



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título

GALECTINA 3 Y SU ASOCIACIÓN A LA PRESENCIA DE FIBROSIS
AURICULAR EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDIACA

Alumno: JUAN ANTONIO VÍLCHEZ AGUILERA

Tutor: MARIA SALINAS LA CASTA

Co-tutor: DIANA HERNÁNDEZ ROMERO

Curso: 2015-2016

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. INTRODUCCIÓN	6
1. LA FIBRILACIÓN AURICULAR COMO ENFERMEDAD COMPLEJA.....	6
1.1. Definición.....	6
1.2. Enfermedades cardiovasculares asociadas a la fibrilación auricular.....	7
1.3. Diagnóstico de FA.....	8
1.4. Aparición de fibrilación auricular postoperatoria	8
2. REMODELADO CARDÍACO Y FIBROSIS.....	9
3. BIOMARCADORES EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....	10
3.1 Biomarcadores relacionados con el remodelado y la fibrosis: biomarcadores cardíacos. 10	
3.2 Galectina-3	11
II. HIPOTESIS DE TRABAJO	12
III. OBJETIVOS	13
IV. METODOLOGÍA	14
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	14
4.2 AMBITO DE ESTUDIO.....	14
4.3 DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN	14
4.3.1 Criterios de selección de pacientes.....	14
4.3.2 Tamaño muestral	15
4.4 VARIABLES DE ESTUDIO.....	15
4.4.1 Variables clínicas:	15
4.4.2 Muestras de sangre y ensayos de laboratorio	16
4.4.3 Obtención y tinción de tejido del apéndice de la orejuela derecha.....	18
4.5 FUENTES DE DATOS.....	18
4.6 METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	19
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	19
4.8 LIMITACIONES	21
V. ASPECTOS ÉTICOS	22
5.1 CONSIDERACIONES GENERALES.....	22
5.2 CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS.....	22
VI. PLAN DE TRABAJO	22
6.1 ETAPAS DEL ESTUDIO	23

VII. MEDIOS DISPONIBLES	24
VIII. FINANCIACIÓN	25
IX. BIBLIOGRAFÍA	26



RESUMEN

Los cambios en la función y la estructura de la aurícula se conocen como remodelado auricular. Se ha planteado la hipótesis de que el remodelado en el tejido auricular sea resultado de la presencia de patologías subyacentes como la hipertensión, la diabetes y la enfermedad isquémica del corazón, que a su vez puede conducir a la aparición de fibrilación auricular (FA). Por otra parte, hay datos emergentes que apoyan una asociación significativa entre la fibrosis, la inflamación, el estrés oxidativo y el desarrollo, la recurrencia y la perpetuación de la FA. Por otra parte, la aparición de FA es un fenómeno común en pacientes que se someten a cirugía cardíaca.

La galectina-3 (GAL3) es un biomarcador que está directamente relacionado como mediador de las vías profibróticas y como un potencial biomarcador de remodelado cardíaco adverso. Se sabe que la GAL3 es expresada por los macrófagos activados, y está relacionada con las áreas de fibrosis, lo que sugiere un papel activo en la modulación de la matriz extracelular. Por tanto, el papel de la GAL3 en la insuficiencia cardíaca y su relación con la fibrosis ha sido ampliamente estudiado mientras que dicho papel relacionado con la presencia de fibrosis auricular y su relación con FA no parece tan claro, siendo necesario realizar estudios más en profundidad. Así, nuestro objetivo principal recae en evaluar la relación entre la concentración de GAL3 y la aparición de FA en pacientes que se someten a cirugía cardíaca, así como su asociación con el remodelado auricular y la presencia de fibrosis corroborada por los datos obtenidos de una biopsia de tejido auricular extraída durante la intervención quirúrgica.

PALABRAS CLAVE: Galectina 3, fibrilación auricular, biomarcador, remodelado auricular

ABSTRACT

Changes in atrial function and structure are known as atrial remodeling, and participate in its development. It is known that remodeling in the atria tissue could appear as a result of hypertension, diabetes or ischaemic heart disease. Moreover, there is emerging evidence supporting a significant association between fibrosis, inflammation, oxidative stress and development, recurrence and perpetuation of atrial fibrillation (AF). The occurrence of AF, commonly occurs in patients undergoing cardiac surgery. *Galectin-3* (GAL-3) has been reported as a mediator of profibrotic pathways and as a potential biomarker of adverse cardiac remodeling. GAL-3 is expressed by activated macrophages and it is related with fibrotic areas, suggesting an active role in the modulation of the extracellular matrix. Therefore, GAL-3 appears to link pathways of inflammation and fibrosis and may contribute to the development of heart failure, but its role on atrial remodeling has to be studied. Thus, our main objective is focused in the evaluation of the relationship between the concentrations of GAL-3 and the development of AF in patients undergoing cardiac surgery. We will also evaluate GAL-3 association with atrial remodeling and presence of fibrosis from atrial tissue biopsy removed in surgery obtained in the surgery process.

KEYWORDS: Galectin 3, atrial fibrillation, biomarker, atrial remodeling

I. INTRODUCCIÓN

1. LA FIBRILACIÓN AURICULAR COMO ENFERMEDAD COMPLEJA

1.1. Definición

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente, asociándose a una gran morbimortalidad que multiplica cinco veces el riesgo de padecer un accidente cerebrovascular o ictus y tromboembolismo sistémico [1]. La prevalencia de aparición de FA aumenta a mayor edad y se multiplica por dos cada década a partir de los 50 años, viéndose afectado así el 10% de la población por encima de 80 años, aproximadamente [2]. El envejecimiento por tanto, aumenta el riesgo de FA, probablemente por pérdida y aislamiento del miocardio auricular dependiente de la edad y de trastornos de conducción cardíaca asociados a ello. Los varones están afectados más frecuentemente que las mujeres, en torno a un 25% en personas mayores de 40 años [2].

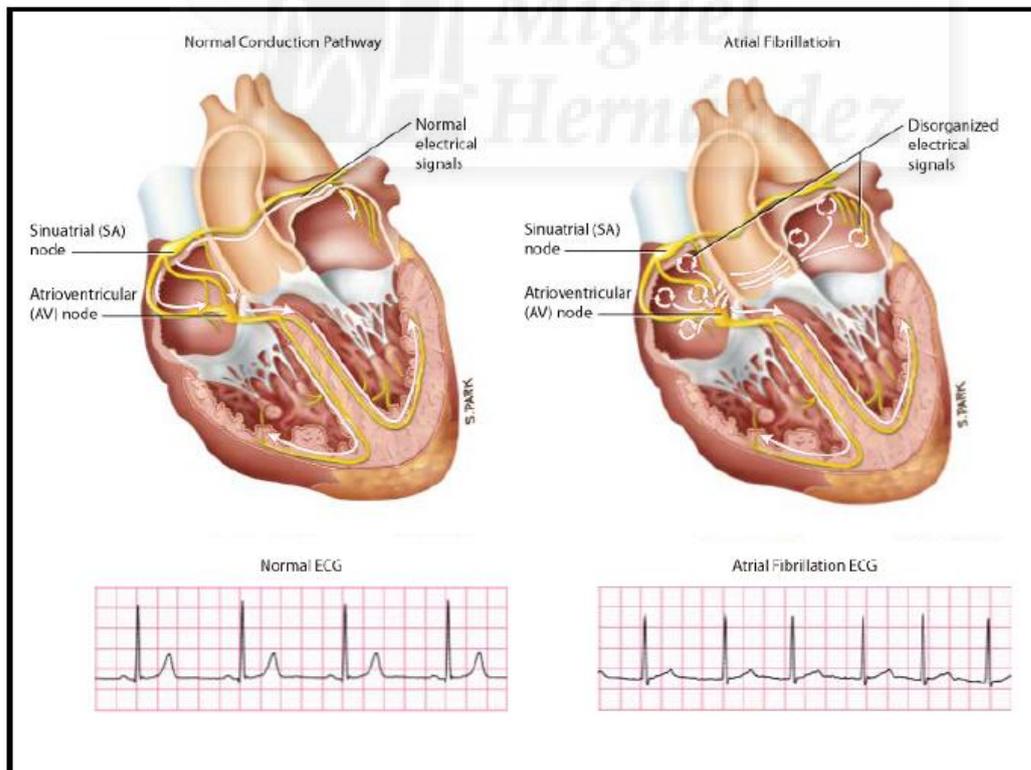


Figura 1. Aparición de fibrilación auricular. Adaptado de: Atrial Fibrillation Teaching File, Department of Medicine, University of Toronto.

