kilogramos/metro cuadrado.
- **LBA**: lavado broncoalveolar.
- **MBL**: mannose binding lectin.
- **mmHg**: milímetros de mercurio.
- **n**: número.
- **NAC**: neumonía adquirida en la comunidad.
- **NO**: óxido nítrico.
- **NOS**: óxido nítrico sintetasa.
- **OR**: odds ratio.
- **p**: probabilidad.
- **PAI-1**: inhibidor del activador de plasminógeno-1.
- **PAR**: protease-activated receptors.
- **pb**: pares de bases.
- **PCR**: reacción en cadena de la polimerasa.
- **RFLP**: restriction fragment length polymorphism.
- **RMN**: resonancia magnética nuclear.
- **RR**: riesgo relativo.
- **SDRA**: síndrome de distrés respiratorio agudo.
- **SELP**: P-selectina.
- **SIRS**: Systemic inflammatory Response Syndrome.

- **SNP**: single nucleotide polymorphism.
- **TCE**: traumatismo craneoencefálico.
- **TFPI**: sistema inhibidor del factor tisular.
- **Thr**: treonina.
- **TLR**: toll-like receptor.
- **t-PA**: tissue plasminogen activator.
- **UCI**: unidad de cuidados intensivos.
- **UI/l**: unidades internacionales/litro.
- **u-PA**: urokinase-type plasminogen activator.
- **UTR**: untranslated regions.
- **vs**: versus.

17. GLOSARIO.

- 5 **Ácido tranexámico:** Fármaco empleado para disminuir el sangrado quirúrgico.
Actúa principalmente inhibiendo la activación del plasminógeno.
- 6 **Alelo:** cada una de las múltiples formas distintas de un gen que se hereda independientemente de cada progenitor. Se poseen dos por cada locus.
- 7 **Aprotinina:** Fármaco empleado para disminuir el sangrado quirúrgico. Es un inhibidor inespecífico de las proteasas séricas.
- 8 **Base nitrogenada:** compuesto orgánico cíclico con átomos de nitrógeno.
- 9 **Cambio de G>C:** indica el cambio del nucleótido salvaje al mutado. G, salvaje. C, mutado.
- 10 **Codón:** secuencia de tres nucleótidos que codifica para un aminoácido en el código genético. Existen 64 posibles combinaciones de los cuatro nucleótidos (A, G, C, U), que codifican para alguno de los 20 aminoácidos que forman la proteína.
- 11 **Fenotipo:** conjunto de características observables de un individuo resultantes de la interacción entre el genotipo y el ambiente.
- 12 **Genoma:** patrimonio genético de un organismo o de una especie.
- 13 **Genotipo:** suma total de la información genética contenida en un organismo.

- 14 **Herencia poligénica:** herencia en la cual varios genes interactúan entre ellos para dar lugar a un mismo rasgo fenotípico.
- 15 **Locus:** posición en el genoma identificable por un marcador. No corresponde necesariamente a un gen. Un mismo gen puede, por tanto, contener varios loci (cada uno definido por marcadores diferentes).
- 16 **Nucleótido:** compuesto formado por tres componentes: un azúcar (ribosa en el ARN y desoxirribosa en el ADN), una base nitrogenada, y de uno a tres grupos fosfato.
- 17 **Posición – 550:** el signo negativo indica que el polimorfismo se encuentra en la región promotora. El punto cero sería el inicio del exón o intrón.
- 18 **Fc:** fragmento cristalizabile.
- 19 **Sujeto homocigoto:** individuo portador de dos formas (alelos) idénticas de un mismo gen en un determinado locus, cada una procedente de un progenitor.
- 20 **Sujeto heterocigoto:** individuo que posee los dos alelos diferentes en un locus genético determinado.
- 21 **PCR** (del inglés, Polymerase Chain Reaction). Técnica que permite la amplificación enzimática in vitro de secuencias de ADN específica utilizando oligonucleótidos que se unen de manera específica a cada una de las dos cadenas de una molécula de

ADN y acotan la región de interés. Concretamente el procedimiento consiste en ciclos sucesivos y repetitivos que comprenden la desnaturalización del ADN, el acoplamiento de los oligonucleótidos y la extensión mediante la acción de una ADN polimerasa que a su vez conducen a la acumulación exponencial de un fragmento específico.

- 22 **Mutaciones Asp299Gly:** hace referencia a un polimorfismo que conduce a la variación de un aminoácido (salvaje, en este caso Asp) en la posición señalada (299) de la proteína por otro aminoácido (mutado o consecuencia del polimorfismo, en este caso Gly).
- 23 **Delección:** alteración genética que consiste en la pérdida de parte del cromosoma.
- 24 **Trascricpción:** proceso cuya finalidad es la síntesis de una molécula de ARN mensajero utilizando el ADN como molde.

17. BIBLIOGRAFÍA.

- ¹ Kwiatkowski D. Genetic dissection of the molecular pathogenesis of severe infection. *Intensive care Med* 2000; 26: S89-S97.
- ² Cariou A, Chiche JD, Charpentier J, et al. The era of genomics: Impact on sepsis clinical trial desing. *Crit Care Med* 2002; 30(Suppl.): S341-S348.
- ³ Todd D, Nauder F. Do gene variants really explain the heterogeneous outcomes in sepsis? *Crit Care Med* 2001; 29(3): 684-685.
- ⁴ Daly AK, Christopher PD. Candidate gene case-control association studies: advantages and potential pitfalls. *J Clin Pharmacol* 2000; 52: 489-499.
- ⁵ Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001; 409: 928-933.
- ⁶ Kitao H, Arakawa H, Kuma K, et al. Class switch recombination of the chicken IgH chain genes: implications for the primordial switch region repeats. *Int Immunol* 2000;12(7) :959-68.
- ⁷ Brenann MD. High trougput genotyping tecnologies for pharmacogenomics. *Am J Pharmacogenomics* 2001; 4: 295-302.
- ⁸ Sorensen TIA, Nielsen GG, Anderson PK, et al. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 1988; 318: 727-32.
- ⁹ Winkler C, Modi W, Smith MW, et al. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. *Science* 1998; 279: 389-393.
- ¹⁰ Hohler T, Kruger A, Gerken G, et al. A tumor necrosis factor-promotor polymorphism is associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 579-582.
- ¹¹ Cabrera M, Shaw MA, Sharples C, et al. Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous Leishmaniasis. *J Exp Med* 1995; 182: 1259-1264.
- ¹² Medzhitov RM, Janeway CA. Innate immunity. *N Eng J Med* 2000; 343: 338-344.
- ¹³ Tenner AJ. Membrane receptors for soluble collagens. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 34-41.

-
- ¹⁴ Chiche JD, Pingat J, Cariou A, et al. Genetic predisposition to severe sepsis. *Clin Pulm Med* 2002; 9(4): 229-237.
- ¹⁵ Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996; 17: 532-540.
- ¹⁶ Rascu A, Repp R, Westerdall NA. Clinical relevance of Fcγ receptor polymorphism. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 815: 282-295.
- ¹⁷ Yee AM, Phan HM, Zúñiga R. Association between FcγRIIa.R131 allotype and bacteriemic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 25-28.
- ¹⁸ Erroi A, Fantuzzi G, Mengozzi M, et al. Differential regulation of cytokine production in lipopolysaccharide tolerance in mice. *Infect Immun* 1993; 61: 4356-4359.
- ¹⁹ Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. Defective LPS signalling in CEH/Hej and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282: 2085-2088.
- ²⁰ Lorenz E, Mira JP, Frees KL, et al. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with Gram-negative septic shock. *Arch Inter Med* 2002; 162: 1028-1032.
- ²¹ Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, et al. A novel polymorphism in the Toll-Like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Imm* 2000; 68: 6398-6401.
- ²² Pugin J, Heermann D, Tomasz A. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1994; 1: 509-516.
- ²³ Pugin J, Ulevitch RJ, Tobias PS. Mechanism of cellular activation by endotoxin. En: Tellado JM, Forse RA, Solomkin JS, editors. *Modulation of inflammatory response in severe sepsis*. Basel, Switzerland, Karger, pp 8-17.
- ²⁴ Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, et al. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in Gram-negative septic shock. *J Infec Dis* 1995; 171: 639-644.
- ²⁵ Burgmann H, Winkler S, Locker GJ, et al. Increased serum concentration of soluble CD14 is a prognostic marker in Gram-positive sepsis. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: 307-310.
- ²⁶ Unkelbach K, Gardemann A, Kostrzewa M, et al. A new promoter polymorphism in the gene of lipopolysaccharide receptor CD14 is associated with expired myocardial infarction in patients with low atherosclerotic risk profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 932-938.
- ²⁷ Ripoll L, Collet JP, Barateau V. A novel CD14 gene polymorphism that determines variable monocyte activation is associated with the risk of myocardial infarction in young adults. *Circulation* 1999; 18(Suppl 1): 1821.