1.2. Enfermedades cardiovasculares asociadas a la fibrilación auricular

Además los pacientes con FA tienen una alta incidencia de otras complicaciones cardiovasculares. Destaca el Síndrome coronario agudo (SCA) y la muerte vascular, por la coexistencia de otros factores de riesgo cardiovascular como son la hipertensión arterial (HTA) o la diabetes mellitus (DM) [3]. A su vez, las enfermedades asociadas a FA también son marcadores del riesgo cardiovascular total y no sólo simples factores causales. La HTA es un factor de riesgo de incidencia de FA y sus complicaciones, tales como el ACV y el tromboembolismo sistémico. La insuficiencia cardiaca (IC) está presente en un 30% de los pacientes con FA, y a su vez la FA se encuentra en hasta un 30-40% de los pacientes con IC, y puede clasificarse la disnea sintomática presente mediante la escala NYHA (New York Heart Association clase I-IV), dependiendo de la causa subyacente y de la gravedad de IC [4].

Otros factores relacionados pueden ser la cardiopatía isquémica que está presente en más del 20% de los pacientes con FA, la obesidad y la diabetes mellitus que se encuentra en un 20% y puede contribuir al daño auricular. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) aparece en torno a un 10-15 % de los pacientes con FA y probablemente se podría considerar como un marcador de riesgo cardiovascular total a un factor predisponente de FA específico. La enfermedad renal crónica también destaca y está presente en un 10-15% de los pacientes con FA [5].

Por otro lado, las valvulopatías se encuentran en un 30% aproximadamente de los pacientes, viéndose cómo la FA puede estar causada por una distensión de la aurícula izquierda (AI) y puede ser una manifestación precoz de estenosis y/o insuficiencia mitral [6].

Las miocardiopatías suponen un riesgo aumentado de FA, sobretodo en jóvenes; así se ha observado cómo ciertas miocardiopatías relativamente raras se encuentran en un 10% de los pacientes con FA y algunos pacientes con FA aislada pueden presentar mutaciones conocidas para miocardiopatías eléctricas [4].

1.3. Diagnóstico de FA

Cuando aparece pulso irregular debe despertar la sospecha de una posible FA, aunque es necesaria una monitorización por electrocardiograma (ECG) para realizar el diagnóstico. Así la presencia de una arritmia que tenga características electrocardiográficas de FA y dure lo suficiente para que se pueda registrar con un ECG de 12 derivaciones, o al menos 30 s en tira de ritmo, debe considerarse como FA. La FA puede manifestarse de forma inicial como un ACV isquémico o un ataque isquémico transitorio, además de que muchos pacientes experimentan episodios asintomáticos de arritmia, antes de que se diagnostique la FA por primera vez. La tasa de recurrencia de FA es de un 10% el primer año tras diagnóstico inicial y un 5% anual después [7].

1.4. Aparición de fibrilación auricular postoperatoria

La FA además se ve asociada con un aumento de la morbilidad y la mortalidad después de la cirugía cardiaca y una elevación de la estancia hospitalaria [2,8], siendo la complicación más frecuente después de la cirugía cardiaca. Se ha constatado la aparición de FA postquirúrgica (FAP) hasta en un 5-40% de los pacientes en el postoperatorio inmediato de revascularización miocárdica [9,10], en un 37-50% después de la cirugía valvular, en un 64% después de cirugía de sustitución valvular mitral más cirugía coronaria, 49% después de sustitución valvular aórtica más cirugía coronaria y en un 12% tras trasplante cardiaco [11-13].

La FA postquirúrgica suele aparecer a los 2-4 días tras la intervención, con una incidencia máxima en el día 2 del postoperatorio. Como hemos mencionado, supone un incremento en la morbimortalidad postquirúrgica, ya que se produce un deterioro hemodinámico, aumento del riesgo de insuficiencia cardiaca, eventos embólicos y una prolongación importante de la estancia hospitalaria [2].

Dentro de los factores fisiopatológicos implicados en el desarrollo de FAP se encuentran factores auriculares predisponentes como puede ser cambios estructurales relacionados con la edad, dilatación auricular, hipertrofia, fibrosis, inflamación postoperatoria, pericarditis o remodelado eléctrico entre otros [3,14,15].

2. REMODELADO CARDÍACO Y FIBROSIS

El corazón adulto es un órgano dinámico con la capacidad para superar lesiones y sobrecarga hemodinámica mediante respuestas fisiológicas que incluyen la hipertrofia de los miocitos, cambio de patrón de expresión de genes cardiacos, y remodelado de la matriz extracelular (MEC) [16].

En varias enfermedades cardiovasculares, como la IC, la miocardiopatía hipertrófica (MCH) o cardiomiopatía dilatada, se ha demostrado un remodelado ventricular, con cambios en la matriz extracelular principalmente. Por otra parte, un remodelado auricular podría aparecer también directamente relacionado con el desarrollo de FA [17]. Por lo tanto podemos ver que la MEC no es una estructura pasiva, es una entidad dinámica con gran importancia en el proceso de remodelado que se produce en diferentes enfermedades cardiovasculares.

La MEC es una red estructural tridimensional de colágenos intersticiales donde se unen otros componentes de la matriz que influyen claramente en el remodelado cardiaco. Una MEC bien estructurada es necesaria para mantener la fuerza, la integridad funcional de los tejidos cardíacos y la comunicación celular dentro del corazón. La MEC del corazón sano está sometida a un recambio equilibrado, así los nuevos componentes de la MEC son sintetizados por los fibroblastos cardíacos, y por otro lado, los componentes de MEC se degradan continuamente por la acción de una gran familia de metaloproteinasas de matriz (MMPs) [18].

Los cambios en la MEC pueden desempeñar un papel importante en la génesis de la disfunción diastólica o sistólica. La deposición de colágeno aumenta la rigidez del llenado ventricular de la cámara ventricular izquierda y compromete la diástole. El recambio de colágeno se modifica claramente en las enfermedades cardiovasculares como MCH, que aparece predominantemente un aumento en la síntesis de colágeno de tipo I y III en lugar de su degradación. También están asociados diferentes cambios en la actividad MMP, las principales enzimas responsables de la degradación de los componentes de la matriz, y sus inhibidores, los TIMPs [19]. Dicho remodelado queda bien documentado en patologías con aparición de fibrosis ventricular como hemos

mencionado pero también está siendo motivo de estudio en la aurícula y su estrecha relación con la aparición de FA [17]. Así, los cambios en la función y la estructura de la aurícula se conocen como remodelado auricular.

3. BIOMARCADORES EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Los biomarcadores son moléculas que son objetivamente (y fácilmente) medibles por técnicas de laboratorio, que nos pueden dar información útil acerca de los procesos biológicos normales, fisiopatología anormal, y el pronóstico, así como en la asistencia en un diagnóstico diferencial. En la medicina cardiovascular, los campos más activos en los que los biomarcadores muestran una clara utilidad han sido la cardiopatía isquémica y la IC.

3.1 Biomarcadores relacionados con el remodelado y la fibrosis: biomarcadores cardíacos

El remodelado de la MEC conlleva un aumento de la fibrosis intersticial, debido a las cantidades elevadas de deposición colágeno tipo I/III. Así, la búsqueda de marcadores biológicos de metabolismo del colágeno ha proporcionado un gran número de moléculas candidatas clásicas que se pueden clasificar en 2 categorías: los biomarcadores relacionados con la síntesis de moléculas que forman nuevas fibras de colágeno y los biomarcadores relacionados con la degradación de las moléculas que comprenden fibras de colágeno maduro, en los que los péptidos del colágeno han sido los biomarcadores clásicamente estudiados [20,21].

Recientemente y debido a los datos contradictorios respecto a los hallazgos en los péptidos del colágeno en diferentes patologías y su relación con la fibrosis presente, ha hecho que estas líneas de investigación no avancen significativamente. Además, el estudio de otros biomarcadores relacionados con fibrosis cardíaca como el ST-2, y sobre todo la galectina-3 ha emergido recientemente, especialmente en el contexto de la IC.

3.2 Galectina-3

La galectina-3 (GAL-3) es un miembro de la familia de lectinas solubles con acción betagalactosidasa y es una proteína secretada por los macrófagos activados que juega un papel crucial en varios procesos biológicos y enfermedades diversas [22]. Recientemente, ha sido descrito de forma interesante el papel de GAL-3 en la fisiopatología de la IC y su promoción en la proliferación de fibroblastos cardíacos, la deposición de colágeno, y la disfunción ventricular [22]. Esto conduce a inflamación y a la aparición de fibrosis cardíaca progresiva [23].

GAL-3 se libera en el miocardio, a través de un efecto paracrino, y es capaz de estimular la proliferación de miofibroblastos y la deposición de procolágeno tipo I. La activación de fibroblastos y miofibroblastos y la deposición de procolágeno en la MEC es lo que en última instancia conduce como hemos mencionado anteriormente a fibrosis cardíaca [23,24].

La GAL-3 ha sido propuesta como un nuevo biomarcador para el diagnóstico independiente de IC aguda y se ha incluido en algoritmos de diagnóstico [25]. Además varios estudios han evaluado el valor de las concentraciones séricas de GAL-3 en el pronóstico de la IC aguda, así el estudio PRIDE demostró que GAL-3 fue mejor predictor pronóstico de mortalidad a 60 días en comparación con la fracción amino terminal del Péptido Natriurético Cerebral (NT-proBNP), clásico biomarcador estudiado en IC y además la GAL-3 correlacionaba con los parámetros de la función diastólica en el ECG [26]. Este hallazgo fue corroborado en el estudio COACH [27]. Además, el valor predictivo de la GAL-3 es particularmente útil para los resultados a corto plazo y concentraciones elevadas, GAL-3 > 17,8 ng/ml se han asociado a re-hospitalización a corto plazo [28].

Con respecto a la IC crónica, se ha demostrado su valor pronóstico comportándose la GAL-3 como un marcador pronóstico independiente de largo plazo de mortalidad [29]. El estudio Val-HeFT demostró que la GAL-3 se mantenía asociada de forma significativa a mortalidad y hospitalización por IC [30]. Recientemente, la *American College of Cardiology/American Heart Association* recomienda un estudio español en el que

evalúan la determinación de ST2 y GAL-3, por sus capacidades de pronóstico en la IC crónica [31].

Es conocido que la fibrosis es un hallazgo histopatológico del remodelado auricular. Así, la asociación entre la FA y la fibrosis auricular izquierda se ha puesto de manifiesto en varios estudios [32–34].

En un estudio reciente, se encontraron mayores concentraciones circulantes de GAL-3 relacionadas a un mayor riesgo de desarrollo de FA en los siguientes 10 años en un análisis ajustado por edad y sexo [35]. Además otros estudios recientes correlacionan mayores concentraciones de GAL-3 en suero en pacientes con FA [36,37]. Estos estudios del mismo grupo de investigación, correlacionan el volumen indexado de la AI (como marcador ecocardiográfico de remodelado auricular izquierdo) con mayores concentraciones de GAL-3 en pacientes con FA persistente y en otra cohorte de FA paroxística con función preservada del ventrículo izquierdo sometidos a ablación cardíaca. Kornej J *et al* también demostraron mayores concentraciones de GAL-3 en un reciente estudio similar pero con otra técnica de ablación cardíaca [38].

Con todos estos estudios mencionados, podemos observar el reciente y creciente interés del estudio de biomarcadores en FA, sobretodo GAL-3 y su relación con la fibrosis auricular presente en estos pacientes.

II. HIPOTESIS DE TRABAJO

Se ha planteado la hipótesis de que el remodelado en el tejido auricular sea resultado de la presencia de patologías subyacentes como la hipertensión, la diabetes y la enfermedad isquémica del corazón, que a su vez puede conducir a la aparición de FA. Por otra parte, hay datos emergentes que apoyan una asociación significativa entre la fibrosis, la inflamación, el estrés oxidativo y el desarrollo, la recurrencia y la perpetuación de la FA [8].

Se podría considerar el remodelado intersticial como un proceso ya preexistente en los pacientes que desarrollan FA de manera sostenida en el postoperatorio de cirugía cardíaca coronaria o valvular. Dicha cirugía cardíaca favorece la inflamación, el

remodelado, el estrés oxidativo, etc, y estas alteraciones promueven la apoptosis. Por otro lado, la apoptosis de los miocardiocitos podría degenerar en fibrosis y empeorar la hemodinámica cardíaca y función de la aurícula.

La GAL-3 parece vincular las vías de inflamación y fibrosis, pudiendo contribuir al desarrollo de IC, participando en la mediación de una alteración progresiva de la matriz extracelular del miocardio. El papel de la GAL-3 en IC y presencia de fibrosis está más consolidado, sin embargo se necesitan más estudios acerca de su papel relacionado a la presencia de fibrosis auricular y su relación con FA.

La hipótesis de este estudio recae en comprobar si existe una relación entre las concentraciones de GAL-3 y la presencia de fibrosis, en pacientes que se someten a cirugía cardíaca y a su vez desarrollan FAP.

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL:

Nuestro objetivo principal recae en evaluar la relación entre la concentración de GAL-3 en pacientes que se someten a cirugía cardíaca con riesgo de aparición de FAP, y su asociación con el remodelado auricular y la presencia de fibrosis corroborada por los datos obtenidos de una biopsia de tejido auricular extraída en la intervención quirúrgica.

2. OBJETIVO SECUNDARIO:

Correlacionar estos datos con otros biomarcadores, datos clínicos y demográficos, extraídos de la historia clínica de los pacientes sometidos a cirugía cardíaca.

IV. METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se decide plantear un estudio analítico observacional, por tanto un estudio de cohortes prospectivo y descriptivo, en el que se valorará el comportamiento del biomarcador elegido en un momento concreto (determinación previa a la cirugía).

4.2 AMBITO DE ESTUDIO

El estudio se lleva a cabo en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia (HCUVA) que es el hospital de referencia de la Región de Murcia y pertenece al Área de Salud I (Murcia/Oeste). El estudio se ha realizado en colaboración con el Servicio de Análisis Clínicos, para las determinaciones analíticas, el Servicio de Cardiología del mismo centro para la captación de pacientes y con la estrecha participación del grupo de investigación *Trombosis arterial y remodelado vascular, intersticial y miocárdico (grupo FFIS nº15)*, para la coordinación y recogida de datos del estudio. Los pacientes con intervención quirúrgica programada, se recopilaron en el periodo comprendido desde noviembre de 2010 a febrero de 2012.

4.3 DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN

4.3.1 Criterios de selección de pacientes

Se empezó a reclutar consecutivamente pacientes hemodinámicamente estables, sometidos a cirugía cardíaca programada con bomba de circulación extracorpórea. Son pacientes con cardiopatía isquémica o estenosis valvular aórtica severa, intervenidos de cirugía de revascularización coronaria o recambio valvular aórtico. Todos ellos presentaban registro electrocardiográfico de 12 derivaciones en ritmo sinusal.