-
- ²⁸ Sèbastien G, Alain C, Ludovic D, et al. Association between a genomic polymorphism with the CD14 locus and septic shock susceptibility and mortality. *Crit Care Med* 2002; 30: 969-973.
- ²⁹ Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, et al. The common functional C(-159)T polymorphism within the promoter region of the lipopolysaccharide receptor CD14 is not associated with sepsis development or mortality. *Genes Immun* 2000; 1: 405-407.
- ³⁰ Randolph A. Mining for the genetic determinants of septic shock: When is it really done?. *Crit Care Med* 2002; 30: 1161-1163.
- ³¹ Natanson C, Hoffman WD, Suffredini AF, et al. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanism of pathogenesis. *Ann Int Med* 1994; 120: 771-783.
- ³² Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY. Human Lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nuc Acid Res* 1985; 13: 6351-6373.
- ³³ Pociot F, Briant L, Jongeneel CV. Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF-alpha and TNF-beta by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol* 1993; 23: 224-231.
- ³⁴ McGuire W, Hill AVS, Allsopp CEM, et al. Variation in the TNF promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994; 371: 508-511.
- ³⁵ Nadel S, Newport MJ, Booy R, et al. Variation in the tumor necrosis factor gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease. *J Infect Dis* 2000; 174: 878-880.
- ³⁶ Stuber F, Peterson M, Bokelmann F, et al. A genomic polymorphism in the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 1996, 24: 381-384.
- ³⁷ Mira JP, Cariou A, Grall F, et al. Association of TNF2, a TNF promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality. A multicenter study. *JAMA* 1999; 282: 561-568.
- ³⁸ O'keefe GE, Hybki DL, Munford RS. The G-A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor-alpha promoter increases the risk for severe sepsis after trauma. *J Trauma* 2002; 52: 817-826.
- ³⁹ Majetschank M, Flohe S, Abertacke U, et al. Relation of a TNF gene polymorphism to severe sepsis in trauma patients. *Ann Surg* 1999; 239: 207-214.
- ⁴⁰ Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM et al. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia and different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1599-1604.

- ⁴¹ Wunderink RG, Waterer GW, Cantor RM, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism and the variable presentation and outcome of community-acquired pneumonia. *Chest* 2002, 121: 87S.
- ⁴² Reinhart K, Karzai W. Tumor necrosis factor therapy in sepsis: Update on clinical trials and lessons learned. *Crit Care Med* 2000; 29: S121-S125.
- ⁴³ Kornbluth A. Infliximab approved for use in the Crohn's disease: A report on the FDA GI Advisory Committee Conference. *Inflamm Bowel Dis* 1998; 4: 328-329.
- ⁴⁴ Abraham E, Wunderink R, Silverman H, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome: A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha Mab Sepsis Study Group. *JAMA* 1995; 273: 934-941.
- ⁴⁵ Dinarello CA. Is there an interleukin-1 genetic predisposition to developing severe sepsis?. *Crit Care Med* 1999; 27: 1397-1398.
- ⁴⁶ Fang XM, Schroder S, Hoefft A, et al. Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Med* 1999; 27: 1330-1334.
- ⁴⁷ Arnalich F, López-Maderuelo D, Codoceo R, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin Exp Immunol* 2002; 127: 331-336.
- ⁴⁸ Penglin M, Dechang C, Jiaqi P, et al. genomic polymorphism with interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit Care Med* 2002; 30: 1046-1050.
- ⁴⁹ Schluter B, Raufhake C, Erren M, et al. Effect of interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 2002; 30: 32-37.
- ⁵⁰ Turner DM, Williams DM, Sankaran D. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunol* 1997; 24: 1-8.
- ⁵¹ Roberts GW, Gentleman SM, Lynch A, et al. P-amyloid protein deposition in the brain after severe head injury: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 419-425.
- ⁵² Nicoll JAR, Roberts GW, Graham DI. Apolipoprotein E epsilon 4 allele is associated with deposition of amyloid beta-protein following head injury. *Nature Med* 1995; 1: 135-135.
- ⁵³ Liaquat I, Dunn LT, Nicoll JA, et al. Effect of apolipoprotein E genotype on hematoma volume after trauma. *J Neurosurg* 2002; 96: 90-96.

-
- ⁵⁴ Sorbi S, Nacmias N, Piacentini et al. ApoE as a prognostic factor post-traumatic coma. *Nature Med* 1995; 1: 852.
- ⁵⁵ Teasdale GM, Nicoll JA, Murray G, et al. Association of apolipoprotein E polymorphism with outcome after head injury. *Lancet* 1997; 350: 1069-1071.
- ⁵⁶ Roses AD, Saunders A. Head injury, amyloid beta and Alzheimer's disease. *Nature Med* 1995; 1:603-604.
- ⁵⁷ Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, et al. Identification of the major Abeta1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. *Nat Med* 2000; 6: 143-150.
- ⁵⁸ Scheifermeier M, Kollegger H, Madl C, et al. Apolipoprotein E polymorphism. Survival and neurological outcome after cardiopulmonary resuscitation. *Stroke* 2000; 31: 2068-2073.
- ⁵⁹ Armstrong L, Millar AB. Relative production of tumour necrosis factor α and interleukin 10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax* 1997; 52: 442-446.
- ⁶⁰ Lin Z, Pearson C, Chinchilli V, et al. Polymorphisms of human SP-A, SP-B and SP-D genes: association of SP-B Thr13Ile with ARDS. *Clin Genet* 2000; 58: 181-191.
- ⁶¹ Rigat B, Hubert C, Albenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin 1-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-1346.
- ⁶² Montgomery H, Marshall R, Hemingway H, et al. Human gene for physical performance. *Nature* 1998; 393: 221.
- ⁶³ Marshall RP, Webb S, Hill MR, et al: Genetic polymorphisms associated with susceptibility and outcome in ARDS *Chest* 2002; 68S-69S.
- ⁶⁴ Kalow W. Pharmacogenetics in biological perspective. *Pharmacol Rev* 1997; 49: 369-379.
- ⁶⁵ Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-491.
- ⁶⁶ Abernethy DR, Flockhart DA. Molecular basis of cardiovascular drug metabolism implications for predicting clinical important drug interactions. *Circulation* 2000; 101: 1749-1753.
- ⁶⁷ Chinnaiyan Am, Huber-Lang M, Kumar-Sinha C, et al. Molecular signatures of sepsis. *Am J Pathol.* 2001; 159: 1199-1209.
- ⁶⁸ Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg* 1997; 84: 920-935.

- ⁶⁹ Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
- ⁷⁰ Roach GW, Kanchuger M, Mangano CM, et al. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators. *N Engl J Med* 1996 19;335:1857-63.
- ⁷¹ Mangano DT. Effects of acadesine on myocardial infarction, stroke, and death following surgery: a metaanalysis of the international randomized trials. The multicenter study of periorperative ischemia (McSPI) research group. *JAMA* 1997; 277: 325-332.
- ⁷² Christenson JT, Aeberhard JM, Badel P, et al. Adult respiratory distress syndrome after cardiac surgery. *Cardiovasc Surg* 1996;4(1):15-21.
- ⁷³ Meldrum DR, Donnahoo KK. Role of TNF in mediating reanl insufficiency following cardiac surgery: evidence of a postbypass cardiorenal syndrome. *J Surg Res* 1999; 85: 185-199.
- ⁷⁴ Takahashi T, Kunimoto F, Ichikawa H, et al. Gastric intramucosal pH and hepatic venous oximetry after cardiopulmonary bypass in valve replacement patients. *Cardiovasc Surg* 1996 ;4(3):308-10.
- ⁷⁵ Mollhoff T, Loick HM, Van Aken H, et al. Milrinone modulates endotoxemia, systemic inflammation, and subsequent acute phase response after cardiopulmonary bypass (CPB). *Anesthesiology* 1999; 90(1):72-80.
- ⁷⁶ Berendes E, Mollhoff T, Aken HV, et al. Increased plasma concentrations of serum amyloid A: an indicator of the acute-phase response after cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med* 1997;25(9):1527-33.
- ⁷⁷ Soulika AM, Khan MM, Hattori T, et al. Inhibition of heparin/protamine complex-induced complement activation by Compstatin in baboons. *Clin Immunol* 2000; 96: 212-221.
- ⁷⁸ Chai PJ, Nassar R, Oakeley AE, et al. Soluble complement receptor-1 protects heart, lung, and cardiac myofilament function from cardiopulmonary bypass damage. *Circulation* 2000; 101: 541-546.
- ⁷⁹ Tofukuji M, Stahl GL, Aga A, et al. Anti.C5a monoclonal antibody reduces cardiopulmonary bypass and cardioplegia-induced coronary endothelial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 116: 1060-1068.
- ⁸⁰ Fitch JC, Rollins S, Matis L, et al. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100: 2499-2506.