Se excluyeron los pacientes con FA previa (paroxística o permanente), angina inestable, insuficiencia hepática o insuficiencia renal (aclaramiento de creatinina <50 ml/min) y aquellos con enfermedades inflamatorias o neoplásicas crónicas. Además, los pacientes sometidos a cirugía de urgencia y aquellos con un historial previo de marcapasos, endocarditis infecciosa también fueron excluidos.

4.3.2 Tamaño muestral

Para calcular el tamaño muestral, al no existir bibliografía suficiente previa que estudie el valor pronóstico de GAL3 y su asociación a fibrosis auricular y FA y conocer la prevalencia de la enfermedad, decidimos realizar un estudio piloto. Para ello se analizó el biomarcador en 50 pacientes y se obtuvo una sensibilidad de la prueba diagnóstica del 60% asociada a la presencia de fibrosis auricular. La tasa conocida de no enfermos/enfermos en nuestro estudio piloto fue de 0.2. Con estos datos el cálculo del tamaño muestral para una precisión del 10%, sugiere reclutar 112 pacientes (93 expuestos y 19 no expuestos).

4.4 VARIABLES DE ESTUDIO

4.4.1 Variables clínicas:

Variables recogidas en historia clínica:

Se recogieron antecedentes y datos clínicos como: edad en años, sexo, antecedentes coronarios, antecedentes valvulares, hábito tabáquico, enolismo, hipertensión, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, enfermedad obstructiva crónica pulmonar (EPOC) previa, ictus previo, IC, escala NYHA, escala EuroSCORE, aclaramiento de creatinina y datos de otros biomarcadores como Troponina T ultrasensible (TnT hs), Nt-proBNP o PCR ultrasensible.

Variables de evolución: Se documentó la caída en FA durante el período postoperatorio en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), mediante una telemetría continua por 3-derivaciones y por un dispositivo Holter-ECG una vez que el paciente se encontraba en la unidad de cirugía cardíaca. La monitorización se extendió hasta un máximo de 10 días después de la cirugía. Además, se realizó un ECG de 12 derivaciones a diario en pacientes sintomáticos durante el período de hospitalización. El desarrollo de FA se definió como un episodio de FA que durara más de 2 minutos en cualquiera de registro del ECG.

Además se recogió el tiempo total de la hospitalización (días) tanto en UCI como en planta.

Variables ecocardiográficas: El estudio preoperatorio incluyó un ECG transtorácico reglado enfocado a recoger variables a correlacionar con los datos de fibrosis y caída en FA. Se midió la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), septo interventricular, diámetros diastólico y sistólico de VI, diámetro de la AI, volumen de la AI, volumen indexado de la AI, ondas E y A, y grado de estenosis y/o insuficiencia de cualquier valvulopatía, estudio de TSA mediante ecografía Doppler o TAC.

Todas las mediciones ecocardiográficas fueron realizadas por el mismo cardiólogo acreditando que desconocía los datos clínicos y de laboratorio de los pacientes. El volumen de la AI (mm³), se calculó de acuerdo con el modelo elipsoide que supone que la AI se puede representar de manera adecuada como un elipsoide alargado [39]. Los cálculos de volumen de la AI fueron indexados por superficie corporal calculada (mm), de acuerdo con el modelo de Gehan y George [40].

Todas las variables están recogidas en el anexo II.

4.4.2 Muestras de sangre y ensayos de laboratorio

La extracción sanguínea se realizó la mañana de la cirugía cardíaca, recogiendo muestra del paciente en ayunas más de 12 horas. Recogimos muestras inmediatamente antes de la cirugía cardíaca. Las muestras de suero se obtuvieron tras centrifugación (15 min a 3500 g) y se congelaron diferentes alícuotas, a -80°C para un procesamiento posterior.

La determinación de los valores preoperatorios de GAL-3 en muestras de suero descongeladas, se realizó mediante ELFA (Ensayo enzimático tipo ligando fluorescente) en un analizador automatizado Mini Vidas (Biomérieux®, Francia).

Esta técnica consiste en una técnica de ELISA (acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: 'ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas') y ligada a fluorescencia. La metodología ELFA es una técnica ELISA en "sandwich" de alta sensibilidad y especificidad para la detección de antígenos, con lectura final en fluorescencia, proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra. Los

anticuerpos están fijados en la fase sólida de la reacción, que consiste en un cono, el cual actúa como pipeta. El interior del cono se encuentra recubierto de anticuerpos.

Los coeficientes de variación inter-ensayo e intra-ensayo fueron 6,5% y 1,6%, respectivamente. El rango de medida es 3,3 a 100 ng/ml, el límite inferior de detección de 2,2 ng/ml y el límite de cuantificación de 3,3 ng/ml.

El resto de biomarcadores del estudio recogidos de la historia clínica de los pacientes incluidos, se determinaron por técnicas de Electroquimioluminiscencia (ECLIA) en autoanalizadores Hitachi/Cobas Roche Diagnostics® para la determinación de NT-proBNP y TnT hs.

ECLIA combina la reacción convencional Ag-Ac sobre la superficie de una micropartícula magnética con la reacción electroquímica sobre la superficie de un electrodo para generar luminiscencia. Es un método basado en la interacción entre un quelato de rutenio y tripropilamina (TPA) sobre la superficie de un electrodo de platino. El quelato de rutenio produce sales altamente estables que pueden acoplarse fácilmente a muchas especies biológicas. Para desencadenar la reacción ECLIA sólo se requiere una simple excitación eléctrica. Las reacciones quimioluminiscentes que llevan a la emisión de luz a partir del marcador de rutenio son activadas eléctricamente, por aplicación de un voltaje a la mezcla de reacción. El producto final de la reacción se forma en la misma fase de medida. La emisión de luz se mide con un fotomultiplicador situado por encima de la célula de excitación.

Mientras, la determinación de PCR ultrasensible se realizó en autoanalizadores Hitachi/Cobas Roche Diagnostics® por Inmunturbidimetría, que consiste en la valoración de la disminución de la potencia radiante, de una emisión policromática, al atravesar una solución de partículas (complejos antígeno-anticuerpo solos o inmunocomplejos unidos a micropartículas), medida en la misma dirección en que es emitida. Dicha disminución es debida a procesos de absorción, dispersión y reflexión.

4.4.3 Obtención y tinción de tejido del apéndice de la orejuela derecha

Se obtuvo tejido de la orejuela derecha durante la cirugía, en la canulación para la circulación extracorpórea. Se realiza mediante técnica de “bolsa de tabaco” con sutura continua no reabsorbible alrededor de la orejuela derecha, la cual es seccionada con tijeras para introducir la cánula. El tejido restante de la orejuela se recoge para su estudio.

Todos los sujetos reclutados dieron su consentimiento informado para participar en el estudio (ver Anexo I). Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron en bypass cardiopulmonar, con hipotermia leve (30 °C) con ventilación en parada cardiopléjica del corazón y del ventrículo izquierdo a través de la vena pulmonar superior derecha.

Las muestras de tejido se procesaron embebidas en parafina y cortándolas en secciones de 2-3 micras. Para evaluar la histoquímica de la infiltración del tejido conectivo dentro de los tejidos del miocardio, se realizó una tinción de tricrómico de Masson, mediante un sistema de tinción automatizado (Dako Artisan, Dako, Carpinteria, California, EE.UU.), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El grado de infiltración de tejido conectivo se midió mediante una escala cualitativa 0-3 (0: negativo, 1: leve, 2: medio y 3: infiltración alta) atendiendo a la localización dentro del tejido (perivascular o fibrosis intersticial). Todas las evaluaciones fueron ciegas y se realizó dos veces para asegurar la replicabilidad de los resultados. El análisis se realizó mediante el uso de un microscopio óptico Alcance Axio A1 (Carl Zeiss, Jena, Alemania) a 100x.