- ⁸¹ McBride WT, Armstrong MA, Crockard AD, et al. Cytokine balance and immunosuppressive changes at cardiac surgery: contrasting response between patients and isolated CPB circuits. *B J Anaest* 1995; 75: 724-733.
- ⁸² Sablotzki A, Mann V, Simm A, et al. Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2001; 36: 552-559.
- ⁸³ Hauser GJ, Ben-Ari J, Colvin MP, et al. Interleukin 6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intens Care Med* 1998; 24: 481-486.
- ⁸⁴ Journois D, Israel-Biet D, Pouard P, et al. High volume, zero balanced hemofiltration to reduce delayed inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Anesthesiology* 1996; 85: 965-976.
- ⁸⁵ McBride WT, McBride SJ. The balance of pro and anti-inflammatory cytokines in cardiac surgery. *Curr Opin Anaesth* 1998; 11: 15-22.
- ⁸⁶ Foreman KE, Vaporjian AA, Bonish BK, et al. C5a-induced expression of P-selectin in endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 94: 1147-1155.
- ⁸⁷ Guillian HE, Armstrong MA, Uprichard S, et al. The effect of aprotinin on interleukin-8 concentration and leukocyte adhesion molecule expression in an isolated cardiopulmonary bypass system. *Anaesthesia* 1999; 54: 427-433.
- ⁸⁸ Boyle EMJ, Pohlman TH, Johnson MC, et al. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 277-284.
- ⁸⁹ Deng MC, Dasch B, Erren M, et al. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 184-190.
- ⁹⁰ Reinhold D, Ansorge S, Schleicher ED, et al. Elevated glucose levels stimulate transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1), suppress interleukin IL-2, IL-6 and IL-10 production and DNA synthesis in peripheral blood mononuclear cells. *Horm Metab Res* 1996; 28: 267-270.
- ⁹¹ Koike K, Moore FA, Moore EE, et al. Gut ischemia mediates lung injury by a xanthine oxidase-dependent neutrophil mechanism. *J Surg Res* 1993; 54: 469-473.
- ⁹² Sorkine P, Setton A, Halpern P, et al. Soluble tumor necrosis factor receptors reduce bowel ischemia-induced lung permeability and neutrophil sequestration. *Crit Care Med* 1995; 23: 1377-1381.
- ⁹³ Christiansen CL, Ahlburg P, Jakobsen CJ, et al. The influence of propofol and midazolam/halothane anesthesia on hepatic SvO₂ and gastric mucosal pH during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1998; 12: 418-421.

- ⁹⁴ Galley HF, Dubbels AM, Webster NR. the effect of midazolam and propofol on interleukin-8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg* 1998; 86: 1289-1293.
- ⁹⁵ Bilfinger TV, Fimiani C, Stefano GB. Morphine's immunoregulatory actions are not shared by fentanyl. *Int Cardiol* 1998; 64: S61-S66.
- ⁹⁶ Mitsuhashi H, Shimizu R, Yokoyama MM. Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Immunopharmacol* 1995; 17: 529-534.
- ⁹⁷ Heindl B, Reichle FM, Zahler S, et al. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing posts ischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology* 1999; 91: 521-530.
- ⁹⁸ Fingerle-Rowson G, Auers J, Kreuzer E, et al. Expansion of CD14+CD16+ monocytes in critically ill cardiac surgery patients. *Inflammation* 1998; 22: 367-379.
- ⁹⁹ Ohata T, Sawa Y, Kadoba K, et al. Effect of cardiopulmonary bypass under tepid temperature on inflammatory reactions. *Ann Thorac Surg* 1997; 64: 124-128.
- ¹⁰⁰ Frasen E, Maesen J, Dentener M, et al. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 1999; 116: 1233-1239.
- ¹⁰¹ Von Bethmann AN, Brasch F, Nusing R, et al. Hyperventilation induces release of cytokines from perfused mouse lung. *Am J Resp Crit Care Med* 1998; 157: 263-272.
- ¹⁰² Van Bommel EF, Hesse CJ, Jutte NH, et al. Impact of continuous hemofiltration on cytokines and cytokine inhibitors in oliguric patients suffering from systemic inflammatory response syndrome. *Ren Fail* 1997; 19: 443-454.
- ¹⁰³ Jean D, Rezaiguia-Delclaux S, Delacourt C, et al. Protective effect of endotoxin instillation on subsequent bacteria-induced acute lung injury in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1702-1708.
- ¹⁰⁴ Hubner G, Brauchle M, Smola H, et al. Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. *Cytokine* 1996; 8(7):548-56.
- ¹⁰⁵ Laffley J, Boylan JF, Cheng DCH. The systemic inflammatory response to cardiac surgery. *Anesthesiology* 2002; 97: 215-252.
- ¹⁰⁶ Wagerle LC, Russo P, Dahdah NS, et al. Endothelial dysfunction in cerebral microcirculation during hypothermic cardiopulmonary bypass in newborn lambs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115: 1047-1054.

-
- ¹⁰⁷ Tseng EE, Brock MV, Kwon CC, et al. Increased intracerebral excitatory amino acids and nitric oxide after hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 371-376.
- ¹⁰⁸ Shin'oka T, Nagashima M, Nollert G, et al. A novel sialyl Lewis X analog attenuates cerebral injury after deep hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 1204-1211.
- ¹⁰⁹ Levy JH, Pifarre R, Schaff HV, et al. A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of aprotinin for reducing blood loss and the requirement for donor-blood transfusion in patients undergoing repeat coronary artery bypass grafting. *Circulation* 1995; 92: 2236-2244.
- ¹¹⁰ Levi M, Van der Poll T. Two-way interactions between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 254-259.
- ¹¹¹ Opal SM, Esmon CT. Bench-to-bed-side review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care* 2003; 7: 23-28.
- ¹¹² Levi M, Ten Cate H, Bauer KA, et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of coagulation and fibrinolysis by pentoxifylline or by a monoclonal anti-tissue factor antibody in chimpanzees. *J Clin Invest* 1994; 93: 114-120.
- ¹¹³ Levi M, Van der Poll T, Ten Cate H, et al. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxemia. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 3-9.
- ¹¹⁴ Osterud B, Rao LV, Olsen JO. Induction of tissue factor expression in whole blood: lack of evidence for the presence of tissue factor expression on granulocytes. *Thromb Haemost* 83: 861-867.
- ¹¹⁵ Franco RF, De Jonge E, Dekkers PE, et al. The in vivo kinetics of tissue factor messenger RNA expression during human endotoxemia: relationship with activation of coagulation. *Blood* 2000; 96: 554-559.
- ¹¹⁶ Schorer AE, Moldow CF, Rick ME, et al. Interleukin 1 or endotoxin increases the release of von Willebrand factor from human endothelial cells. *Br J Hematol* 1987; 67: 193-197.
- ¹¹⁷ Levi M, Van der Poll T, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004; 109: 2698-2704.
- ¹¹⁸ Nawroth PP, Stern DM. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986; 163: 740-745.
- ¹¹⁹ De Jonge E, Dekkers PE, Creasey AA, et al. Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) dose-dependently inhibits coagulation activation without influencing the fibrinolytic and cytokine response during human endotoxemia. *Blood* 2000; 95: 1124-1129.

- ¹²⁰ Biemond BJ, Levi M, Ten Cate H, et al. Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Sci* 1995; 88: 587-594.
- ¹²¹ Yamamoto K, Loskutoff DJ. Fibrin deposition in tissues from endotoxin-treated mice correlates with decreases in the expression of urokinase-type but not tissue-type plasminogen activator. *J Clin Invest* 1996; 97: 2440-2451.
- ¹²² Van der Poll T, De Jonge E, Levi M. Regulatory role of cytokine in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27: 639-651.
- ¹²³ De Jonge E, Friederich PW, Lewi M. Activation of coagulation by administration of recombinant factor VIIa elicits interleukin-6 and interleukin-8 release in healthy human subjects. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 409-497.
- ¹²⁴ Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407: 258-264.
- ¹²⁵ Smiley ST; King JA, Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol* 2001; 167: 2887-2894.
- ¹²⁶ Burman JF, Chung HI, Lane DA, et al. Role of factor XII in thrombin generation and fibrinolysis during cardiopulmonary bypass. *Lancet*. 1994 29;344:1192-3.
- ¹²⁷ Boyle EM Jr, Pohlman TH, Johnson MC, et al. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg*. 1997; 63(1):277-84.
- ¹²⁸ Tyrrell DJ, Horne AP, Holme KR, et al. Heparin in inflammation: potential therapeutic applications beyond anticoagulation. *Adv Pharmacol* 1999; 46: 151-208.
- ¹²⁹ Carr JA, Silverman N. The heparin-protamine interaction: a review. *J Cardiovascular Surg* 1999; 40: 659-666.
- ¹³⁰ McGilvray ID, Rotstein OD. Role of the coagulation system in the local and systemic inflammatory response. *World J Surg* 1998; 22: 179-186.
- ¹³¹ Goldman L, Caldera DL, Nussbaum SR, et al. Multifactorial index of cardiac risk in noncardiac surgical procedures. *N Engl J Med* 1977; 297: 845-850.
- ¹³² Grayburn PA, Hillis LD. Cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: shifting the paradigm from non-invasive risk stratification to therapy. *Ann Intern Med* 2003; 138: 506-511.
- ¹³³ Ferraris VA, Ferraris SP. Risk stratification and comorbidity. En: Cohn LH, Edmunds LHJ, editors. *Cardiac surgery in the Adult*. New York, NY: McGraw-Hill, 2003: 187-224.