4.5 FUENTES DE DATOS

Los datos fueron obtenidos de:

-Formulario de recogida de datos cumplimentado por los médicos responsable de la intervención, seguimiento y pruebas ecocardiográficas de control postoperatorio (Anexo II).

-Historia clínica de los pacientes, tanto electrónica (Selene®) como en papel.

-Datos de laboratorio recogidos en la tanda de determinación del biomarcador.

Durante todo el proceso se mantuvo la confidencialidad de los datos personales de los pacientes.

4.6 METODOLOGÍA DE TRABAJO

La recogida de datos ha comprendido las siguientes fases:

En la primera de ellas se recogió la información sobre los antecedentes del paciente, datos clínicos y de las exploraciones de diagnóstico (ecocardiografía, coronariografía entre otras), a partir de las historias clínicas de los pacientes en el momento de su ingreso.

En la segunda fase, se registraron datos postquirúrgicos como la aparición de FA en UCI, cantidad de sangrado, datos analíticos de muestras sanguíneas y resto de variables comentadas previamente. Todos estos datos fueron recogidos en una hoja de datos creada para este estudio (Ver Anexo II).

La tercera fase incluye la creación de las bases de datos del estudio y coordinación de los datos.

Una cuarta fase incluye el procesamiento y análisis de muestras auriculares extraídas antes de la cirugía (medida del grado de fibrosis por técnicas de tinción) y el análisis de muestras sanguíneas congeladas (concentraciones de GAL-3).

Por último una fase evaluación y proyección de los resultados obtenidos.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

A continuación se describe el análisis estadístico que se realizará en función de los objetivos planteados:

Las variables categóricas se presentarán como recuentos (porcentajes), mientras que las variables continuas se presentarán como media \pm SD (desviación estándar) o la mediana (percentiles 25 y 75), según proceda. Para ello se analizará mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la distribución normal de las variables continuas.

Objetivo 1. Se realizarán los siguientes estudios de asociación estadística:

-Evaluar las concentraciones de GAL-3 en los pacientes con caída en FA y mayor fibrosis. Para ello se realizará comparativa de medias de las concentraciones del biomarcador mediante T de Student o U de Mann Whitney en función de la prueba de normalidad.

-Las variables asociadas con las concentraciones de GAL-3 se estudiarán mediante análisis de regresión lineal (modo paso a paso). Para ello se diseñará un estudio de regresión lineal considerando como variable dependiente las concentraciones de GAL-3, a las cuales se enfrentarán las siguientes variables: edad en años, sexo, aclaramiento de creatinina y volumen de la AI (como variables continuas); además de antecedentes coronarios, antecedentes valvulares, hábito tabáquico, enolismo, hipertensión, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, enfermedad obstructiva crónica pulmonar (EPOC) previa, ictus previo, IC, escala NYHA, como variables categóricas. Se valorará los datos del Coeficiente b (coeficiente de regresión) y el intervalo de confianza (IC 95%). Se considerará significativo un valor de $p < 0,05$. Las variables con $p < 0,15$ en el análisis univariado se incluirán en el modelo de regresión multivariado.

-Una vez valorado el comportamiento de la GAL-3 como biomarcador se realizará un estudio de regresión logística binaria utilizando la fibrosis como end-point final. Mediante dicho modelo se estudiarán la asociación general entre la fibrosis en los tejidos obtenidos por biopsia y los valores de GAL-3. Para ello consideramos fibrosis intensa cuando el grado de infiltración de tejido conectivo sea de 2 ó 3 grados en la tinción tricrómica de Masson. En este análisis, se valorará la posibilidad de obtener un punto de corte para GAL-3 calculando el área bajo la curva característica mediante curvas ROC. Se estudiará la aplicación de un modelo de regresión logística binaria con los valores de GAL-3, de forma lineal o dicotomizando la variable como "bajo" o "alto" en función del cut-off calculado en las curvas ROC para su asociación a fibrosis.

Además, se valorará la asociación de las siguientes variables con la presencia de fibrosis: edad en años, sexo, aclaramiento de creatinina, (FEVI), septo interventricular, diámetros diastólico y sistólico de VI, diámetro de la AI, volumen de la AI, volumen

indexado de la AI, ondas E y A, (como variables continuas); además de antecedentes coronarios, antecedentes valvulares, hábito tabáquico, enolismo, hipertensión, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, enfermedad obstructiva crónica pulmonar (EPOC) previa, ictus previo, IC, escala NYHA, como variables categóricas.

Para todo este modelo, se valorará los datos de los Odds Ratio (OR) obtenidos y el intervalo de confianza (IC 95%). Se considerará significativo un valor de $p < 0,05$. Las variables con $p < 0,15$ en el análisis univariado se incluirán en el modelo de regresión multivariado.

-Por otro lado se buscarán asociaciones por dicho análisis de regresión logística para evaluar los factores predictivos de desarrollo de FA postquirúrgica incluyendo la fibrosis y el resto de variables medidas. Además de evaluar el tiempo de estancia hospitalaria.

Objetivo 2.

Para evaluar la correlación de GAL-3 con otros biomarcadores se aplicarán correlaciones bivariadas entre los mismos, correlación de Pearson o Spearman en función del test de normalidad aplicado.

El análisis estadístico se realizará con el programa SPSS 19.0 para Windows (SPSS, INC., CHICAGO, IL, EE.UU.).

4.8 LIMITACIONES

Este estudio está limitado por su diseño observacional, y que se podía explorar sólo las asociaciones y la causalidad en el momento analizado. El protocolo de reclutamiento no garantiza la exclusión de los pacientes con FA anterior silente en el estudio. Aunque la concentración de GAL-3 se ha propuesto como marcador biológico de la fibrosis en enfermedades cardiovasculares, no podemos ignorar los posibles cambios en los valores de GAL-3 a lo largo del tiempo. Otra limitación se basa en el supuesto de que las características observadas para la orejuela son generalizadas para todo el tejido auricular.

V. ASPECTOS ÉTICOS

5.1 CONSIDERACIONES GENERALES

El estudio se lleva a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki (59ª Asamblea General en Seul, Corea, Octubre 2008). Ésta define los principios que deberán ser respetados escrupulosamente por todas las personas implicadas en esta investigación. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del HCUVA (Ver Anexo III). Todos los pacientes incluidos dieron su consentimiento informado para la participación (Ver Anexo I).

5.2 CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS

Garantizar la confidencialidad de los datos del estudio es un fin a cumplir de forma exhaustiva por lo que sólo tienen acceso a los mismos, el investigador principal, colaboradores y sus directores, el Comité Ético de Investigación Clínica y las autoridades sanitarias pertinentes.

El contenido de la hoja de recogida de datos y la base de datos, han sido protegidos de usos no permitidos por personal ajeno al estudio.

El tratamiento de los datos, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ha llevado a cabo de acuerdo a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal y el Real Decreto 1720/2007 de desarrollo de la misma.

En la hoja de recogida de datos, los pacientes son codificados por un número, por lo que no existe posibilidad de identificar al paciente a partir de los datos del estudio.

VI. PLAN DE TRABAJO

El estudio se encuentra iniciado y nos encontramos en la fase final de análisis de medición y análisis de resultados. En este estudio se encuentran implicadas diversas personas que forman parte como investigadores principales y colaboradores dentro

del grupo de investigación *Trombosis arterial y remodelado vascular, intersticial y miocárdico (grupo FFIS nº15)*. Este grupo se compone de cardiólogos clínicos, personal de enfermería, investigadores pre y postdoctorales y personal del laboratorio de análisis clínicos del HCUVA.

6.1 ETAPAS DEL ESTUDIO

Las etapas del estudio han sido y continúan de este modo:

a. Recogida de pacientes:

- Fecha realización: noviembre de 2010 a febrero de 2012.

-Descripción: identificación de los pacientes a estudio, programación de la intervención quirúrgica, extracción de muestras de tejido de la aurícula en la intervención, extracción de muestras sanguíneas preoperatorias y cumplimentación de los datos a recoger en la hoja de trabajo del estudio.

-Personal implicado:

Cardiólogo responsable del paciente: Identificación de los pacientes, intervención quirúrgica y realización de pruebas ecocardiográficas. Recogida de datos clínicos

Investigador principal: Registro y evaluación de datos. Conservación de muestras de tejido.

Personal de enfermería: extracción sanguínea de las muestras

Investigador principal de laboratorio: Conservación de muestras sanguíneas

b. Recogida de datos y creación de base de datos:

-Fecha realización: esta tarea se fue realizando entre 2014/2015.

-Personal implicado:

Investigadores principales: coordinación de base de datos por parte de los cardiólogos implicados, analistas e investigadores del grupo. Además de colaboración por parte del resto de integrantes del grupo sobretodo enfermería.

c. Análisis de muestras de tejido:

-Fecha realización: esta tarea se realizó durante el 2015.

-Personal implicado:

Investigadores principales de investigación básica: procesamiento de muestras de tejido mediante tinción y evaluación de los resultados.

d. Análisis de muestras sanguíneas:

-Fecha de realización: A partir de enero de 2016.

-Personal implicado: Personal del laboratorio de análisis clínicos como investigador del proyecto. Determinación analítica de las muestras y evaluación de resultados.

e. Análisis de datos estadísticos y proyección de resultados:

-Fecha realización: en proceso actualmente.

-Personal implicado:

Cardiólogo responsable

Investigador principal

Investigador principal de laboratorio

VII. MEDIOS DISPONIBLES

Para la realización de este estudio se ha precisado:

-Recursos quirúrgicos: ofrecidos por la colaboración del Servicio de Cardiología del HCUVA.

-Recursos Humanos: investigadores implicados del grupo de investigación anteriormente mencionado.

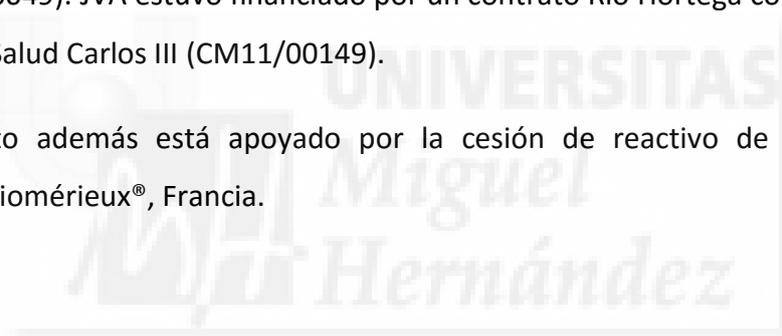
-**Recursos analíticos:** ofrecidos por el Servicio de Análisis Clínicos del HCUVA, plataforma de medición cedida por el proveedor del biomarcador a estudio (Biomérieux®, Francia.) y demás recursos propios del grupo de investigación.

-**Software informático:** se necesitará utilizar el paquete Microsoft Office y el paquete estadístico SPSS 15.0.

VIII. FINANCIACIÓN

Este trabajo fue apoyado por el Instituto de Salud Carlos III (RETIC, RD12/0042/0049) y el Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria Virgen de la Arrixaca (IMIB, Murcia, España) (los números de subvención fueron: RAICMUR_012/2014, APOYO_041/2014, RD12/0042/0049). JVA estuvo financiado por un contrato Rio Hortega concedido por el Instituto de Salud Carlos III (CM11/00149).

Este proyecto además está apoyado por la cesión de reactivo de GAL-3 por el proveedor: Biomérieux®, Francia.



IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Group SR in AFW: Independent predictors of stroke in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Neurology* 2007 Aug 7;69:546–54.
2. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby J V, et al.: Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. [Internet]. . *JAMA* 2001 May 9 [cited 2015 Oct 2];285:2370–5.
3. Benjamin EJ, Wolf PA, D’Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D: Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. [Internet]. . *Circulation* 1998 Sep 8 [cited 2016 Apr 4];98:946–52.
4. Maron BJ: Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functio. *Circulation* 2006 Apr 11;113:1807–1816.
5. Nabauer M, Gerth A, Limbourg T, Schneider S, Oeff M, Kirchhof P, et al.: The Registry of the German Competence NETwork on Atrial Fibrillation: patient characteristics and initial management. *Europace* 2009 Apr;11:423–34.
6. Kirchhof P, Bax J, Blomstrom-Lundquist C, Calkins H, Camm AJ, Cappato R, et al.: Early and comprehensive management of atrial fibrillation: executive summary of the proceedings from the 2nd AFNET-EHRA consensus conference “research perspectives in AF”. *Eur Heart J* 2009 Dec;30:2969–77c.
7. Hobbs FDR, Fitzmaurice DA, Mant J, Murray E, Jowett S, Bryan S, et al.: A randomised controlled trial and cost-effectiveness study of systematic screening (targeted and total population screening) versus routine practice for the detection of atrial fibrillation in people aged 65 and over. The SAFE study. [Internet]. . *Health Technol Assess* 2005 Oct [cited 2016 May 20];9:iii–iv, ix–x, 1–74.
8. Arribas-Leal JM, Pascual-Figal DA, Tornel-Osorio PL, Gutiérrez-García F, García-Puente del Corral JJ, Ray-López VG, et al.: [Epidemiology and new predictors of atrial fibrillation after coronary surgery]. [Internet]. . *Rev española Cardiol* 2007 Aug [cited 2016 Jan 21];60:841–7.
9. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, Ramsay J, Duke P, Mazer CD, et al.: A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA* 2004 Apr 14;291:1720–9.
10. Villareal RP, Hariharan R, Liu BC, Kar B, Lee V-V, Elayda M, et al.: Postoperative atrial fibrillation and mortality after coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 2004 Mar 3;43:742–8.
11. Asher CR, Miller DP, Grimm RA, Cosgrove DM, Chung MK: Analysis of risk factors for development of atrial fibrillation early after cardiac valvular surgery. [Internet]. . *Am J Cardiol* 1998 Oct 1 [cited 2016 Jun 3];82:892–5.
12. Creswell LL, Schuessler RB, Rosenbloom M, Cox JL: Hazards of postoperative atrial arrhythmias. [Internet]. . *Ann Thorac Surg* 1993 Sep [cited 2016 Mar 22];56:539–49.
13. Pavri BB, O’Nunain SS, Newell JB, Ruskin JN, William G: Prevalence and prognostic significance of atrial arrhythmias after orthotopic cardiac transplantation. [Internet]. . *J Am Coll Cardiol* 1995 Jun [cited 2016 Jun 3];25:1673–80.
14. Filardo G, Hamilton C, Hebel RF, Hamman B, Grayburn P: New-onset postoperative atrial