-
- ¹³⁴ Orr RK, Maini BS, Sottile FD et al. A comparison of four severity-adjusted models to predict mortality after coronary artery bypass graft surgery. *Arch Surg* 1995; 130: 301-306.
- ¹³⁵ Kozak LJ, Owing MF, Hall MJ. National hospital discharge survey: 2002 annual summary with detailed diagnosis and procedure data. *Vital Health Stat* 2005; 158: 1-199.
- ¹³⁶ Mangano DT. Perioperative medicine: NHLBI working group deliberations and recommendations. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 18: 1-6.
- ¹³⁷ Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, et al. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet* 2002; 30: 210-214.
- ¹³⁸ Gretarsdottirs S, Sveinbjornsdottir S, Jonsson HH, et al. Localization of susceptibility gene from common forms of stroke to 5q12. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 593-603.
- ¹³⁹ Podgoreanu MV, Schwinn DA. New paradigms in cardiovascular medicine. Emerging technologies and practices: perioperative genomics. *JACC* 2005; 46: 1965-1977.
- ¹⁴⁰ Stüber F, Andreas H. The influence of genomics on outcome after cardiovascular surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2002; 15: 3-8.
- ¹⁴¹ Moor E, Silveira A, Van't Hooft, et al. Coagulation factor V (Arg506→Gln) mutation and early saphenous vein graft occlusion after coronary artery bypass grafting. *Thromb Haemost* 1998; 80: 220-224.
- ¹⁴² Rinder CS, Matthew JP, Rinder HM, et al. Platelet P1A2 polymorphism and platelet activation are associated with increased troponin I after cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2002; 97: 1118-1122.
- ¹⁴³ Ortlepp JR, Janssens U, Bleckmann F, et al. A chymase gene variant is associated with atherosclerosis in venous coronary artery bypass graft. *Coron Artery Dis* 2001; 12: 493-497.
- ¹⁴⁴ Gaudino M, Andreotti F, Zamparelli R, et al. The -174 G/C interleukin-6 polymorphism influences postoperative interleukin-6 levels and postoperative atrial fibrillation. Is atrial fibrillation and inflammatory complication? *Circulation* 2003; 108 Suppl 1: II195-199.
- ¹⁴⁵ Volzke H, Engel J, Kleine V, et al. Angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cardiac mortality and morbidity after coronary artery bypass graft surgery. *Chest* 2002; 122: 31-36.
- ¹⁴⁶ Zotz RB, Klein M, Dauben HP, et al. Prospective analysis after coronary-artery bypass grafting: platelet GP IIIa polymorphisms and risk factor for bypass occlusion, myocardial infarction, and death. *Thromb Haemost* 2000; 83: 404-407.

- ¹⁴⁷ Izrailtayan I, Podgoreanu M, Phillips-Bute B et al. Gender related differences in genetic polymorphisms and major adverse outcomes following cardiac surgery (abstr). *Anesth Analg* 2005; 100: SCA25.
- ¹⁴⁸ Holweg CT, Weimar W, Uitterlinden AG, et al. Clinical impact of cytokine gene polymorphisms in heart and lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23: 1017-1026.
- ¹⁴⁹ Donahue BS, Gailani D, Higgins MS, et al. Factor V Leiden protects against blood loss and transfusion after cardiac surgery. *Circulation* 2003; 107: 1003-1008.
- ¹⁵⁰ Grocott HP, White WD, Morris RW, et al. Genetics polymorphisms and the risk of stroke after cardiac surgery. *Stroke* 2005; 36: 1854-1858.
- ¹⁵¹ Stafford-Smith M, Pogoreanu M, Swaminathan M, et al. Association of genetic polymorphisms with risk of renal injury after coronary bypass graft surgery. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 519-530.
- ¹⁵² Merino DP, Martínez F, Iribarren JL, et al. Predisposición genética al síndrome de bajo gasto cardiaco tras la revascularización miocárdica con recirculación extracorporea. *Med Intensiva* 2002; 26: 153.
- ¹⁵³ Ridker PM, Hennekens CH, Buring J, et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-843.
- ¹⁵⁴ Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2079-2084.
- ¹⁵⁵ Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation*. 1996; 94: 874-877.
- ¹⁵⁶ Brull DJ, Montgomery HE, Sanders S, et al. Interleukin-6 gene -174G> and -572G>C promoter polymorphism are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1458-1463.
- ¹⁵⁷ Kim HS, Lee MM, Oh BH, et al. Synergistic effect of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene on cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol* 2000; 2: 151-161.
- ¹⁵⁸ Densem CG, Hutchinson IV, Cooper A, et al. Polymorphism of the transforming growth factor-beta 1 gene correlates with the development of coronary vasculopathy following cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2000; 6: 51-556.

¹⁵⁹ Pethig K, Heublein B, Hoffmann A, et al. ACE-gene polymorphism is associated with the development of allograft vascular disease in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2000; 12: 1175-1182.

¹⁶⁰ Mathew JP, Rinder CS, Howe JG, Fontes M, et al. Platelet PIA2 polymorphism enhances risk of neurocognitive decline after cardiopulmonary bypass. Multicenter Study of Perioperative ischemia (McSPI) Research Group. *Ann Thorac Surg.* 2001; 2: 663-666.

¹⁶¹ Borozdenkova S, Smith J, Marshall S, Yacoub M, et al. Identification of ICAM-1 polymorphism that is associated with protection from transplant associated vasculopathy after cardiac transplantation. *Hum Immunol* 2001; 3: 247-255.

¹⁶² Philip I, Plantefevé G, Vuilaumier-Barrot S, et al. G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. *Circulation* 1999; 24: 3096-3098.

¹⁶³ Chew ST, Newman MF, White D, et al. Preliminary report on the association of apolipoprotein E polymorphisms with postoperative peak serum creatinine concentrations in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 2000; 2: 325-331.

¹⁶⁴ Tardiff BE, Newman MF, Saunders AM, et al. Preliminary report of genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. The Neurologic Outcome Research Group of the Duke Heart Center. *Ann Thorac Surg* 1997; 3: 715-720.

¹⁶⁵ Macfelda K, Weiss TW, Kaun C, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 expression is regulated by the inflammatory mediators interleukin-1 alpha, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta and oncostatin M in human cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 1681-1691.

¹⁶⁶ Francis CW. Plasminogen Activator Inhibitor-1 levels and polymorphism. Association with venous thromboembolism. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 1401-1404.

¹⁶⁷ Fay WP, Shapiro AD, Shih JL, et al. Brief report: complete deficiency of plasminogen-activator inhibitor type 1 due to a frame-shift mutation. *N Engl J Med.* 1992 10;327(24):1729-33.

¹⁶⁸ Carmeliet P, Stassen JM, Van Vlaenderen I, et al. Adenovirus-mediated transfer of tissue-type plasminogen activator augments thrombolysis in tissue-type plasminogen activator-deficient and plasminogen activator inhibitor-1-overexpressing mice. *Blood* 1997 15; 90:1527-34.

¹⁶⁹ Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000; 95: 1517-1532.

-
- ¹⁷⁰ Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, et al. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT study group. European concerted action on thrombosis and disabilities. *Circulation* 1996; 94: 2057-2063.
- ¹⁷¹ Collet JP, Montalescot G, Vicaut E, et al. Acute release of plasminogen activator inhibitor-1 in ST-segment elevation myocardial infarction predicts mortality. *Circulation* 2003; 108: 391-394.
- ¹⁷² Eitzman DT, Westrick RJ, Xu Z, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency protects against atherosclerosis progression in the mouse carotid artery. *Blood* 2000; 96: 4212-4215.
- ¹⁷³ Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the rennin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest* 1995; 95: 995-1001.
- ¹⁷⁴ Lyon CJ, Hsueh WA. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Am J Med* 2003; 115 (Suppl 8A): 62S-68S.
- ¹⁷⁵ Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, et al. Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. *Thromb Haemost* 2004; 125: 12-23.
- ¹⁷⁶ Nguyen G, Horellou MH, Kruitthof EKO, et al. residual plasminogen activator inhibitor activity alter venous stasis as a criterion for hypofibrinolysis: a study in 83 patients with confirmed deep vein thrombosis. *Blood* 1988; 72: 601-605.
- ¹⁷⁷ Schulman S, Wiman B. The significance of hypofibrinolysis for the risk of recurrence of venous thromboembolism: duration of anticoagulation (DURAC). Trial Study Group. *Tromb Haemost* 1996; 75: 607-611.
- ¹⁷⁸ Yamamoto k, Loskutoff DJ. Fibrin deposition in tissues from endotoxin-treated mice correlatos with decreases in the expresión of urokinase-type but not tissue-type plasminogen activator. *J Clin Invest* 1996; 97: 2440-2451.
- ¹⁷⁹ Horrevoets AJG. Plsminogen activator inhibitor 1: in vitro activities and clinical relevante. *Br J Haemaol* 2004; 125: 12-23.
- ¹⁸⁰ Brodsky SV, Malinowski K, Golightly M, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 promotes formation of endotelial microparticles with procoagulant potencial. *Circulation* 2002; 106: 2372-2378.
- ¹⁸¹ Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter polymorphism and coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes. *Thromb Haemost*. 1995;74(4):1032-4.

-
- ¹⁸² Margaglione M, Grandone E, Vecchione G, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) antigen plasma levels in subjects attending a metabolic ward: relation to polymorphisms of PAI-1 and angiotensin converting enzyme (ACE) genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(10):2082-7.
- ¹⁸³ Grubic N, Stegnar M, Peternel P, et al. A novel G/A and the 4G/5G polymorphism within the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 gene in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res* 1996 15;84: 431-43.
- ¹⁸⁴ Akar N, Yilmaz E, Akar E, et al. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in Turkish deep vein thrombotic patients with and without FV1691 G-A. *Thromb Res* 2000 15; 97: 227-30.
- ¹⁸⁵ Zoller B, Garcia de Frutos P, Dahlback B. A common 4G allele in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene as a risk factor for pulmonary embolism and arterial thrombosis in hereditary protein S deficiency. *Thromb Haemost* 1998; 79:802-7.
- ¹⁸⁶ Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation* 2001 18; 104: 3063-8.
- ¹⁸⁷ Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002 12; 347:1916-23.
- ¹⁸⁸ Hermans PW, Hibberd ML, Booy R, et al. 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet* 1999 14; 354:556-60.
- ¹⁸⁹ Westendorp RG, Hottenga JJ, Slagboom PE. Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet* 1999 14;354:561-3.
- ¹⁹⁰ Haralambous E, Hibberd ML, Hermans PW, et al. Role of functional plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism in susceptibility, severity, and outcome of meningococcal disease in Caucasian children. *Crit Care Med* 2003; 31: 2788-93.
- ¹⁹¹ Menges T, Hermans PW, Little SG, et al. Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet* 2001 7; 357:1096-7.
- ¹⁹² Elston R. The genetic dissection of multifactorial traits. *Clin Exp Allergy* 1995; 2: 103-106.
- ¹⁹³ Rommens JM, Iannuzzi BS, Kerem ML, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1995; 245:1059-1065.
- ¹⁹⁴ Allen RD. Polymorphism of the human TNF-alfa promoter-random variation or functional diversity. *Mol Immunol* 1999; 36:1017-1027.

- ¹⁹⁵ Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, et al. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 2002; 4: 45-61.
- ¹⁹⁶ Bucerius J, Gummert JF, Borger MA, et al. Predictors of delirium after cardiac surgery delirium: effect of beating-heart (off-pump) surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127:57-64.
- ¹⁹⁷ McKhann GM, Grega MA, Borowicz LM Jr, et al. Encephalopathy and stroke after coronary artery bypass grafting: incidence, consequences, and prediction. *Arch Neurol.* 2002; 59:1422-1428.
- ¹⁹⁸ Stamou SC, Hill PC, Dangas G, et al. Stroke after coronary artery bypass: incidence, predictors, and clinical outcome. *Stroke* 2001;32:1508-13.
- ¹⁹⁹ Spivack SD, Shinozaki T, Albertini JJ, et al. Preoperative prediction of postoperative respiratory outcome. Coronary artery bypass grafting. *Chest* 1996;109:1222-30.
- ²⁰⁰ De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, et al. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology* 2004; 101:299-310.
- ²⁰¹ Nashef SAM, Roques F, Michel P, et al. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroScore). *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 16: 9-13.
- ²⁰² Gogbashian A, Sedrakyan A, Treasure T. EuroSCORE: a systematic review of international performance. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; 23:360-367.
- ²⁰³ Calafiore AM, Di Mauro M, Canosa C, et al. Early and late outcome of myocardial revascularization with and without cardiopulmonary bypass in high risk patients (EuroSCORE \geq 6). *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; 23:360-367.
- ²⁰⁴ Borges MA, Ivanov J, Weisel RD, et al. Decreasing incidence of stroke during valvular surgery. *Circulation* 1998; 98: 137II-143II.
- ²⁰⁵ Zabala JA. Complicaciones neurológicas de la cirugía cardiaca. *Rev Esp Cardiol* 2005; 58: 1003-1006.
- ²⁰⁶ Hogue CW, Murphy SF, Schechtman KB, et al. Risk factors for early or delayed stroke after cardiac surgery. *Circulation* 1999; 100:642-647.
- ²⁰⁷ BhaskerRao B, VanHimbergen D, Edmonds HL, et al. Evidence for improved cerebral function after minimally invasive bypass surgery. *J Card Surg.* 1998; 13: 27-31.
- ²⁰⁸ Funk M, Endler G, Exner M, et al. PAI-1 4G/5G insertion/deletion promoter polymorphism and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr.* 2005 ;117 :707-10.

-
- ²⁰⁹ Selnes OA, Goldsborough MA, Borowicz LM, et al. Neurobehavioural sequelae of cardiopulmonary bypass. *Lancet* 1999; 353: 1601-1606.
- ²¹⁰ McKhann GM, Grega MA, Borowicz LM, et al. Stroke and encephalopathy alter cardiac surgery. An update. *Stroke* 2006; 37: 562-571.
- ²¹¹ Breuer AC, Furlan AJ, Hanson MR, et al. Central nervous system complications of coronary artery bypass graft surgery: prospective analysis of 421 patients. *Stroke* 1983; 14: 682-687.
- ²¹² McKhann GM, Goldsborough MA, Borowicz LM Jr, et al. Predictors of stroke risk in coronary artery bypass patients. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 516-521.
- ²¹³ Marti WRW, Hashimoto SA et al. Stroke in coronary bypass surgery. *Can J Neurol Sci* 1982; 9: 21-26.
- ²¹⁴ Coffey CE, Massey EW, Roberts KB, et al. Natural history of cerebral complications of coronary artery bypass graft surgery. *Neurology* 1983; 33: 1416-1421.
- ²¹⁵ Colman RL, Nussmeier NA, Aggarwal A, et al. Cerebral injury after cardiac surgery: identification of a group at extraordinary risk. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group (McSPI) and the Ischemia Research Education Foundation (IREF) Investigators. *Stroke* 1999; 30: 514-522.
- ²¹⁶ Bucerius J, Gummert JF, Borges MA, et al. Predictors of delirium after cardiac surgery delirium: effect of beating-heart (off-pump) surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127: 57-64.
- ²¹⁷ Rolfson DB, McElhaneey JE, Rockwood K, et al. Incidence and risk factors for delirium and other adverse outcomes in older adults after coronary artery bypass graft surgery. *Can J Cardiol*, 1999; 15: 771-776.
- ²¹⁸ Eissa A, Andrew MJ, Baker RA. Postoperative confusion assessed with the Short Portable Mental Status Questionnaire. *ANZ J Surg* 2003; 73: 697-700.
- ²¹⁹ Likosky DS, Marrin CA, Caplan LR, et al. Determination of etiologic mechanisms of strokes secondary to coronary artery bypass graft surgery. *Stroke* 2003; 34: 2830-2834.
- ²²⁰ Taylor AR, Mehta Z, Rothwell PM, et al. Carotid artery disease and stroke during coronary artery bypass: a critical review of the literature. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002; 23: 283-294.
- ²²¹ Hogue CW Jr, Barzilai B, Pieper KS, et al. Sex differences in neurological outcomes and mortality after cardiac surgery : a Society of Thoracic Surgery National Database Report. *Circulation* 2001; 103: 2133-2137.

-
- 222 Charlesworth DC, Likosky DS, Marrin CA, et al. Development and validation of a predictor model for strokes after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 436-443.
- 223 Stamou SC, Hill PC, Dangas G, et al. Stroke after coronary bypass : incidence, predictors, and clinical outcome. *Stroke* 2001; 32: 1508-1513.
- 224 Roques F, Michel P, Goldstone AR, et al. The logistic EuroScore. *European Herth J* 2003; 24: 1-2.
- 225 Toumpoulis IK, Anagnostopoulos CE. Does EuroScore predict length of stay and specific postoperative complications alter Herat valve surgery. *J Hearth Valve Dis* 2005; 14: 243-250.
- 226 Gold JP, Charlson ME, Williams-Russo P, et al. Improvement of outcomes after coronary artery bypass. A randomized trial comparing intraoperative high versus low mean arterial pressure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 1302-1311.
- 227 Caplan LR, Hennerici M. Impaired clearance of emboli (wasout) is an important link between hypoperfusion, embolism, and ischemic stroke. *Arch Neurol* 1998; 55: 1475-1482.
- 228 Peters J, Mack GW, Lister G. The importance of the peripheral circulation in critical illness. *Inten Care Med* 2001; 27: 1446-1458.
- 229 Brouns R, De Deyn PP. Neurological complications in renal failure: a review. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2004; 107: 1-16.
- 230 Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.* 2003; 63: 1934-1943.
- 231 Burn DJ, Bates D. Neurology and the kidney. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65: 810-821.
- 232 Wolman RL, Nussmeier NA, Aggarwal A, et al. Cerebral injury after cardiac surgery: identification of a group at extraordinary risk. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group (McSPI) and the Ischemia Research Education Foundation (IREF) Investigators. *Stroke* 1999; 30:514-22.
- 233 Borger MA, Ivanov J, Weisel RD, et al. Stroke during coronary bypass surgery: principal role of cerebral macroemboli. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 19: 627-32.
- 234 Libman RB, Wirkowski E, Neystat M, et al. Stroke associated with cardiac surgery. Determinants, timing, and stroke subtypes. *Arch Neurol* 1997; 54: 83-87.
- 235 Taylor RL, Borger MA, Weisel RD, et al. Cerebral microemboli during cardiopulmonary bypass: increased emboli during perfusionist interventions. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 89-93.