- fibrillation after isolated coronary artery bypass graft surgery and long-term survival. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2009 May;2:164–9.
15. Ishii Y, Schuessler RB, Gaynor SL, Yamada K, Fu AS, Boineau JP, et al.: Inflammation of atrium after cardiac surgery is associated with inhomogeneity of atrial conduction and atrial fibrillation. *Circulation* 2005 Jun 7;111:2881–8.
 16. Hill JA, Olson EN: Cardiac plasticity. *N Engl J Med* 2008 Mar 27;358:1370–80.
 17. Bogdanov D V: [Spherical remodeling of left atrium in hypertrophic nonobstructive cardiomyopathy]. [Internet]. . *Kardiologija* 2012 Jan [cited 2016 Jun 4];52:49–52.
 18. Spinale FG: Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiol Rev* 2007 Oct;87:1285–342.
 19. Lombardi R, Betocchi S, Losi MA, Tocchetti CG, Aversa M, Miranda M, et al.: Myocardial collagen turnover in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2003 Sep 23;108:1455–60.
 20. Vílchez JA, Hernández-Romero D, Ruiz-Espejo F, Garcia-Honrubia A, Valdés M, Martínez-Hernández P, et al.: Collagen peptides, interstitial remodelling and sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Chem Lab Med* 2011 Sep;49:1569–71.
 21. López B, González A, Díez J: Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation* 2010 Apr 13;121:1645–54.
 22. Liu F-T, Rabinovich GA: Galectins: regulators of acute and chronic inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2010 Jan;1183:158–82.
 23. Morrow DA, O'Donoghue ML: Galectin-3 in cardiovascular disease: a possible window into early myocardial fibrosis. *J Am Coll Cardiol* 2012 Oct 2;60:1257–8.
 24. Lin Y-H, Lin L-Y, Wu Y-W, Chien K-L, Lee C-M, Hsu R-B, et al.: The relationship between serum galectin-3 and serum markers of cardiac extracellular matrix turnover in heart failure patients. *Clin Chim Acta* 2009 Nov;409:96–9.
 25. Peacock WF, DiSomma S: Emergency department use of galectin-3. *Crit Pathw Cardiol* 2014 Jun;13:73–7.
 26. van Kimmenade RR, Januzzi JL, Ellinor PT, Sharma UC, Bakker JA, Low AF, et al.: Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006 Sep 19;48:1217–24.
 27. de Boer RA, Lok DJA, Jaarsma T, van der Meer P, Voors AA, Hillege HL, et al.: Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med* 2011 Feb;43:60–8.
 28. Meijers WC, Januzzi JL, DeFilippi C, Adourian AS, Shah SJ, van Veldhuisen DJ, et al.: Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term rehospitalization in heart failure: a pooled analysis of 3 clinical trials. *Am Heart J* 2014 Jun;167:853–60.
 29. Lok DJ, Lok SI, Bruggink-André de la Porte PW, Badings E, Lipsic E, van Wijngaarden J, et al.: Galectin-3 is an independent marker for ventricular remodeling and mortality in patients with chronic heart failure. *Clin Res Cardiol* 2013 Feb;102:103–10.
 30. Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, Adourian A, Muntendam P, Cohn JN: Baseline and serial measurements of galectin-3 in patients with heart failure: relationship to prognosis and effect of treatment with valsartan in the Val-HeFT. *Eur J Hear Fail* 15:511–518.

31. Bayes-Genis A, de Antonio M, Vila J, Peñafiel J, Galán A, Barallat J, et al.: Head-to-head comparison of 2 myocardial fibrosis biomarkers for long-term heart failure risk stratification: ST2 versus galectin-3. *J Am Coll Cardiol* 2014 Jan 21;63:158–66.
32. Boldt A, Wetzel U, Lauschke J, Weigl J, Gummert J, Hindricks G, et al.: Fibrosis in left atrial tissue of patients with atrial fibrillation with and without underlying mitral valve disease. [Internet]. *Heart* 2004 Apr [cited 2016 Apr 25];90:400–5.
33. Luo MH, Li YS, Yang KP: Fibrosis of collagen I and remodeling of connexin 43 in atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Cardiology* 2007 Jan;107:248–53.
34. Xu J, Cui G, Esmailian F, Plunkett M, Marelli D, Ardehali A, et al.: Atrial extracellular matrix remodeling and the maintenance of atrial fibrillation. *Circulation* 2004 Jan 27;109:363–8.
35. Ho JE, Yin X, Levy D, Vasani RS, Magnani JW, Ellinor PT, et al.: Galectin 3 and incident atrial fibrillation in the community. *Am Heart J* 2014 May;167:729–34.e1.
36. Yalcin MU, Gurses KM, Kocyigit D, Canpinar H, Canpolat U, Evranos B, et al.: The Association of Serum Galectin-3 Levels with Atrial Electrical and Structural Remodeling. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2015 Jun;26:635–40.
37. Gurses KM, Yalcin MU, Kocyigit D, Canpinar H, Evranos B, Yorgun H, et al.: Effects of persistent atrial fibrillation on serum galectin-3 levels. *Am J Cardiol* 2015 Mar 1;115:647–51.
38. Kornej J, Schmidl J, Ueberham L, John S, Daneschnejad S, Dinov B, et al.: Galectin-3 in patients with atrial fibrillation undergoing radiofrequency catheter ablation. *PLoS One* 2015 Jan;10:e0123574.
39. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al.: Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006 Mar;7:79–108.
40. Gehan EA, George SL: Estimation of human body surface area from height and weight. [Internet]. *Cancer Chemother Rep* 1970 Aug [cited 2016 Jun 5];54:225–35.

ANEXO I

AREA 1 DE SALUD (MURCIA-OESTE)

MODELO DE HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
ÁREA 1 DE SALUD (MURCIA_OESTE)



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: BIOMARCADORES Y SU ASOCIACIÓN A LA PRESENCIA DE FIBROSIS AURICULAR EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDIACA

INVESTIGADORES PRINCIPALES CENTRO: Esteban Orenes Piñero, Francisco Marín Ortuño, Diana Hernández Romero, Juan Antonio Vílchez Aguilera. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

1. INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y, en su caso, por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, de acuerdo a la legislación vigente.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Los pacientes candidatos a formar parte del presente estudio, son aquellos que van a ser intervenidos de cirugía de revascularización coronaria (cirugía de bypass cardiaco) en el Servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Usted puede formar parte de él si se extrae muestra antes de la operación.

Previo a la cirugía, cuando se le extraiga la analítica del preoperatorio correspondiente, se obtendrá una muestra de sangre que corresponde a una cantidad aproximada que no pasa las dos cucharas soperas (10 ml), para congelar. Una vez en la operación, se obtendrá un corte de la orejuela derecha dentro de la misma técnica quirúrgica. Este proceso no supone ningún cambio en el desarrollo normal de su estancia en el hospital. No se requerirán visitas de revisión.

Los cambios en la función y la estructura de la aurícula se conocen como remodelado auricular. Se ha planteado la hipótesis de que el remodelado en el tejido auricular sea resultado de la presencia de patologías subyacentes como la

hipertensión, la diabetes y la enfermedad isquémica del corazón, que a su vez puede conducir a la aparición de fibrilación auricular (FA). Por otra parte, hay datos emergentes que apoyan una asociación significativa entre la fibrosis, la inflamación, el estrés oxidativo y el desarrollo, la recurrencia y la perpetuación de la FA. Por otra parte, la aparición de FA es un fenómeno común en pacientes que se someten a cirugía cardíaca.

La galectina-3 (GAL3) es un biomarcador que está directamente relacionado como mediador de las vías profibróticas y como un potencial biomarcador de remodelado cardíaco adverso. Se sabe que la GAL3 es expresada por los macrófagos activados, y está relacionada con las áreas de fibrosis, lo que sugiere un papel activo en la modulación de la matriz extracelular. Por tanto, el papel de la GAL3 en la insuficiencia cardíaca y su relación con la fibrosis ha sido ampliamente estudiado mientras que dicho papel relacionado a la presencia de fibrosis auricular y su relación con FA no parece tan claro, siendo necesario realizar estudios más en profundidad. Así, nuestro objetivo principal recae en evaluar la relación entre la concentración de GAL3 y la aparición de FA en pacientes que se someten a cirugía cardíaca, así como su asociación con el remodelado auricular y la presencia de fibrosis corroborada por los datos obtenidos de una biopsia de tejido auricular extraída durante intervención quirúrgica.

No se alterará el curso normal de la cirugía ni el postoperatorio.