-
- ²³⁶ Fearn SJ, Pole R, Burgess M, et al. Cerebral embolisation during modern cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20:1163-1167.
- ²³⁷ Abu-Omar Y, Balacumaraswami L, Pigott DW, et al. Solid and gaseous cerebral microembolization during off-pump, on-pump, and open cardiac surgery procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127: 1759-1765.
- ²³⁸ Brooker RF, Brown WR, Moody DM, et al. Cardiomy suction: a major source of brain lipid emboli during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 1651-1655.
- ²³⁹ Davila-Roman VG, Murphy SF, Nickerson NJ, et al. Atherosclerosis of the ascending aorta is an independent predictor of long-term neurologic event and mortality. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1308-1316.
- ²⁴⁰ Infeld B. Management of the elderly cardiac surgical patient: neurological sequelae. *Heart Lung Circ* 2004; 13 (suppl 3): S19-S23.
- ²⁴¹ Baker AJ, Naser B, Benaroya M, et al. Cerebral microemboli during coronary artery bypass using different cardioplegia techniques. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 1187-1191.
- ²⁴² Grega MA, Borowicz LM, Baumgartner WA, et al. Impact of single clamp versus double clamp technique on neurologic outcome. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 1387-1391.
- ²⁴³ Lund C, Hol PK, Lundbland R, et al. Comparison of cerebral embolization during off-pump and on-pump coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 765-770.
- ²⁴⁴ Roach GW, Kanchuger M, Mangano CM, et al. Adverse cerebral outcomes alter coronary bypass surgery. *N Eng J Med* 1996; 335: 857-1863.
- ²⁴⁵ Boyajian RA, Sobel DF, DeLaria GA, et al. Embolia stroke as a sequela of cardiopulmonary bypass. *J Neuroimaging* 1993; 3: -5.
- ²⁴⁶ Wityk RJ, Goldsborough MA, Hillis A, et al. Diffusion-and perfusion-weighted brain magnetic resonance imaging in patients with neurologic complications after cardiac surgery. *Arch Neurol* 2001; 58: 571-576.
- ²⁴⁷ Pérez-Vela JL, Ramos-González A, López-Almodóvar LF, et al. Complicaciones neurológicas en el postoperatorio inmediato de la cirugía cardíaca. Aportación de la resonancia magnética cerebral. *Rev Esp Cardiol* 2005; 58: 1014-1021.
- ²⁴⁸ Steinberg GK, De la Paz R, Mitchell RS, et al. MR and cerebrospinal fluid enzymes as sensitive indicators of subclinical cerebral injury after open-heart valve replacement surgery. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996; 17: 205-212.

-
- ²⁴⁹ Knipp SC, Matatko N, Schlamann M, et al. Small ischemic brain lesions after cardiac valve replacement detected by diffusion-weighted magnetic resonance imaging: relation to neurocognitive function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005; 28: 88-96.
- ²⁵⁰ Friday G, Sutter F, Curtin A, et al. Brain magnetic resonance imaging abnormalities following off-pump cardiac surgery. *Heart Surg Forum* 2005; 8: E105-109.
- ²⁵¹ Gootjes EC, Wijdicks EF, McClelland RL. Postoperative stupor and coma. *Mayo Clin Proc* 2005; 80: 350-354.
- ²⁵² McKhann GM, Grega MA, Borowicz LM Jr, et al. Encephalopathy and stroke after coronary artery bypass grafting: incidence, consequences, and prediction. *Arch Neurol* 2002 59:1422-1428.
- ²⁵³ Puskas JD, Winston AD, Wright CE, et al. Stroke alter coronary artery operation: incidente, correlatos, outcome and cost. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 1053-1056.
- ²⁵⁴ Hogue CW, Murphy SF, Schechtman KB, et al. Risk factors for early or delayed stroke alter cardiac surgery. *Circulation* 1999; 100: 642-647.
- ²⁵⁵ Likosky DS, Leavitt BJ, Marrin CA, et al. Intra- and postoperative predictors of stroke after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2003; 76:428-34.
- ²⁵⁶ Likosky DS, Marrin CAS, Caplan LR, et al. Determination of etiologic mechanisms of strokes secondary to coronary artery bypass graft surgery. *Stroke* 2003, 34: 2830-2834.
- ²⁵⁷ Lahtinen J, Biancari F, Salmela E, et al. Postoperative atrial fibrillation is a major cause of stroke after on-pump coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 1241-1244.
- ²⁵⁸ Nathab HJ, Wells GA, Munson JL, et al. Neuroprotective effect of mild hypothermia in patients undergoing coronary artery surgery with cardiopulmonary bypass. A randomized trial. *Circulation* 2001; 104 (Suppl I): I85-I91.
- ²⁵⁹ Grocott HP, Mackensen GB, Grigore AM, et al. Postoperative hyperthermia is associated with cognitive dysfunction alter coronary artery bypass graft surgery. *Stroke* 2002; 33: 537-541.
- ²⁶⁰ Grigore AM, Grocott HP, Mathew JP, et al. The rewarming rate and increased peak temperatur alter neurocognitive outcome alter cardiac surgery. *Anesth Anal* 2002; 94: 4-10.
- ²⁶¹ Harris DN, Oatridge A, Dob D, et al. Cerebral swelling alter normothermic cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 1998; 88: 340-345.
- ²⁶² Kálmán J, Jusász A, Bogáts G, et al. Elevated levels of inflammatory biomarkers in the cerebrospinal fluid alter coronary artery bypass surgery are predictors of cognitive decline. *Neurochem Int* 2006; 48: 177-180.

- ²⁶³ Hermans PWM, Hazelzet JA. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphism and sepsis. *CID* 2005; 41 (Suppl 7): S453-S458.
- ²⁶⁴ Suffredini AF, Harper PC, Parrillo JE. Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activator after administration of intravenous endotoxin to normal subjects. *N Eng J Med* 1989; 320: 1165-1172.
- ²⁶⁵ Swiatkowska M, Szemraj J, Cierniewski CS. Induction of PAI-1 expression by tumor necrosis factor alpha in endothelial cells is mediated by its responsive element located in the 4G/5G site. *FEBS J* 2005; 272: 5821-5831.
- ²⁶⁶ Gillinov AM, Davis EA, Curtis WE, et al. Cardiopulmonary bypass and the blood-brain barrier. An experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 1110-1115.
- ²⁶⁷ Bokesch PM, Cavaglia M, Dombrowski S, et al. Cardiopulmonary bypass causes dysfunction of the blood brain barrier. *Anesthesiology* A-1282, 2002.
- ²⁶⁸ Grocott HP, Homi HM, Puskas F: Cognitive dysfunction after cardiac surgery: revisiting etiology. *Sem Cardiothorac Vasc Anesth.* 2005; 9: 123-129.
- ²⁶⁹ Selnes OA, Goldsborough MA, Borowicz LM, et al. Neurobehavioural sequelae of cardiopulmonary bypass. *Lancet* 1999; 353: 1601-1606.
- ²⁷⁰ Gao L, Taha R, Gauvin D. Postoperative cognitive dysfunction after cardiac surgery. *Chest* 2005; 128: 3664-3670.
- ²⁷¹ Rasmussen LS, Larsen K, Houx P, et al. ISPOCD. The International Study of Postoperative Cognitive Dysfunction: the assessment of postoperative cognitive function. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 275-289.
- ²⁷² Morgan L, Humphries SE. The genetics of stroke. *Curr Opin Lipidol.* 2005; 16: 193-199.
- ²⁷³ Nordt TK, Peter K, Kübler W, et al. Regulation of the synthesis of plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and its role in cardiovascular disease. *Thromb Haemostasis* 1999; 82: 14-18.
- ²⁷⁴ Ericsson P, Tallin B, Van't Hooft FM, et al. Allele specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1851-1855.
- ²⁷⁵ Dawson SJ, Filman B, Hamsten A, et al. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 10739-10745.

-
- ²⁷⁶ Hermans PW, Hibberd ML, Booy R, et al. 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet* 1999; 354: 556-560.
- ²⁷⁷ Haralambous E, Hibberd ML, Hermans PW, et al. Role of functional plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism in susceptibility, severity and outcome of meningococcal disease in Caucasian children. *Crit Care Med* 2003; 31: 2788-2793.
- ²⁷⁸ Menges T, Hermans PW, Little SG, et al. Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet* 2001; 357: 1096-1097.
- ²⁷⁹ Brodsky SV, Malinowski K, Golightly M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 promotes formation of endothelial microparticles with procoagulant potential. *Circulation* 2002; 106: 2372-2378.
- ²⁸⁰ Rebolle J-P, Hertig A, Nguen G, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 is potential target in renal fibrogenesis. *Kidney Int.* 2000; 58: 1841-1850.
- ²⁸¹ Gladson CL, Schleef RR, Binder BR, et al. A comparison between activated protein C and des-1-41-light chain-activated protein C in reactions with type 1 plasminogen activator inhibitor. *Blood* 1989; 74: 173-181.
- ²⁸² Vergouwen MDI, Frijns CJM, Roos YBWEM, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 allele in the 4G/5G promoter polymorphism increases the occurrence of cerebral ischemia after aneurismal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2004; 35: 1280-1283.
- ²⁸³ Tohgi H, Takahashi H, Tamura K, et al. Ischemic stroke among inpatients with preceding inflammatory response. *Thrombosis Research* 2001; 104: 375-377.
- ²⁸⁴ Renckens R, Roelofs JJTH, De Waard V, et al. The role of plasminogen activator inhibitor type 1 in the inflammatory response to local tissue injury. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1018-25.
- ²⁸⁵ Roest M, Van der Schouw Y, Banga JD, et al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. *Circulation* 2001; 101: 67-70.
- ²⁸⁶ Fuster V, Fallon JT, Nemerson Y. Coronary thrombosis. *Lancet* 1996; 348 (suppl 1): S7-S10.
- ²⁸⁷ Tsirka SE, Bugge TH, Degen JL, et al. Neuronal death in the central nervous system demonstrates a non-fibrin substrate for plasmin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 9779-9781.

-
- ²⁸⁸ Hoekstra T, Geleijnse J, Cornelis K, et al. 4g/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly 2003; 34: 2822-2828.
- ²⁸⁹ Gessler P, Pfenninger J, Pfammatter JP, et al. Inflammatory response of neutrophil granulocytes and monocytes after cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. *Intensive Care Med* 2002; 28:1786-1791.
- ²⁹⁰ Koner O, Celebi S, Balci H, et al. Effects of protective and conventional mechanical ventilation on pulmonary function and systemic cytokine release after cardiopulmonary bypass. *Intensive Care Med* 2005; 30:620-626.
- ²⁹¹ Ranucci M, Frigiola A, Menicanti L, et al. Postoperative antithrombin levels and outcome in cardiac operations. *Crit Care Med* 2005; 33: 355-360.
- ²⁹² Dixon B, Santamaría J, Campbell D. Coagulation activation and organ dysfunction following cardiac surgery. *Chest* 2005; 128: 229-236.
- ²⁹³ Mathew JP, Rinder CS, Howe JG, et al. Platelet P1A2 polymorphism enhances risk of neurocognitive decline after cardiopulmonary bypass. Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) research Group. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 663- 666.
- ²⁹⁴ Parr KG, Patel MA, Dekker R, et al. Multivariate predictors of blood product use in cardiac surgery. *J cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17: 176-181.
- ²⁹⁵ Moulton MJ, Crewell LL, Mackey ME, et al. Re-exploration for bleeding is a risk factor for adverse outcome after cardiac surgery operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111: 1037-1046.
- ²⁹⁶ Marietta M, Facchini L, Pedrazzi P, et al. Pathophysiology of bleeding in surgery. *Transplant Proc* 2006; 38: 812-814.
- ²⁹⁷ Nutall GA, Oliver WC, Ereth MH, et al. Comparison of blood conservation strategies in cardiac surgery patients at risk for bleeding. *Anesthesiology* 2000; 92: 674-682.
- ²⁹⁸ Stover EP, Siegel LC, Body SC, et al. Institutional variability in red blood cell conservation practices for coronary artery bypass graft surgery: institutions of the MultiCenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002; 14: 171-176.
- ²⁹⁹ Magovern JA, Sakert T, Benckart DH, et al. A model for predicting transfusion after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 27-32.
- ³⁰⁰ Leong J-Y, Baker RA, Shah PJ, et al. Clopidogrel and bleeding after coronary artery bypass graft surgery. *Ann Thorac Surg* 2005; 80: 928-933.
- ³⁰¹ Kapetanakis EI, Medlam DA, Petro KR, et al. Effect of clopidogrel premedication in off-pump cardiac surgery: are we forfeiting the benefits of reduced hemorrhagic sequelae?. *Circulation* 2006, 113: 1667-1674.

- ³⁰² Chavanon O, Durand m, Hacini R, et al. Coronary artery bypass grafting with left internal mammary artery and right gastroepiploic artery, with and without bypass. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 499-504.
- ³⁰³ Nuttall GA, Henderson N, Quinn M, et al. Excessive bleeding and transfusion in a prior cardiac surgery is associated with excessive bleeding and transfusion in the next surgery. *Anesth Analg* 2006; 102: 1012-1017.
- ³⁰⁴ Donahue BS, Gailani D, Higgins MS, et al. Factor V Leiden against blood loss and transfusion after cardiac surgery. *Circulation* 2003; 107: 1003-1008.
- ³⁰⁵ Dahlback B. Activated protein C resistance and thrombosis: molecular mechanisms of hypercoagulable state due to FV R506Q mutation. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25: 273-289.
- ³⁰⁶ Fay WP, Shapiro AD, Shih JL, et al. Complete deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1 due to a frameshift mutation. *N Eng J Med* 1992; 327: 1729-1733.
- ³⁰⁷ Agren A, Wiman B, Stiller V, et al. Evaluation of low PAI-1 activity as a risk factor for hemorrhagic diathesis. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 201-208.
- ³⁰⁸ Mangano DT, Tudor LC, Dietzel C, et al. The risk associated with aprotinin in cardiac surgery. *N Engl J Med* 2006; 354: 353-365.
- ³⁰⁹ Welsby IJ, Podgoreanu MV, Phillips-Bute B, et al. Genetic factors contribute to bleeding after cardiac surgery. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1206-1212.
- ³¹⁰ PAparella D, Brister SJ, Buchanan MR, et al. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Int Care Med* 2004; 30: 1873-1881.
- ³¹¹ Gori AM, Pepe G, Atanasio M, et al. Tissue factor reduction and the tissue factor pathway inhibitor release after heparin administration. *Thromb Haemost* 1999; 81: 589-593.
- ³¹² Valen G, Ericsson E, Risberg B, et al. Fibrinolysis during cardiac surgery. Release of tissue plasminogen activator in arterial and coronary sinus blood. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1994; 8: 324-230.
- ³¹³ Higgins TL, Estefanous FG, Loop FD, et al. Stratification of morbidity and mortality outcome by preoperative risk factors in coronary artery bypass patients. *JAMA* 1992; 267: 2344-2348.
- ³¹⁴ Yende S, Quasney MW, Tolley E, et al. Association of tumor necrosis factor gene polymorphisms and prolonged mechanical ventilation after coronary artery bypass surgery. *Crit Care Med* 2003; 31: 133-140.

-
- ³¹⁵ Nakano M, Knowlton A, Dibbs Z, et al. Tumor necrosis factor alpha confers resistance to hypoxic injury in the adult mammalian cardiac myocyte. *Circulation* 1998; 97: 1392-1400.
- ³¹⁶ Shaikh K, Yende S, Waterer GW, et al. Effect of tumor necrosis factor gene polymorphism on restoration of body temperature after coronary artery bypass graft surgery. *Chest* 2000; 118: 109S.
- ³¹⁷ Tomasdottir H, Hjartarson H, Ricksten A, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism is associated with enhanced systemic inflammatory response and increased cardiopulmonary morbidity after cardiac surgery. *Aesth Analg* 2003; 4: 944-949.
- ³¹⁸ Holmes JH, Connolly NC, Paull DL, et al. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes. *Inflamm Res* 2002; 51: 579-586.
- ³¹⁹ Nozawa E, Azeka E, Ignez ZM, et al. Factors associated with failure of weaning from long-term mechanical ventilation after cardiac surgery. *Int Heart J* 2005; 46: 819-831.
- ³²⁰ Pappalardo F, Franco A, Landoni G, et al. Long-term out-come and quality of life of patients requiring prolonged mechanical ventilation after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25: 548-552.
- ³²¹ Janssen DP, Noyez L, Wouters C, et al. Preoperative prediction of prolonged stay in the intensive care unit for coronary bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25: 203-207.
- ³²² Koch CG, Weng YS, Zhou SX, et al. Prevalence of risk factors, and not gender per se, determinates short- and long-term survival after coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17: 585-593.
- ³²³ Hein OV, Birnbaum J, Wernecke K, et al. Prolonged invasive care stay in cardiac surgery: risk factors and long-term-survival. *Ann Thorac Surg* 2006; 81: 880-885.
- ³²⁴ Wong DT, Chen DC, Lustra R, et al. Risk factors of delayed extubation, prolonged length of stay in intensive care unit, and mortality in patients undergoing coronary artery bypass graft with fast-track cardiac anesthesia: a new cardiac risk score. *Anesthesiology* 1999; 91: 936-944.
- ³²⁵ Nilsson J, Algotsson L, Hoglund P, et al. EuroSCORE predicts intensive care unit stay and costs of open heart surgery. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 1528-34.
- ³²⁶ Combes A, Costa MA, Trouillet JL, et al. Morbidity, mortality, and quality-of-life outcomes of patients requiring > 14 days of mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2003; 31: 1373-1381.

-
- ³²⁷ Angus AC, Linde-Zwirble WT, Sirio CA, et al. The effect of managed care on ICU length of stay implications for Medicare. *JAMA* 1996; 276: 1075-1082.
- ³²⁸ Lezzoni LI. Risk adjustment and current health policy debates. In: Lezozni LI, ed. *Risk Adjustment for Measuring Health Care Outcomes*. 2d ed. Ann Arbor, MJ: Health Administration Press; 1997: 357.
- ³²⁹ Kalish RL, Daley J, Duncan CC, et al. Cost of potential complications of care for major surgery patients. *Am J mED Quality* 1995; 10: 48-54.
- ³³⁰ Macario A, Vitez TS, Dunn B, et al. Hospital costs and severity of illness in three types of elective surgery. *Anesthesiology* 1997; 86: 92-100.
- ³³¹ Peterson ED, Coombs LP, Ferguson TB, et al. Hospital variability in length of stay alter coronary artery bypass surgery: results from the Society of Thoracic Súrgenos` National Cardiac Database. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 464-473.
- ³³² Lente FV, Martin A, Ratliff NB, et al: The predictive value of serum enzymes for perioperative myocardial infarction after cardiac operations : an autopsy study. *J Thorac. Cardiovascular Surgery* 1989; 98:704-711.
- ³³³ Quaini E, Colombo T, Russo C, et al. Hospital morbidity and mortality after miocardial revascularisation surgery: Current changes in risk factors. *Eur. J. Cardiothorac. Surg* 1995: 275-282.
- ³³⁴ Obarski TP, Loop FD, Cosgrove DM, et al. Frecuency of acute myocardial infarction in valve repairs versus valve replacement for pure mitral regurgitation. *Am J of Cardiol* 1990; 65: 887-890.
- ³³⁵ Richenbacher WE. Intraaortic ballon counterpulsation. En: Richenbacher WE, editor. *Mechanical circulatory support*. Georgetown: Landes Bioscience, 1999; 21-52.
- ³³⁶ Stallwood MI, Gayson AD, Mills K, et al. Acute renal failure in coronary artery bypass surgery independent effect of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 968-972.
- ³³⁷ Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, et al. Minimal changes of serum creatine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1597-1605.
- ³³⁸ Kuitunen A, Vento A, Suojaranta-Ylinen R, et al. Acute renal failure alter cardiac surgery: evaluation of the RIFLE clasification. *Ann Thorac Surg* 2006; 81: 542-546.
- ³³⁹ Stafford-Smith M, Podgoreanu MV, Swaminathan M, et al. Association of genetic polymorphism with risk of renal injury after coronary bypass graft sugery. *Am J Kidney* 2005; 45: 519-530.

- ³⁴⁰ Murkin JM, Newman SP, Stump DA, et al. Statement of consensus on assessment of neurobehavioral outcomes after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 1289-1295.
- ³⁴¹ Futterer CD, Maurer MH, Schmitt A, et al. Alterations in rat brain proteins alter desflurane anesthesia. *Anesthesiology* 2004; 100: 302-308.
- ³⁴² Djaiani G, Fedorko L, Borger M, et al. Mild to moderate atheromatous disease of the thoracic aorta and new ischemic brain lesions after conventional coronary artery bypass graft surgery. *Stroke* 2004; 35: 356-358.
- ³⁴³ Ganushchak Y, Fransen EJ, Visser C, et al. Neurological complications after coronary artery bypass grafting related to the performance of cardiopulmonary bypass. *Chest* 2004; 125: 2196-2205.
- ³⁴⁴ Peel GK, Stamou SC, Dullum MK, et al. Chronologic distribution of stroke after minimally invasive versus conventional coronary artery bypass. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 394-399.
- ³⁴⁵ Spiess BD, Royston D, Levy JH, et al. Platelet transfusions during coronary artery bypass graft surgery are associated with serious adverse outcomes. *Transfusion* 2004; 44: 1143-1148.
- ³⁴⁶ Yamamoto K, Taleshita K, Kojima T, et al. Aging and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) regulation: implication in the pathogenesis of thrombotic disorders in the elderly. *Cardiovascular Research* 2005; 66: 276-285.
- ³⁴⁷ Taggart DP, Westaby S. Neurological and cognitive disorders alter coronary artery bypass grafting. *Curr Opin Cardiol* 2001. 16: 271-276.
- ³⁴⁸ Mark DB, Newman MF. Protecting the brain in coronary artery bypass graft surgery. *JAMA* 2002; 287: 1448-1450.
- ³⁴⁹ Mills NL, Everson CT. Atherosclerosis of the ascending aorta and coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 546-553.
- ³⁵⁰ Royse AG, Royse CF, Ajan AE, et al. Reduced neuropsychological dysfunction using epiaortic echocardiography and the exclusive Y graft. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 1431-1438.
- ³⁵¹ Reichenspurner H, Navia JA, Berry G, et al. Particulate emboli capture by an intra-aortic filter device during cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119: 233-241.
- ³⁵² Stamou SC. Stroke and encephalopathy alter cardiac surgery. The search for the holy grail. *Stroke* 2006; 37: 284-284.
- ³⁵³ Ma D, Yang H, Lynch J, et al. Xenon attenuates cardiopulmonary bypass-induced neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat. *Anesthesiology* 2003; 98: 690-698.

- ³⁵⁴ Heder EJ, Lee KS, Manspeizer HE, et al. Heparin-bonded cardiopulmonary bypass circuits reduce cognitive dysfunction. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002; 16: 37-42.
- ³⁵⁵ Bourbon A, Vionnet M, Leprince P, et al. The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2004; 26: 932-938.
- ³⁵⁶ Mathew JP, Grocott HP, McCurdy JR, et al. Preoperative statin therapy does not reduce cognitive dysfunction after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2005; 19: 294-299.
- ³⁵⁷ Wang MJ, Chiu IS, Hsu CM, et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 651-656.
- ³⁵⁸ Levetan CS. Effect of hyperglycemia on stroke outcomes. *Endocr Pract* 2004; 10 : 34-39.
- ³⁵⁹ Suzuki M, Akimoto K, Hattori Y, et al. Glucosa upregulates plasminogen activator inhibitor-1 gene expresión in vascular smooth muscle cells. *Life Sciences* 2002; 72: 59-66.
- ³⁶⁰ Flossmann E, Schulz UG, Rothwell PM. Systematic review of methods and results od studies of the genetic epidemiology os ischemic stroke. *Stroke*. 2004; 35: 212-227.
- ³⁶¹ Cardon LR, Bell JI. Association study desings for complex diseases. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 91-99.
- ³⁶² Markus HS, Alberts MJ. Update on genetics of stroke and cerebrovascular diseas 2005. *Stroke* 2006; 37: 288-290.
- ³⁶³ Drave N, Zuñid G, Grúnenfelder J, et al. Genetic predisposition in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery is associated with an increase of inflammatory cytokines. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2001; 20: 609-613.
- ³⁶⁴ Dichgans M, Marcus HS. Genetic association studies in stroke. Methodological issues and proposed standard criteria. *Stroke* 2005; 36: 2027-2031.
- ³⁶⁵ The internacional HapMap Consortium. A haplotype map of the human. *Nature* 2005; 437: 1299-1320.
- ³⁶⁶ Podgoreanu MV, Michelotti GA, Sato Y, et al. Differential cardiac gene expression during cardiopulmonary bypass: ischemia-independent upregulation of proinflammatory genes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 330-339.
- ³⁶⁷ Calvano SE, Xiao W, Richards DS, et al. A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature* 2005; 437: 1032-1037.

³⁶⁸ Stamou SC. Stroke and encephalopathy after cardiac surgery. The search for the Holy Grail. *Stroke* 2006; 37: 284-285.

³⁶⁹ Rodríguez, RA. Human auditory evoked potentials in the assessment of brain function during major cardiovascular surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 8: 85-89.

³⁷⁰ Winocur G, Roder J, Lobaugh N. Learning and memory in S100B transgenic mice: an analysis of impaired and preserved function. *Neurobiol Learn Mem* 2001; 75: 230-243.

³⁷¹ Bokesch PM, Izykenova GA, Justice JB, et al. NMDA receptor antibodies predict adverse neurological outcome after cardiac surgery in high-risk patients. *Stroke* 2006; 37: 1432-1436.

³⁷² Iohom G, Szarvas S, Larney V, et al. Perioperative plasma concentrations of stable nitric oxide products are predictive of cognitive dysfunction after laparoscopic cholecystectomy. *Anesth Analg* 2004; 99: 1245-1252.