La duración del estudio es de 10 meses para la recogida de datos y admisión de pacientes. Para usted, supone el tiempo que esté ingresado en el hospital.

Es responsabilidad del paciente cumplir el tratamiento recomendado y seguir las indicaciones médicas tras la operación. Debe informarnos de los reingresos que haya tenido en otros centros y el motivo de los mismos o de la existencia de eventos adversos (complicaciones) tras ser dado de alta de nuestro centro.

4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DEL PACIENTE (Cuando proceda)

Como este estudio conlleva la obtención de muestras biológicas del paciente, la **Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, establece en su artículo 58 que la obtención de muestras biológicas con fines de investigación biomédica regula que dicha obtención podrá realizarse únicamente cuando se haya obtenido previamente el consentimiento escrito del sujeto fuente y previa información de las consecuencias y los riesgos que pueda suponer tal obtención (de la muestra) para la salud.**

La muestra requerida será única y se conseguirá mediante punción antecubital en quirófano. El lugar de realización del análisis y destino de la muestra al término de la investigación será el laboratorio de Análisis Clínicos ubicado en el Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca". Posteriormente, se conservará una muestra congelada de su sangre por si fuera necesario un análisis posterior. Las muestras

biológicas recogidas puedan ser depositadas en un biobanco adscrito a la Consejería de Sanidad de la Región de Murcia

La muestra de tejido se analizará en el LAIB (Laboratorio de investigación Biosanitaria), dentro de las instalaciones pertenecientes al grupo de investigación *Trombosis arterial y remodelado vascular, intersticial y miocárdico (grupo FFIS nº15)*.

5. CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio en caso de urgencia médica o requerimiento legal. En caso de urgencia médica acudirá al Servicio de Urgencias del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, donde informará a sus médicos que está participando en este estudio y que contacten al Servicio de Cardiología (teléfono directo 968369445-968369514).

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Clínica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones .

6. REVOCACIÓN Y DESISTIMIENTO

Se le informa igualmente que el presente consentimiento puede ser revocado, totalmente o para determinados fines, en cualquier momento. Cuando la revocación se refiera a cualquier uso de la muestra, se procederá a su inmediata destrucción, sin perjuicio de la conservación de los datos resultantes de las investigaciones que se hubiesen realizado con carácter previo.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas a cualquiera de los investigadores responsables y en cualquier momento durante su participación en él.

Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

7. COMPENSACIÓN ECONÓMICA

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio el promotor del mismo ha firmado un contrato con el centro donde se va a realizar y con el médico del estudio.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto. No será compensado económicamente ya que el estudio no altera el desarrollo normal de su proceso clínico.

8. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: BIOMARCADORES Y SU ASOCIACIÓN A LA PRESENCIA DE FIBROSIS AURICULAR EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDIACA

INVESTIGADOR PRINCIPAL Y CENTRO: Esteban Orenes Piñero, Francisco Marín Ortuño, Diana Hernández Romero, Juan Antonio Vílchez Aguilera. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Yo (nombre y apellidos)

.....

- 1) He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- 2) He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- 3) He recibido suficiente información sobre el estudio.
- 4) He comprendido adecuadamente la finalidad del estudio
- 5) He aclarado o podido aclarar todas las dudas planteadas

He hablado con:

.....

(nombre del investigador)

- a) Comprendo que mi participación es voluntaria.
- b) Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - a. Cuando quiera
 - b. Sin tener que dar explicaciones.
 - c. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

En consecuencia:

- 1) Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.
- 2) Accedo a que las muestras de sangre o tejidos obtenidas para el estudio puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad o fármacos del estudio no previstos en el protocolo actual (quedando excluidos los análisis genéticos, siempre y cuando no formen parte de los objetivos del estudio):
SI NO

- 3) Recibo una copia de este documento.

Nombre, firma del paciente y fecha Nombre, firma del investigador y fecha

Revocación:

Ejerzo libremente mi derecho a revocar el consentimiento otorgado con anterioridad.

Nombre, firma del paciente y fecha



ANEXO II

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

N°	1ª MUESTRA	2ª MUESTRA
----	------------	------------

PROTOCOLO FA POSTQUIRÚRGICA

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Valvulopatía > ligera
- FA previa
- Cirugía sin extracorpórea
- Inestabilidad hemodinámica
- Enf. onco, infecc., reumática, hepática o renal (CICr \leq 60)

CIRUGÍA

ANTECEDENTES

Familiares : 0 1

HTA: 0 1 DLP 0 1 DM 0 1 TIPO 1 2 Insulina 0 1 ADOS 0 1

Tabaquismo: 0 1 2 Etilismo: 0 1 2

ICC 0 1 NYHA 1 2 3 4 CICr:

EPOC: 0 1 SAOS : 0 1 ACV previo: Isq/ Hemorrágico: 0 1

Arteriopatía: 0 1 Tiroides: 0 1 2 ASA: 1 2 3 4

E. Aditivo: E. Logístico: P. Aditivo: P. Logístico:

DATOS CLÍNICOS

Peso: Talla: Sexo: IMC: SC:

TAS: TAD: FC:

A. Inestable 0 1 A. Estable 0 1 IAMQ 0 1 IAMnQ 0 1

ACTP/STENT:

DIAGNÓSTICO

ECGfc: ECGPR: BRD: 0 1 BRI: 0 1

Cateterismo Fecha: ... Lesiones angiográficas: TCI: 0 1

EcoTSA: 0 1

FEV1: FVC:

ECOCARDIOGRAFÍA

FEVI: Septo: TAPSE: DDVI: DSVI: D.AI:
 Vol.AI: Vol. Índice AI: Onda E: Onda A: E/A: AVA:
 G.Max: G.Medio: IAoligera: 0 1 HTP: 0 1 2 3

CIRUGÍA

Revascularización: 0 1 AMI: 0 1 2 ARI: 0 1 2 Safena:
 CEC: Clamp: Cardioplejia: 0 1 2 3 4 5 Tipo Cardio: 1 2
 Tª: BCIA: 0 1
 Aminas: 0 1 Adrena: 0 1 NA: 0 1 Dobuta: 0 1 Levosimendán: 0 1
 Milrinona 0 1 Desfibrilación: Antiaritmicos: 0 1 Válvula: 1 2
 C. hemáties: Plaquetas: PFC: Fibrinógeno: Prothomplex:

EVOLUCION

IAM periQ: 0 1 Sangrado +24H: Reintervención: 0 1
 Monitorización en UCI.....Inicio.....Fin.....
 Monitorización Holter.....Inicio.....Fin.....
 Tiempo monitorización: 0 1 2
 ACxFA: 0 1 ACxFA UCI: 0 1 FA no sostenida: Duración: 0 1 2 3 4
 FC previa: FC media: Terapia: 0 1 Terapia motivo: 0 1 2 3 4
 Duración hasta terapia: 0 1 2 3 Fármacos FA: 1 2 3 4 CVE: 0 1
 EstanciaUCI: Estancia planta: Exitus: 0 1

ANEXO III

CEIC
MURCIA 2013

Investigador Principal
"Módulo de la Arritmias"
Centro de Estudios e Investigación "Miguel
Alvarez" Murcia

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 29/07/2013, actuando el día 07/13 ha evaluado a propuesta del investigador **Dr. Esteban Orenes Piñero** el siguiente estudio:

Título: Papel de los microRNAs en el desarrollo de la fibrilación auricular. Análisis a partir de muestras de fibrilación auricular tras cirugía cardíaca

1º. Considera que

- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los investigadores y de medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DECRETAMEN FAVORABLE**.

3º. Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca por el Dr. Esteban Orenes Piñero como investigador principal.

Lo que firmo en Murcia, a 29 de julio de 2013

Fco:

Esteban Orenes Piñero
Hospital Virgen de la Arrixaca
Centro de Estudios e Investigación "Miguel
Alvarez"

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca