

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



**Departamento de Medicina**

**FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**

Programa de Doctorado: 3139 Medicina

**Análisis de Marcadores Moleculares en la  
Insuficiencia Valvular Pulmonar Grave en  
Adultos con Cardiopatías Congénitas.**

TESIS DOCTORAL

Autora: María Rodríguez Serrano, Médico Especialista en Cardiología

Directores: Dres. Joaquín Rueda Soriano y Ana M. Osa Sáez

Tutor: Dr. Luis Martínez-Dolz

Valencia, Diciembre 2020



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



**Departamento de Medicina  
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**

Programa de Doctorado: 3139 Medicina

**Análisis de Marcadores Moleculares en la Insuficiencia  
Valvular Pulmonar Grave en Adultos con Cardiopatías  
Congénitas.**

**TESIS DOCTORAL**

Autora: María Rodríguez Serrano. Licenciada en Medicina y Cirugía.  
Especialista en Cardiología.

Directores:

- Dr. Joaquín Rueda Soriano. Doctor en Medicina. Especialista en Cardiología. Coordinador de la Unidad de Cadiopatías Congénitas del Adulto del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia.
- Dra. Ana M. Osa Sáez. Doctora en Medicina. Especialista en Cardiología. Jefa de Sección del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia.

Tutor: Dr. Luis Martínez-Dolz. Doctor en Medicina. Especialista en Cardiología. Jefe del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia.

Valencia, Diciembre 2020



D. **JOAQUÍN RUEDA SORIANO**, Doctor en Medicina, Médico Adjunto y responsable de la Unidad de Cardiopatías Congénitas del Adulto del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia.

Dña. **ANA M. OSA SÁEZ**, Doctora en Medicina y Jefa de Sección de la Unidad de Imagen Cardíaca del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia.

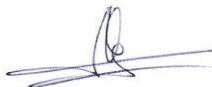
D. **LUIS MARTÍNEZ DOLZ**, Doctor en Medicina, profesor asociado del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia y Jefe de Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia.

### **CERTIFICAN**

Que el trabajo titulado: “Análisis de marcadores moleculares en la insuficiencia valvular pulmonar grave en adultos con cardiopatías congénitas”, realizado por **MARÍA RODRÍGUEZ SERRANO**, reúne los requisitos necesarios para su presentación y defensa para optar al título de Doctora en Medicina.

Y para que conste, expedimos el presente certificado en Valencia a 9 de Diciembre de 2020.

Fdo:



Dr. Joaquín Rueda Soriano

Dra. Ana M Osa Sáez

Dr. Luis Martínez Dolz



## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar gracias a mis directores de tesis. A Ximo por su motivación y por inculcarme el interés por las cardiopatías congénitas. A Ana por su análisis crítico y por compartir sus amplios conocimientos en ecocardiografía. Vuestra ayuda, disponibilidad y capacidad de trabajo han sido fundamentales para poder finalizar este proyecto. Gracias por confiar en mí y por apoyarme tanto a nivel profesional como personal.

Al Dr. Luis Martínez-Dolz, tutor de esta tesis. Gracias por la disponibilidad y la confianza depositada en mí.

A la Dra. Pilar D'Ocon, por la implicación que ha tenido en este proyecto. Sus conocimientos científicos han sido imprescindibles para llevar a cabo un trabajo fundamentado en investigación básica y alejado en parte de mi especialidad. Gracias por la amabilidad y por las aportaciones en el análisis y discusión de los resultados.

A Fermí Montó por el soporte técnico y científico con el análisis de las muestras. Ha sido indispensable poder contar con su ayuda en el laboratorio.

A Fran, que inició este proyecto y me incorporó a él desde el principio. Gracias por tu generosidad y compañerismo. También a Jaime, por su ayuda en la revisión final del trabajo.

A mis compañeros de los servicios de Cardiología del Hospital La Fe y del Hospital de Manises por haber ayudado a mi desarrollo profesional.

A mi amiga Cristina que siempre está ahí, y que ha supuesto un estímulo para que, como ella, finalice este trabajo.

A mis padres por estar y apoyarme siempre, por su amor incondicional y por la educación que me han dado.

A mi hermana, por ser mi mejor amiga, por compartir charlas, risas y confidencias.

A Mariano, mi compañero de vida. Tu apoyo es imprescindible para mí y también lo ha sido en este proyecto. Gracias por hacerme feliz.

# ÍNDICE

## LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1. Cardiopatías congénitas: situación actual .....	3
2. Enfermedades obstructivas del tracto de salida de ventrículo derecho (VD) .....	4
2.1 Estenosis pulmonar valvular .....	5
2.2 Atresia pulmonar .....	6
2.3 Tetralogía de Fallot .....	7
3. Insuficiencia pulmonar (IP) .....	11
3.1 Etiología .....	11
3.2 Fisiopatología de la IP .....	12
3.3 Consecuencias de la IP .....	14
3.3.1 Insuficiencia cardiaca e intolerancia al ejercicio .....	14
3.3.2 Arritmias y riesgo de muerte súbita .....	15
3.4 Evaluación de pacientes con IP .....	18
3.4.1 Valoración clínica .....	18
3.4.2 Valoración por técnicas de imagen .....	20
3.4.2.1 Ecocardiografía .....	20
3.4.2.2 Resonancia cardiaca .....	32
3.4.2.3 Cateterismo cardiaco .....	37
3.4.2.4 Otras pruebas de imagen .....	38
4. Recambio valvular pulmonar (RVP) .....	38
4.1 Indicaciones y momento quirúrgico .....	39
4.2 Opciones de recambio valvular pulmonar .....	43
4.3 Repercusión de recambio valvular pulmonar .....	46
5. Biomarcadores en la insuficiencia pulmonar .....	50
6. Receptores adrenérgicos y quinasas moduladoras (GRK) como biomarcadores en patología cardiovascular .....	52
6.1 Receptores adrenérgicos y quinasas moduladoras de su actividad	
6.1.1 Receptores adrenérgicos o adrenoceptores (AR) .....	53
6.1.2 Regulación de los receptores adrenérgicos: las GRK .....	54
6.2 Relación de los AR y GRK con la insuficiencia cardiaca .....	58

6.2.1	Adrenoceptores $\beta$ (AR- $\beta$ ) .....	58
6.2.2	GRK .....	60
6.3	AR y GRK en linfocitos de sangre periférica como biomarcadores en patología cardiovascular .....	64
<b>II.</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>67</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>71</b>
<b>IV.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>75</b>
1.	Diseño del estudio .....	77
2.	Población del estudio .....	77
3.	Protocolo del estudio .....	78
4.	Material y variables analizadas .....	79
4.1	Variables clínicas y funcionales.....	79
4.2	Técnicas de imagen .....	83
4.2.1	Ecocardiograma .....	83
4.2.2	Resonancia magnética .....	86
4.3	Análisis de la expresión de AR- $\beta$ y GRK en la fracción monolinfocitaria circulante (FMLC).....	90
5.	Análisis estadístico .....	98
6.	Consideraciones éticas y consentimiento informado.....	100
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>103</b>
1.	Características de la población de estudio .....	105
1.1	Inclusión de pacientes .....	105
1.2	Características de la población de estudio .....	105
2.	Análisis comparativo de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con IP .....	110
2.1	Características de los grupos control e insuficiencia cardiaca .....	110
2.2	Comparación de los niveles de AR y GRK .....	113
3.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con IP en relación con variables clínicas y de afectación de VD .....	119

4.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en los pacientes con indicación de RVP vs. sin indicación de RVP .....	130
4.1	Descripción del subgrupo de pacientes con indicación de RVP .....	130
4.2	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en el grupo de pacientes con indicación de RVP vs. sin indicación de RVP ...	134
5.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en el subgrupo de pacientes con IP grave intervenidos de RVP tras la cirugía .....	136
5.1	Cambios en las variables clínicas y parámetros de tamaño y función del VD tras la intervención de RVP .....	136
5.2	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en el grupo de pacientes intervenidos en la evolución de RVP .....	137
5.2.1	Comparación del grupo de pacientes con IP intervenidos de RVP y el grupo control.....	137
5.2.2	Comparación de la expresión génica de AR y GRK tras el RVP.....	142
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>149</b>
1.	Características de la población de estudio .....	153
2.	Análisis comparativo de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con IP .....	157
3.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con IP en relación con variables clínicas y de afectación de VD .....	163
4.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en los pacientes con indicación de RVP vs. sin indicación de RVP .....	165
5.	Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en el subgrupo de pacientes con IP grave intervenidos de RVP tras la cirugía .....	166
<b>VII.</b>	<b>LIMITACIONES .....</b>	<b>171</b>
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>175</b>
<b>IX.</b>	<b>FUTURAS INVESTIGACIONES .....</b>	<b>179</b>

<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>183</b>
<b>XI.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>206</b>

## **LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS**

AHA: American Heart Association

AD: aurícula derecha

ADN: ácido desoxirribonucleico

AR: adrenoceptor o receptor adrenérgico

AR- $\beta$ 1: adrenoceptor del subtipo  $\beta$ 1

AR- $\beta$ 2: adrenoceptor del subtipo  $\beta$ 2

ARN: ácido ribonucleico

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ATD: área telediastólica

ATS: área telesistólica

CC: cardiopatías congénitas

CF NYHA: clase funcional de la New York Heart Association

CIA: comunicación interauricular o defecto del septo interauricular

CIV: comunicación interventricular o defecto del septo interventricular

DAI: desfibrilador automático implantable

DTI: doppler tisular

ECG: electrocardiograma

EP: estenosis de la válvula pulmonar

FAC: fracción de acortamiento de área

FEVD: fracción de eyección del ventrículo derecho

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo

FMLC: fracción monolinfocitaria circulante

FR: fracción de regurgitación

GRK: proteína G acopladas al receptor kinasa

IC: insuficiencia cardiaca

IECA: inhibidor de enzima convertidora de angiotensina

IP: insuficiencia valvular pulmonar

IT: insuficiencia tricúspide  
MS: muerte súbita  
NT-ProBNP: fracción aminoterminal del propéptido natriurético tipo B  
OTSVD: obstrucción del tracto de salida del ventrículo derecho  
PCR: reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real  
RMC: resonancia magnética cardiaca  
RT: transcripción reversa  
RTG: realce tardío de gadolinio  
RVP: recambio valvular pulmonar  
TAPSE: desplazamiento longitudinal sistólico del anillo tricuspídeo  
TF: tetralogía de Fallot  
TSVD: tracto de salida de ventrículo derecho  
TVS: taquicardia ventricular sostenida  
VD: ventrículo derecho  
VI: ventrículo izquierdo  
VO<sub>2</sub>: consumo máximo de oxígeno  
VTDVDi: volumen telediastólico de ventrículo derecho indexado  
VTDVIi: volumen telediastólico de ventrículo izquierdo indexado  
VTSVDi: volumen telesistólico de ventrículo derecho indexado  
VTSVIi: volumen telesistólico de ventrículo izquierdo indexado



# I. INTRODUCCIÓN

---



## 1. CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS: SITUACIÓN ACTUAL

Las cardiopatías congénitas (CC) son las malformaciones congénitas más frecuentes y ocurren aproximadamente en el 0,8% de los recién nacidos<sup>1</sup>. Los avances en las técnicas diagnósticas y terapéuticas han aumentado la supervivencia de los pacientes con CC. Esta notable mejoría en su supervivencia ha conducido a un número creciente de pacientes adultos con CC estimándose su prevalencia total en adultos en 3.000 casos por millón de habitantes<sup>2</sup>. Esto supone un aumento de las CC de moderada y alta complejidad que requieren seguimiento en las consultas<sup>3,4</sup>, como se muestra en la *figura 1.1*.

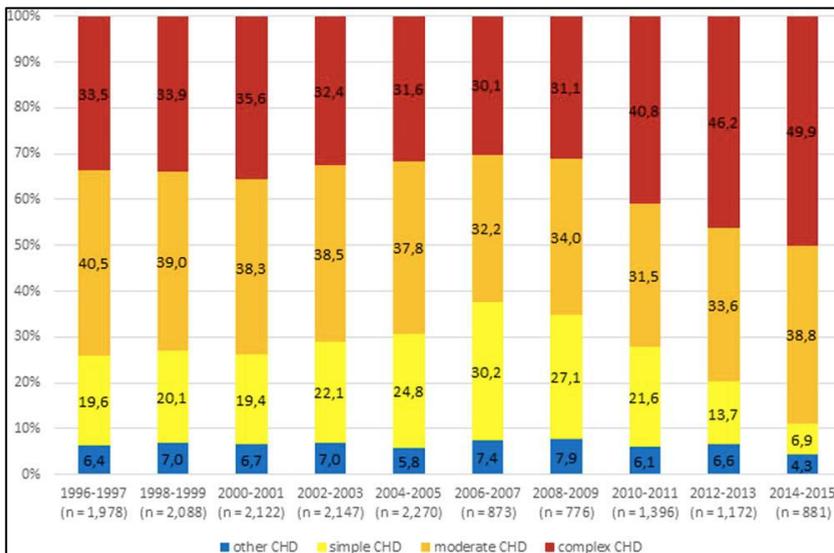


Figura 1.1. Cambios en la prevalencia de las cardiopatías congénitas que requieren seguimiento según su complejidad. Datos del registro alemán, adaptada de Pfitzer et al.<sup>3</sup>.

El seguimiento y manejo de estos pacientes muestran características diferenciales con respecto a la cardiología convencional. Las complicaciones evolutivas que presentan, en la mayoría de los casos postquirúrgicas, no son equiparables a los problemas que se plantean en el resto de los pacientes adultos con cardiopatías adquiridas. Por este motivo, existen aspectos controvertidos en la toma de decisiones de pacientes adultos con CC. En los últimos años, las sociedades científicas más importantes han publicado recomendaciones generales para el seguimiento de estos pacientes, incidiendo todas ellas en la necesidad de la creación de secciones y centros especializados en esta materia para poder atender adecuadamente la demanda que genera esta población especial<sup>5-8</sup>.

En el contexto de las CC del adulto, las enfermedades obstructivas del tracto de salida del ventrículo derecho (TSVD) suponen uno de los principales motivos de seguimiento<sup>9</sup> ya que sufren secuelas de la cirugía a la que son sometidos, siendo la más frecuente la presencia de la insuficiencia valvular pulmonar (IP)<sup>7</sup>.

## **2. ENFERMEDADES OBSTRUCTIVAS DEL TRACTO DE SALIDA DEL VENTRÍCULO DERECHO**

El ventrículo derecho (VD) es una estructura tripartita, con una cámara de entrada que incluye el aparato valvular tricúspide, un cámara apical que engloba la porción trabeculada que funciona como una esponja absorbente, y un tracto de salida que consiste en un infundíbulo muscular que separa la válvula tricúspide de la válvula pulmonar<sup>10</sup>.

La obstrucción del TSVD (OTSVD) puede ser el resultado de anomalías en distintas regiones: la zona media del VD, el infundíbulo, la válvula pulmonar, la región supravalvular y/o el tronco arterial pulmonar y sus ramas.

## **2.1 Estenosis pulmonar valvular**

Existen tres tipos de estenosis de la válvula pulmonar (EP):

1. EP típica con apertura valvular en forma de cúpula, donde los velos tienen movilidad, pero su apertura está limitada. Suele asociarse a dilatación del tronco arterial pulmonar.
2. EP secundaria a una válvula displásica, engrosada, con poca movilidad y fusión comisural. Puede asociar un anillo y un TSVD reducido.
3. EP sobre una válvula unicúspide o bicúspide, que suele asociarse con más frecuencia a la Tetralogía de Fallot (TF).

La EP valvular aislada es uno de los defectos cardíacos congénitos más comunes, se estima que ocurre en el 7%-12% de los niños nacidos con CC<sup>7,11</sup> y supone el 80-90% de todas las lesiones congénitas del TSVD.

La necesidad de intervención quirúrgica o percutánea depende del grado de obstrucción, función del VD y presencia de sintomatología. Los pacientes con EP aislada requieren seguimiento periódico, valorando la progresión de la estenosis, así como la presencia de hipertrofia de VD y la aparición de síntomas (arritmias, insuficiencia cardíaca).

La evolución de los pacientes depende del grado de obstrucción. Los pacientes con EP leve tienen una evolución benigna y la intervención no

suele ser necesaria, mientras que los pacientes con EP grave suelen requerir intervención en la infancia con buen pronóstico en la edad adulta<sup>12</sup>. Los pacientes con EP moderada tienen una evolución variable que conlleva en algunos casos intervención.

En el caso de los pacientes con EP valvular aislada, la valvuloplastia con balón es el tratamiento de elección. La valvulotomía quirúrgica actualmente sólo se realiza si hay afectación supraválvular o subválvular que no pueda ser corregida por valvuloplastia. Los pacientes con una válvula displásica generalmente requieren una valvectomía parcial o total y un reemplazo valvular, y puede ser necesario asociar el implante de un parche transanular para ampliar el anillo y/o tronco pulmonar si hay hipoplasia de alguno de ellos. La consecuencia fundamental tras la intervención de la EP es la aparición de IP como secuela de la cirugía o del tratamiento percutáneo<sup>12</sup>.

## **2.2 Atresia pulmonar**

La atresia pulmonar con septo ventricular intacto es una lesión cardíaca congénita rara que se asocia a diversos grados de hipoplasia del VD e hipoplasia de la válvula tricúspide. Su intervención en la infancia es compleja. En ocasiones presentan fisiología univentricular que requiere una reparación tipo Fontan o, incluso trasplante. En otros pacientes es posible una reparación biventricular (homoinjertos, conductos, parches transanulares) con o sin técnica de Glenn asociada. Estos pacientes pueden presentar IP en la evolución, aunque generalmente con VD más restrictivos.

## 2.3 Tetralogía de Fallot

La Tetralogía de Fallot es la CC cianótica más frecuente, suponiendo el 10% de los defectos cardiacos congénitos<sup>11</sup> con una incidencia de 32,6 por 100.000 nacidos vivos<sup>13</sup>.

En su definición se incluye: estenosis pulmonar infundibular, defecto del septo interventricular (CIV), desviación hacia la derecha de la aorta con acabalgamiento sobre el septo ventricular e hipertrofia del VD<sup>11</sup>. La característica principal de esta patología es la desviación anterocefálica de la porción de salida del septo interventricular junto con la hipertrofia de las trabéculas septoparietales. Esta mala alineación septal produce un defecto del mismo provocando que la aorta se acabalgue sobre el VD (*figura 1.2*). Los pacientes con TF pueden asociar otras lesiones como estenosis de las ramas pulmonares, hipoplasia del tronco pulmonar, arco aórtico derecho o un defecto del septo interauricular (CIA).

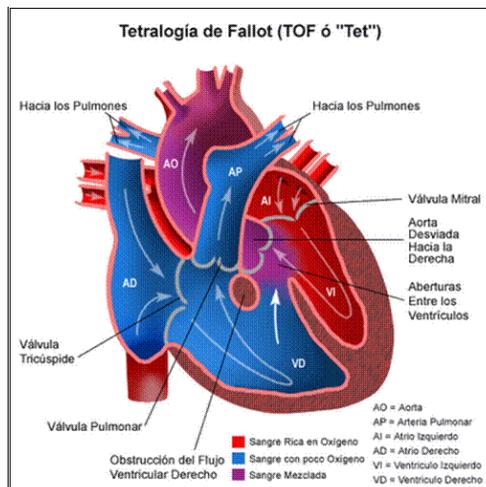


Figura 1.2. Esquema de las alteraciones cardíacas de la Tetralogía de Fallot.

La reparación quirúrgica precoz ha mejorado el pronóstico de los pacientes. Actualmente, los pacientes intervenidos a edades tempranas presentan una supervivencia a los 30 años en torno al 90%<sup>14</sup>. Esto supone un aumento anual del número de pacientes con TF reparada, por lo que en muchas comunidades los supervivientes adultos superan en número a los niños con TF<sup>13</sup>. La técnica quirúrgica usada en esta cardiopatía ha evolucionado durante las últimas décadas. Inicialmente se realizaba una cirugía paliativa por medio de las fístulas de Blalock-Taussig, anastomosis entre la arteria subclavia y la rama pulmonar derecha. Posteriormente se comenzó a realizar cirugía reparativa por etapas, primero paliación a través de fístulas sistémico-pulmonares y a continuación la reparación intracardiaca. Y, en las dos últimas décadas, se lleva a cabo un abordaje de reparación completa a edades tempranas<sup>14</sup>.

Con respecto a la reparación del componente del TSVD, las técnicas quirúrgicas utilizadas han ido evolucionando desde la realización de una ventriculotomía derecha extensa y colocación de un parche transanular para tratar la OTSVD (*figura 1.3A*), a los abordajes transauricular y transpulmonar, cuyo objetivo es preservar el anillo de la válvula pulmonar y, siempre que sea posible, la válvula pulmonar, reduciendo al mínimo la formación de cicatrices ventriculares<sup>15</sup> (*figura 1.3B*).

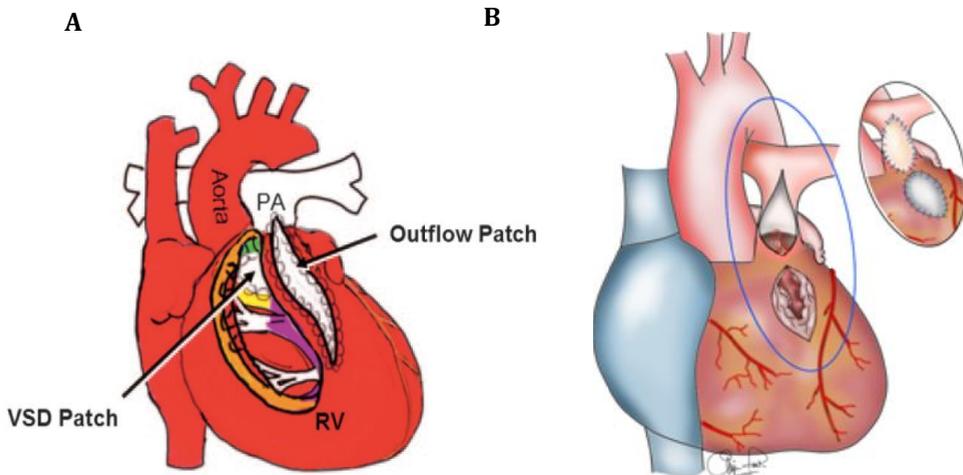


Figura 1.3. A. Corrección quirúrgica con parche transanular. Adaptada de Bashore et al.<sup>11</sup>. B Corrección quirúrgica con acceso transpulmonar con preservación de la válvula. Adaptada de Boni et al.<sup>16</sup>.

A pesar de los avances quirúrgicos, los pacientes intervenidos de TF precisan un seguimiento periódico debido a la alta incidencia de complicaciones evolutivas. La disfunción del TSVD es habitual, siendo la IP la complicación más frecuente, sobre todo en los pacientes tratados con parche transanular. Además, debido al resto de malformaciones que asocia la TF, pueden aparecer otras complicaciones como estenosis de las ramas pulmonares, defectos de los septos interventricular e interauricular, regurgitación tricúspide, dilatación y disfunción del VD, dilatación aórtica, regurgitación aórtica y disfunción del ventrículo izquierdo (VI) como muestra la *tabla 1.1*<sup>13</sup>.

Tabla 1.1. Anormalidades estructurales y funcionales de la TF reparada.

<b>Anomalías estructurales</b>	<b>Anomalías funcionales</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>Inherentes a la reparación:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Resección parcial o total de VP</li> <li>- Cicatriz de infundibulotomía</li> <li>- Resección de bandas musculares del VD o infundíbulo</li> <li>- Cicatriz de atriotomía</li> <li>- Parche de cierre de CIV</li> </ul> </li> <li>➤ <i>Lesiones residuales/recurrentes:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Obstrucción del TSVD</li> <li>- Estenosis del tronco o ramas pulmonares.</li> <li>- CIV residual</li> <li>- CIA residual</li> </ul> </li> <li>➤ <i>Lesiones adquiridas:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alteraciones de la válvula tricúspide</li> <li>- Aneurismas del TSVD</li> <li>- Fibrosis del VD</li> </ul> </li> <li>➤ <i>Anomalías asociadas:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dilatación de aorta.</li> <li>- Otras CC asociadas.</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>Sobrecarga de volumen de VD:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia pulmonar</li> <li>- Insuficiencia tricúspide</li> <li>- Cortocircuitos izquierda-derecha (CIV, CIA, colaterales sistémico-pulmonares)</li> </ul> </li> <li>➤ <i>Sobrecarga de presión de VD:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Estenosis TSVD o arteria/ramas pulmonares.</li> <li>- Enfermedad vascular pulmonar</li> <li>- Hipertensión pulmonar secundaria a disfunción diastólica del VI.</li> </ul> </li> <li>➤ <i>Disfunción sistólica y diastólica de VD.</i></li> <li>➤ <i>Disfunción de VI.</i></li> <li>➤ <i>Insuficiencia aórtica.</i></li> <li>➤ <i>Arritmias.</i></li> <li>➤ <i>Disincronía ventricular.</i></li> <li>➤ <i>Otras comorbilidades.</i></li> </ul>

- *Avances diagnósticos y terapéuticos han aumentado la supervivencia de pacientes con CC.*
- *Las enfermedades obstructivas del TSVD, entre ellas la EP y la TF, son de las CC más frecuentes.*
- *En su evolución presentarán complicaciones, siendo la IP la secuela residual más frecuente tras la intervención realizada en la infancia.*

### 3. INSUFICIENCIA VALVULAR PULMONAR

La IP es muy frecuente en la evolución de los pacientes intervenidos de enfermedades obstructivas del TSVD. Por ello, es uno de los motivos de seguimiento más frecuente en las consultas de CC del adulto. Su importancia no radica únicamente en su frecuencia, sino que, además, a largo plazo conlleva una serie de complicaciones que condiciona la situación clínica y el pronóstico de los pacientes. Inicialmente es bien tolerada<sup>17</sup>, pero de forma crónica provoca una sobrecarga de volumen sobre el VD que conduce a una dilatación y disfunción progresiva del mismo y, con ello, a una reducción de la capacidad de ejercicio y a un aumento del riesgo de arritmias y de muerte súbita cardíaca (MS)<sup>18</sup>, condicionando el pronóstico en estos pacientes<sup>17</sup>.

#### 3.1 Etiología

Las CC que asocian OTSVD precisan en muchas ocasiones de una intervención en la infancia. La necesidad de esta intervención dependerá de la severidad de la obstrucción, la presencia de sintomatología y las lesiones asociadas<sup>5</sup>. Durante años, la intervención sobre estas anomalías suponía la ampliación del TSVD mediante el implante de un parche transanular o

infundibulectomía agresiva junto con valvulotomía o reemplazo de la válvula pulmonar<sup>19</sup>. Aunque la válvula pulmonar a menudo es relativamente normal, la necesidad de una resección agresiva para aliviar la OTSVD implica un daño sobre esta válvula con la aparición de IP. Así, tras la intervención, ya sea quirúrgica o percutánea, es muy frecuente que aparezcan grados variables de IP y algunos de los pacientes requerirán actuación sobre la válvula en el futuro<sup>17</sup>.

### **3.2 Fisiopatología de la insuficiencia pulmonar**

Aunque existen algunas analogías con la insuficiencia aórtica, la fisiopatología de la IP grave es diferente<sup>17,20</sup>. El flujo pulmonar es capaz de mantenerse de forma indirecta gracias al trabajo del corazón izquierdo, a través del retorno venoso sistémico y de la contracción de la aurícula derecha (AD). Por otro lado, la circulación pulmonar difiere de la circulación sistémica por ser de baja resistencia. Esto hace que en cada sístole la sangre fluya fácilmente hacia el lecho capilar alveolar y las venas pulmonares, que mantienen baja presión por acción del corazón izquierdo, no existiendo gradiente significativo. Además, el lecho capilar tiene un efecto de válvula, evitando que el flujo sanguíneo regrese de forma retrógrada al VD y limitando la severidad de la IP. Por esto, normalmente la fracción de regurgitación (FR) de la IP grave no es muy elevada, lo que es bien tolerado por un largo período de tiempo. Por tanto, las características de la circulación pulmonar hacen que el impacto hemodinámico que supone la sobrecarga de volumen de VD por la IP pueda ser bien tolerado clínicamente durante tiempo, aunque se deteriore la función del VD.

La IP significativa provoca inicialmente un aumento del volumen telediastólico de VD, seguido de un aumento del volumen telesistólico y un deterioro progresivo de su función. La respuesta adaptativa del VD depende del grado de IP, del tiempo de evolución y de las características del VD, pero a largo plazo, esta dilatación y disfunción del VD conducen a insuficiencia cardiaca (IC) e intolerancia al ejercicio.

Además, la dilatación del VD puede provocar que se dilate el anillo tricúspide con la aparición de diversos grados de insuficiencia tricúspide (IT) que conllevan una mayor sobrecarga de volumen del VD y colabora en el deterioro progresivo del mismo. La IT significativa está presente en aproximadamente el 32% de pacientes adultos con TF reparada y su presencia se ha relacionado con la aparición de eventos clínicos<sup>21</sup>.

Por otro lado, un grupo de pacientes con TF e IP pueden presentar fisiopatología restrictiva en la evolución secundaria a la dilatación severa del VD y el remodelado que esto supone. En estas circunstancias, la incapacidad del VD por acomodar más volumen provoca un incremento de las presiones de llenado del VD que da lugar a la apertura precoz de la válvula pulmonar observándose flujo anterógrado telediastólico en la AP<sup>22</sup> (*figura 1.4*). Estos pacientes presentan una disminución de la capacidad de ejercicio<sup>22</sup>.

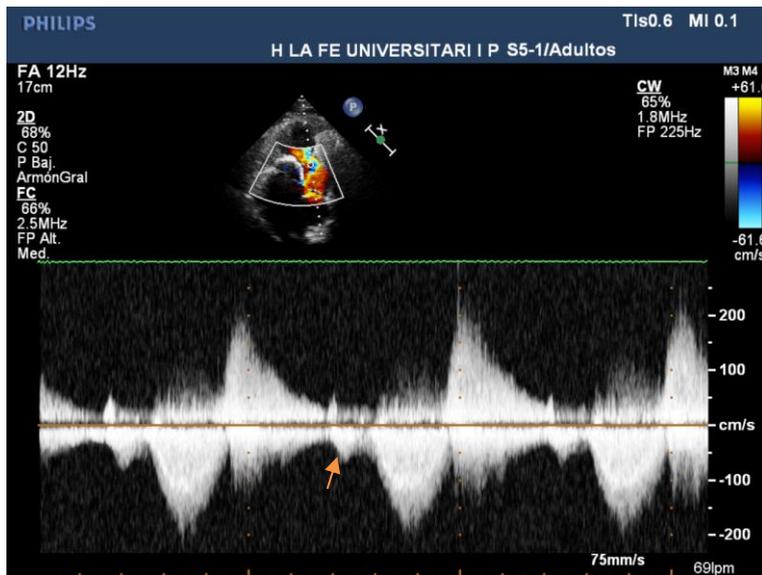


Figura 1.4. Flujo anterógrado telediastólico en la AP que indica fisiología restrictiva del VD.

Por último, como consecuencia de la interdependencia ventricular, los pacientes con IP pueden presentar disfunción del VI secundaria a la dilatación y al deterioro de la función del VD<sup>23,24</sup>. Esto provoca patrones alterados en la movilidad sistólica septal y fibrosis septal que pueden causar el deterioro de la función del VI<sup>24</sup>. Esta disfunción sistólica del VI es un predictor independiente de MS en pacientes intervenidos de TF<sup>25</sup>.

### 3.3 Consecuencias clínicas de la insuficiencia pulmonar

#### 3.3.1 Insuficiencia cardiaca e intolerancia al ejercicio

Desde el punto de vista clínico la IP suele ser bien tolerada durante años por lo que los pacientes pueden estar asintomáticos, incluso aunque

presenten disfunción del VD. No obstante, es frecuente que presenten una disminución de la capacidad de ejercicio demostrada en las pruebas de función cardiopulmonar, aspecto que se ha asociado a un peor pronóstico en diversos estudios<sup>26,27</sup>. La aparición de síntomas también puede relacionarse con otros aspectos, pudiendo aparecer antes en pacientes intervenidos de TF, en relación con otras lesiones, con la hipertrofia ventricular y/o las cirugías previas, que en aquellos que presentan IP de forma aislada. Es común que no aparezcan síntomas hasta después de los 40 años, principalmente si sólo presentan IP de forma aislada<sup>17</sup>.

Los pacientes pueden presentar signos de congestión como hepatomegalia o edema periférico sin hay disfunción del VD e IT asociada con IC clínica. Aunque estos hallazgos no son comunes.

### **3.3.2 Arritmias y riesgo de muerte súbita**

Uno de los aspectos más relevantes en el seguimiento de los pacientes con CC es la aparición de arritmias y el riesgo de MS. Clásicamente, en los pacientes con TF intervenidos se ha relacionado el riesgo de arritmias ventriculares con la presencia de IP significativa<sup>28</sup>.

La dilatación del VD y el estiramiento de las fibras disminuye la conducción intraventricular que, junto con las cicatrices quirúrgicas, crea un sustrato eléctrico para circuitos de reentrada que predisponen a la aparición de taquicardia ventricular sostenida (TVS). Un 10% de los pacientes intervenidos de TF presentarán arritmias ventriculares<sup>29</sup> y la incidencia de MS se estima en 0,2%/año de seguimiento<sup>28</sup>. La presencia de zonas aquinéticas o parches en el TSVD también se relaciona con la aparición de estos sustratos arritmogénicos<sup>24</sup>. Además, se ha observado que existe

correlación entre la prolongación del QRS y la dilatación del VD<sup>30,31</sup> y que una duración del QRS > 180 ms es un predictor de TVS y MS en pacientes intervenidos de TF con ventriculotomía derecha<sup>30</sup>. En otro estudio multicéntrico<sup>28</sup>, se han observado otros factores de riesgo de MS y arritmias ventriculares en pacientes intervenidos de TF junto con la duración del QRS, como son la tasa de cambio del QRS, la edad y la presencia de IP significativa. En este estudio se describe que el 100% de los pacientes con MS y el 94% de los pacientes con TVS presentaban IP al menos moderada, aunque en artículos más recientes no se ha demostrado que la presencia de IP sea uno de los predictores de arritmias ventriculares y MS<sup>32</sup>. Con respecto a la duración del QRS, el punto de corte > 180 ms se describió en estudios clásicos donde los pacientes habían sido intervenidos con ventriculotomía derecha. En la actualidad se realiza un abordaje transauricular o transpulmonar y probablemente duraciones menores de QRS también puedan suponer un riesgo, por ello el cambio y la progresión en la duración del QRS pueden ser predictores adicionales de riesgo de MS. Otros datos electrocardiográficos como la dispersión del QT<sup>33</sup> y la disminución en la variabilidad de la frecuencia cardíaca<sup>34</sup> también podrían incrementar el riesgo de TVS y MS en pacientes con TF intervenidos.

Actualmente, se intenta identificar a los pacientes con riesgo de arritmias ventriculares y MS con el objeto de valorar la necesidad de implantar un desfibrilador automático implantable (DAI) o realizar un estudio electrofisiológico y ablación del sustrato arritmogénico. Las variables identificadas tienen alto valor predictivo negativo, pero bajo valor predictivo positivo<sup>29</sup>, lo que dificulta la identificación de los pacientes de alto riesgo. Se ha observado que los pacientes con mayor riesgo son pacientes

mayores (> 20 años), sometidos a múltiples intervenciones, con mayor duración del QRS y con disfunción del VI<sup>25,35</sup>.

Las guías publicadas recientemente<sup>7,8</sup> describen como factores de riesgo de MS la disfunción sistólica o diastólica de VI, la duración del QRS  $\geq 180$  ms, la fibrosis extensa en el VD medida por resonancia magnética cardíaca (RMC), la presencia de taquicardia ventricular no sostenida (TVNS) y la inducibilidad de TVS en el estudio electrofisiológico. Actualmente, el estudio electrofisiológico ha permitido estratificar el riesgo de los pacientes, y en el caso de los pacientes con TVS monomorfa reconocer los circuitos macro-reentrantes responsables. En los pacientes con riesgo elevado de TVS o tras un episodio arrítmico ventricular o MS recuperada está indicado el implante de DAI<sup>36</sup>.

Con respecto a las arritmias auriculares, se ha observado que la taquicardia reentrante auricular se desarrollará en el 30% de los pacientes en el seguimiento<sup>29</sup>. La presencia de IT significativa se ha relacionado con la aparición de arritmias auriculares, probablemente por la dilatación secundaria de la AD<sup>28</sup>. Existen dos circuitos predominantes en los pacientes con TF intervenidos: el flutter auricular istmo cavotricuspídeo y las taquicardias macroreentrantes alrededor de la cicatriz de atriotomía<sup>37</sup>. La identificación de estos circuitos permite su ablación en pacientes con episodios recurrentes o sintomáticos. Además, se ha descrito que la presencia de taquiarritmias auriculares es predictora de TVS y MS en pacientes con TF reparada<sup>32</sup>.

- *La IP es una de las complicaciones más frecuentes en los seguimientos en Unidades de CC del adulto.*
- *La sobrecarga crónica de volumen del VD provoca dilatación y disfunción del mismo.*
- *Clínicamente se tolera bien durante años, pero, a largo plazo, provoca disminución de la capacidad funcional, insuficiencia cardiaca, arritmias ventriculares y aumenta el riesgo de MS.*

### **3.4 Evaluación de pacientes con insuficiencia pulmonar**

#### **3.4.1 Valoración clínica**

La evaluación de los pacientes con IP debe comenzar con una adecuada anamnesis para identificar síntomas como intolerancia al ejercicio, palpitaciones, síncope o clínica de IC.

En el examen físico, la presencia de un impulso cardiaco prominente suele indicar una sobrecarga de volumen de VD. El soplo de la IP es un soplo diastólico de tono bajo y breve, su intensidad y duración son pobres marcadores de la gravedad de la IP. Puesto que muchos de los pacientes presentan TF como cardiopatía de base pueden presentar otros hallazgos, como un soplo holosistólico debido a OTSVD, un soplo diastólico agudo debido a insuficiencia aórtica o un soplo pansistólico secundario a CIV residual. En casos avanzados donde los pacientes asocien IT grave o la disfunción del VD sea severa pueden aparecer síntomas de IC derecha con edematización periférica, hepatomegalia o ingurgitación yugular.

El electrocardiograma (ECG) muestra, en general, un bloqueo completo de rama derecha, donde la anchura del QRS refleja el grado de dilatación del VD y se ha asociado a un incremento del riesgo de TVS y MS<sup>30,31</sup>. La monitorización con Holter-ECG es necesaria cuando se sospechan arritmias.

La ergoespirometría es una técnica que ofrece una información valiosa y que se realiza de forma seriada en el seguimiento. La IP es una patología crónica por lo que los pacientes tienden a limitar su actividad física y no perciben adecuadamente los signos y síntomas de una IC incipiente. La ergoespirometría responde a la necesidad de objetivar la situación funcional de los pacientes con CC. La medida del consumo máximo de oxígeno ( $VO_2$ ) durante el ejercicio proporciona un valor objetivo de la capacidad de ejercicio independiente de la duración e intensidad de éste. En pacientes adultos con CC que no referían síntomas, se ha observado que el  $VO_2$  se reduce drásticamente a 26,1 ml/kg/min en comparación con 45,1 ml/kg/min para sujetos de control sanos<sup>26</sup>. Además, los pacientes con TF presentan alteraciones de distintos parámetros de la capacidad cardiopulmonar medidos en la prueba de esfuerzo, teniendo alguno de ellos valor pronóstico<sup>38</sup>. Se ha descrito que el porcentaje del  $VO_2$  es un predictor independiente de muerte o presencia de TVS en pacientes intervenidos de TF<sup>27</sup> y que el  $VO_2$ , la relación entre la ventilación por minuto/producción de  $CO_2$  y la reserva de frecuencia cardíaca durante las pruebas de ejercicio cardiopulmonar predicen el riesgo de mortalidad temprana en pacientes a los que se les realiza recambio valvular pulmonar (RVP) por IP significativa<sup>39</sup>.

### **3.4.2 Valoración con técnicas de imagen.**

Con respecto a las técnicas de imagen, la valoración de los pacientes con IP requiere de un enfoque multimodal debido a que ninguna de ellas de forma individual permite un estudio completo de la anatomía, función y consecuencias hemodinámicas. Por ello, en muchos casos es necesario realizar distintas exploraciones complementarias con el objetivo de ser eficiente en la evaluación sin causar morbilidad excesiva, pero obteniendo la máxima información posible. En las guías de consenso, se recomienda el uso combinado de las diferentes técnicas que tenga en cuenta las consideraciones específicas de cada paciente, las fortalezas y debilidades de cada prueba, así como los recursos y experiencias de cada unidad<sup>13</sup>.

#### **3.4.2.1 Ecocardiografía**

La ecocardiografía es la técnica más utilizada en el seguimiento de los pacientes con cardiopatía, puesto que permite evaluar aspectos anatómicos y hemodinámicos y, además, es relativamente económica, ampliamente disponible y evita la exposición a radiaciones.

En los pacientes con IP, la ecocardiografía proporciona información sobre la anatomía de la válvula pulmonar y su funcionamiento, aunque su evaluación es difícil en comparación con otras válvulas debido a que su posición anterior dificulta la obtención de planos ecocardiográficos adecuados para su valoración. Además, la mayoría de la población que padece esta valvulopatía ha precisado de varias cirugías en la infancia y pueden asociar otras lesiones, lo que conlleva una dificultad añadida para localizar las distintas estructuras cardiacas en los planos ecocardiográficos

habituales y la necesidad de valorar otras complicaciones asociadas. Por otro lado, la valoración cuantitativa de cambios en el tamaño y función del VD es más problemática en comparación con el VI.

#### 3.4.2.1a Insuficiencia pulmonar

La determinación de la severidad de la IP ha sido menos validada en comparación con otras valvulopatías.

##### *Evaluación por doppler color*

La detección de la IP se basa casi exclusivamente en imágenes de doppler color al observarse un jet diastólico en el TSVD dirigido hacia el VD. Las características de este flujo, en cuanto a mayor duración y amplitud, permiten distinguir si se trata de una IP patológica, teniendo en cuenta que, en ocasiones, el chorro de la IP grave puede ser breve al igualarse de forma precoz las presiones diastólicas de la arteria pulmonar y del VD por la sobrecarga de volumen. Además, en el caso de que se trate de una IP libre el flujo puede ser laminar y pasar desapercibido<sup>13</sup>.

Los parámetros para evaluar la severidad de la IP por doppler color incluye la anchura del chorro en el origen (vena contracta), el área y la longitud del chorro. Estos dos últimos no son usados por la dificultad para su medición y su escasa reproducibilidad. La anchura de la vena contracta es el método semicuantitativo más utilizado. Se suele expresar en relación con el diámetro del anillo pulmonar y una relación mayor de 0.5 se asocia con IP grave medida por RMC<sup>40</sup>.

Otro parámetro adicional de severidad de la IP es la detección del flujo doppler color reverso en el tronco y las ramas pulmonares. La presencia de este flujo en las ramas pulmonares tiene una sensibilidad y especificidad del 87% para detectar IP grave, pero si sólo se detecta en el tronco pulmonar la especificidad baja al 39%<sup>40</sup>.

#### Evaluación por Doppler continuo

Con respecto a métodos con doppler continuo para cuantificar la IP, la densidad de la señal por Doppler continuo proporciona una medida cualitativa de la severidad de la regurgitación. Por otro lado, existen métodos cuantitativos para estimar la severidad:

- Tiempo de hemipresión. Una desaceleración rápida de la velocidad del jet con terminación del flujo en la mesotelediástole es compatible con una regurgitación grave, puesto que se relaciona con el rápido equilibrio de las presiones diastólicas de la arteria pulmonar y del VD (*figura 1.5*). Se ha observado que un tiempo de hemipresión < 100 ms, tiene una buena sensibilidad y especificidad para identificar la IP significativa<sup>41,42</sup>, aunque este parámetro depende de las presiones de VD y puede acortarse si el VD presenta fisiología restrictiva.

- Índice de IP, medido como la relación entre la duración de la señal de IP en el trazado doppler espectral y la duración total de la diástole. Se ha demostrado que un valor <0,77 tiene una alta sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con FR de IP por RMC > 25%<sup>43</sup>.

Otras valoraciones, como es el cálculo del volumen y la fracción regurgitante presentan limitaciones en su cuantificación como es la medición del diámetro del TSVD, por lo que no han sido bien validadas en la IP. En la *tabla 1.2* se resumen los parámetros ecocardiográficos para diagnosticar la IP grave<sup>40</sup>.

Tabla 1.2 Parámetros ecocardiográficos de IP grave

- Tamaño del chorro por Doppler color: anchura en el origen, profundidad de penetración en VD variable
- Relación de la anchura de la vena contracta/ anillo pulmonar > 0,5
- Alta densidad de la señal de Doppler continuo
- Tiempo de hemipresión < 100 ms
- Índice de IP < 0,77
- Flujo reverso en tronco y/o ramas pulmonares
- ITV del flujo pulmonar aumentado con respecto a ITV del flujo sistémico por Doppler pulsado
- Fracción regurgitante > 40%

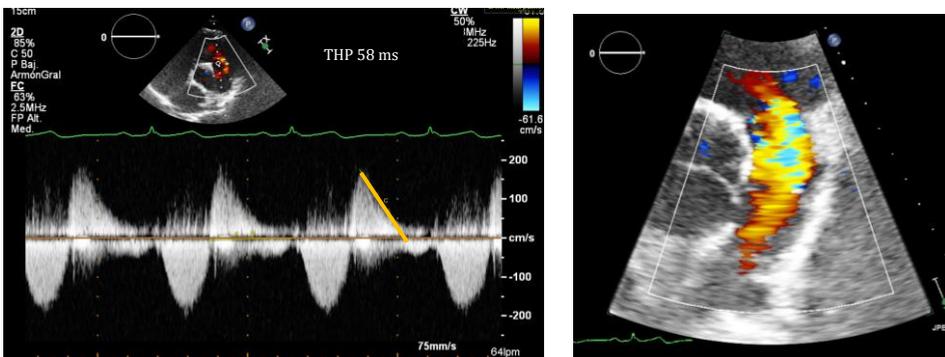


Figura 1.5. Valoración ecocardiográfica de la severidad de la IP. A. Tiempo de hemipresión acortado. B. Flujo reverso en tronco pulmonar.

### 3.4.2.1b Ventrículo derecho

Otro aspecto fundamental en la valoración ecocardiográfica de la IP es el análisis de la repercusión sobre el tamaño y la función del VD.

#### *Dimensiones de VD*

La ecocardiografía es una técnica con importantes limitaciones para medir el tamaño del VD dada su posición retroesternal, su geometría variable, que no se ajusta a los modelos geométricos estándar, y las dificultades para obtener imágenes de toda la cámara mediante ecocardiografía 3D en un número significativo de pacientes<sup>13</sup>. La valoración del VD debe realizarse desde distintos planos y es fundamental cuantificar sus dimensiones para reducir la variabilidad interobservador en su valoración.

El VD se mide desde una vista apical de cuatro cámaras centrada en el VD, con el ápex del VD visible para evitar el acortamiento. Su medición puede verse limitada por la dificultad para definir correctamente el borde de la pared libre, especialmente en VD dilatados. En la *tabla 1.3* se detallan las distintas medidas de VD.

En general, un diámetro mayor de 41 mm en la base y mayor de 35 mm a nivel medio indican dilatación del VD<sup>44</sup>. En el campo de las CC, se han valorado distintas medidas ecocardiográficas para controlar la dilatación del VD y evitar el uso de RMC, así un área telediastólica del VD indexada  $<20 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  se ha asociado con un volumen telediastólico del VD indexado medido por RMC  $<170 \text{ ml}/\text{m}^2$ <sup>45</sup>. Pero, en general, las medidas realizadas con ecocardiograma-2D se correlacionan modestamente con los volúmenes de

VD derivado de la RMC<sup>46</sup>. En este sentido, la ecocardiografía tridimensional permite medir los volúmenes de VD, superando así las limitaciones de la ecocardiografía 2D. Aunque con dificultades técnicas en pacientes con calidad subóptima de las imágenes y con VD severamente dilatado, se puede obtener una estimación de los volúmenes telediastólico y telesistólico de VD y de su fracción de eyección. Se han publicado diversos estudios que comparan la precisión de las mediciones de volúmenes y función de VD por ecocardiografía 3D en tiempo real y RMC. En general, la ecocardiografía infraestima los volúmenes<sup>47-49</sup> y estas discrepancias parece que aumentan con la dilatación severa del VD<sup>50,51</sup>. Sin embargo, existe una excelente correlación y capacidad de discriminación con la FEVD<sup>47,51</sup>.

Tabla 1.3 Resumen de los valores de referencia de medidas de VD<sup>44</sup>.

<b>Parámetro</b>	<b>Valor normal</b>	<b>Rango</b>
Diámetro basal de VD (mm)	33 ± 4	25-41
Diámetro medio de VD (mm)	27 ± 4	19-35
Diámetro longitudinal VD (mm)	71 ± 6	59-83
Diámetro del TSVD eje largo (mm)	25 ± 2,5	20-30
Diámetro proximal TSVD (mm)	28 ± 3,5	21-35
Diámetro distal TSVD (mm)	22 ± 2,5	17-27
Grosor pared VD (mm)	3 ± 1	1-5
Área telediastólica VD (cm <sup>2</sup> )		
- Hombres	17 ± 3,5	10-24
- Mujeres	14 ± 3	8-20
Área telediastólica VD indexada (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )		
- Hombres	8,8 ± 1,9	5-12,6
- Mujeres	8,0 ± 1,75	4,5-11,5
Área telesistólica VD (cm <sup>2</sup> )		
- Hombres	9 ± 3	3-15
- Mujeres	7 ± 2	3-11
Área telesistólica indexada (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )		
- Hombres	4,7 ± 1,35	2,0-7,4
- Mujeres	4,0 ± 1,2	1,6-6,4
Volumen telediastólico VD indexado (ml/m <sup>2</sup> )		
- Hombres	61 ± 13	35-87
- Mujeres	53 ± 10,5	32-74
Volumen telesistólico VD indexado (ml/m <sup>2</sup> )		
- Hombres	27 ± 8,5	10-44
- Mujeres	22 ± 7	8-36

### Función sistólica de VD

La función sistólica del VD ha sido evaluada mediante ecocardiografía utilizando múltiples parámetros. De una forma esquemática los métodos que se utilizan se pueden agrupar como métodos regionales (TAPSE, onda s' por doppler tisular (DTI)), métodos globales basados en DTI (índice de Tei) o en la determinación de áreas/volúmenes (fracción de acortamiento de área (FAC) y fracción de eyección de VD (FEVD)) y las medidas de deformación miocárdica (strain). Sus valores normales y rangos se muestran en la *tabla 1.4*.

#### **\* Métodos regionales**

##### ***TAPSE***

El desplazamiento longitudinal sistólico del anillo tricuspídeo es un método que destaca por su simplicidad y reproducibilidad<sup>44,52</sup>. Se mide mediante ecocardiografía en modo M con el cursor alineado de manera óptima a lo largo del desplazamiento del anillo lateral tricúspide en la vista apical de cuatro cámaras. Aunque refleja principalmente la contractilidad longitudinal del VD, se han demostrado buenas correlaciones con parámetros que estiman la función global de VD. Un TAPSE < 16 mm indica disfunción de VD<sup>52</sup>. En pacientes con TF se ha observado una correlación débil con la FEVD medida por RMC<sup>53</sup>, al igual que en otras situaciones de sobrecarga de volumen de VD, por lo que se su papel en la valoración de esta población es limitado<sup>54</sup>.

### ***Velocidad de onda s´ derivada de DTI del anillo tricúspide lateral***

Mide la velocidad longitudinal sistólica de excursión del anillo tricúspide. Es una medida fácil y reproducible que ha mostrado buena correlación con la función global del VD, a pesar de tratarse de un método regional que mide la velocidad sistólica de un único segmento. Una velocidad de la onda s´ menor de 9,5 cm/s indica disfunción de VD<sup>44</sup>. Sin embargo, en pacientes con TF no se ha observado correlación entre este parámetro y la FEVD por RMC<sup>51</sup>.

Ambos métodos regionales son volumen-dependientes y están aumentados en situaciones de sobrecarga de volumen y disminuidos en situaciones de sobrecarga de presión, lo que limita su capacidad para detectar disfunción del VD. Al ser métodos regionales son dependientes de cambios en la geometría del VD más que de cambios en la función como se observa tras la cirugía donde están disminuidos con respecto a los valores prequirúrgicos<sup>55</sup> sin que exista empeoramiento en la función del VD.

### **\* Métodos globales por TDI**

#### ***Índice de Tei***

Es un índice del rendimiento global del VD. Es la relación entre la suma de los tiempos isovolumétricos y el tiempo de eyección. Un índice superior a 0.54 por DTI indica disfunción del VD. Es útil en situaciones de alta postcarga como la estenosis pulmonar, donde la contracción y la relajación isovolumétrica está aumentada. Sin embargo, en situaciones de alta precarga como la IP, los tiempos isovolumétricos son cortos y en esta

situación un índice de Tei alterado podría reflejar más un cambio en la carga del VD que un cambio en la función intrínseca miocárdica<sup>51</sup>.

### **\* Métodos globales basado en áreas y volúmenes**

#### ***Fracción de acortamiento de área***

Se define como  $([\text{área telediastólica} - \text{área telesistólica}] / \text{área telediastólica}) \times 100$ , siendo 35% el límite que indica disfunción del VD<sup>52</sup>. Para su cálculo es importante asegurar que todo el VD esté incluido en la imagen desde el ápex hasta la base y que se defina correctamente la pared libre tanto en sístole como en diástole.

#### ***Fracción de eyección por ecocardiografía 3D (FEVD-3D)***

Las medidas por ecocardiografía 3D han sido validada por RMC, pero presenta limitaciones como la influencia del movimiento septal, el acceso acústico deficiente o ritmos irregulares<sup>44</sup>. Existen diversos métodos comercializados para evaluar la FEVD-3D, como el Tomtec® y el KBR®, este último un software específico para CC con excelentes correlaciones con la RMC<sup>56</sup>.

El método que mejor se correlaciona con la FEVD por RMC en pacientes con TF es la FEVD-3D<sup>51</sup>. Y aunque la FAC se ha correlacionado modestamente con las mediciones por RMC en pacientes con CC<sup>13,46</sup>, es el parámetro 2D que mejor se correlaciona con la función medida por resonancia en esta población<sup>51</sup>.

### \* Strain y Strain rate

El strain longitudinal de VD mide el porcentaje de acortamiento sistólico de la pared libre del VD desde la base hasta el ápex. El strain rate longitudinal mide la tasa de acortamiento. Puede medirse con DTI o por speckle-tracking. Aunque en la actualidad su utilidad clínica en la toma de decisiones no está establecida, medidas de strain y strain rate pueden ser también útiles para la población de pacientes con IP<sup>57,58</sup>.

Tabla 1.4. Parámetros normales de función de VD.

Parámetros	Valores normales	Valores anormales
TAPSE (mm)	24 ± 3,5	< 16
Onda s' (cm/s)	14,1 ± 2,3	< 9,5
FAC (%)	49 ± 7	< 35
Strain pared libre VD (%)	- 29 ± 4,5	> - 20
FEVD 3D (%)	58 ± 6,5	< 45
Índice Tei por Doppler tisular	0,38 ± 0,08	>0,54
E/A	1,4 ± 0,3	<0,8 / >2,0

### Función diastólica de VD

La evaluación de la función diastólica del VD es difícil de realizar y el patrón de llenado a través de la válvula tricúspide no es fiable, por lo que es necesario combinar varios parámetros para su valoración (análisis por doppler del flujo en arteria pulmonar, dilatación de AD, inversión del flujo venoso hepático, comportamiento de la vena cava inferior).

### 3.4.2.1c Evaluación del TSVD

La valoración ecocardiográfica del TSVD es un aspecto esencial del estudio de los pacientes con IP, puesto que las cirugías realizadas en la infancia involucran esta zona. Por ello, debe valorarse la presencia de zonas aneurismáticas, en relación con el parche implantado, o de estenosis residuales. En caso de detectarse una obstrucción residual del TSVD, el doppler color y pulsado permiten localizar la obstrucción y el doppler continuo establecer su severidad y diferenciar entre una obstrucción dinámica o fija a nivel valvular o supravalvular en función del perfil espectral<sup>13</sup>. En ocasiones es difícil evaluar la estenosis cuando hay obstrucciones a múltiples niveles como en el TSVD y las ramas pulmonares.

Otro punto que evaluar es la dimensión del TSVD a nivel de la válvula pulmonar puesto que es importante para la planificación del implante percutáneo de prótesis pulmonar.

### 3.4.2.1d Ventrículo izquierdo

La disfunción sistólica del VI es un factor pronóstico de MS en pacientes con IP. Suele ser consecuencia del fenómeno de interdependencia ventricular debido a la sobrecarga de volumen y disfunción del VD. En los pacientes con sobrecarga de volumen se produce un aplastamiento del septo interventricular predominantemente en diástole y en los pacientes con sobrecarga de presión en sístole<sup>13</sup>.

#### 3.4.2.1e Insuficiencia tricúspide

La causa más frecuente de IT en pacientes con IP es la funcional o secundaria a la dilatación y distorsión del aparato subvalvular. Existen otras causas como son la interferencia del cierre por electrodos de marcapasos, endocarditis, alteraciones congénitas sobre la válvula tricúspide y, en particular en los pacientes con TF reparada, la afectación de la comisura anteroseptal secundaria al parche de cierre de la CIV. La ecocardiografía es una herramienta esencial para establecer el mecanismo y la severidad de la IT.

#### 3.4.2.1f Otras estructuras cardiacas

La ecocardiografía es útil para evaluar las dimensiones del tronco pulmonar y ramas, así como la presencia de estenosis. No obstante, la capacidad de la ecocardiografía para visualizar detalles de las ramas pulmonares en adultos es limitada.

La ecocardiografía permite descartar la existencia de cortocircuitos residuales, fundamentalmente en la TF reparada, tanto a nivel interauricular como secundarios a dehiscencias del parche de cierre de CIV.

La dilatación de la raíz aórtica es común en adultos con TF reparado, por lo que debe evaluarse en el estudio ecocardiográfico.

#### **3.4.2.2 Resonancia magnética cardiaca**

La RMC es una técnica independiente del acceso acústico del paciente, proporciona una excelente calidad de imagen y no expone a

radiaciones ionizantes perjudiciales. Por ello, tiene un papel principal en la cuantificación de la IP, así como en la medida de los volúmenes y función ventriculares. De hecho, la RMC es la prueba de referencia para la evaluación cuantitativa del tamaño y función biventricular. En consecuencia, es la prueba adecuada para el seguimiento longitudinal de esta población porque permite una amplia evaluación de todas las estructuras cardiacas sin las limitaciones que puede tener la ecocardiografía.

Los estudios por RMC que se realizan en los pacientes con IP incluyen secuencias para valorar la función, la contractilidad regional y los volúmenes de ambos ventrículos, similares a los que se realizan en otras patologías cardiacas, y secuencias específicas para valorar otras alteraciones en relación con la patología de estudio. Se estudia la relación del flujo pulmonar y sistémico, la anatomía del TSVD, las arterias pulmonares y la aorta, así como la presencia de áreas de fibrosis en ambos ventrículos.

Un estudio completo de resonancia en estos pacientes incluye:

- Secuencias anatómicas que permiten localizar las estructuras cardiacas.

- Secuencias cine SSPF (*steady-state free precession*). Se realizan planos de 4 cámaras, 2 cámaras y eje corto. En este último se miden los volúmenes y la función biventricular, siendo especialmente importante el estudio del VD. En pacientes con TF intervenida, se debe prestar especial atención para determinar las fases telediastólica y telesistólica de cada ventrículo. El retraso en la conducción que presentan estos pacientes supone que la contracción máxima del VD generalmente se produce después de la del VI, por lo que hay que elegir la fase del ciclo en el que se realiza la

medición de los volúmenes de VD que puede ser diferente a las del VI. En la *tabla 1.5* se muestran los valores normales de volúmenes telediastólico y telesistólico del VD indexados (VTDVDi y VTSVDi respectivamente) y función de VD por RMC<sup>59</sup>.

- Planos específicos que permiten una adecuada valoración de los tractos de entrada y salida del VD en secuencias morfológicas y en secuencias de cine. Se realiza un plano orientado para mostrar la entrada y salida del VD, un plano axial y un plano sagital oblicuo a través del eje largo del TSVD y la arteria pulmonar. Así puede definirse la anatomía del TSVD, la presencia de zonas acinéticas en relación con la cirugía correctora previa y la presencia de zonas de obstrucción por medio de las imágenes de cine, así como los artefactos del flujo que permiten distinguir la IP o la obstrucción en el TSVD.

- Secuencias de contraste de fase para cuantificar la IP. Esta secuencia se planifica perpendicular al plano del eje largo de la arteria pulmonar. La FR de la IP se calcula como el volumen de flujo retrógrado dividido por el volumen de flujo anterógrado. Esta FR, en ausencia de otra valvulopatía regurgitante o cortocircuito residual, debe coincidir con la estimada por métodos volumétricos que se calcula dividiendo la diferencia de los volúmenes latidos de VD y VI por el volumen latido del VD.

- Angiografía por resonancia magnética con contraste. Esta técnica permite la evaluación del árbol arterial y las venas sistémicas y pulmonares. La adquisición de un conjunto de datos 3D permite la reconstrucción de imágenes para obtener una representación anatómica clara del árbol pulmonar y planificar el tratamiento en caso de estenosis de las ramas pulmonares. Las secuencias TSE son útiles para describir la extensión y la ubicación de la estenosis de las ramas pulmonares debido a su mayor

resolución espacial, y son menos susceptibles a los artefactos metálicos por lo que se utilizan en pacientes en los que se han colocado stents previamente.

- Evaluación de cortocircuitos residuales. Imágenes en secuencias cine SSFP o TSE permiten detectar cortocircuitos residuales. Las CIV residuales puede ser evaluadas con secuencias de cine SSFP en un plano paralelo y perpendicular a la base del septo ventricular, en el plano de cuatro cámaras y en el de tres cámaras. La magnitud de la relación de flujo pulmonar y sistémico se puede cuantificar mediante la comparación de flujo de en secuencias de contraste de fase en arteria pulmonar y aorta ascendente.

- Secuencias para la detección de áreas de fibrosis por medio del estudio del realce tardío de gadolinio (RTG), que da información pronóstica en el seguimiento de estos pacientes. En pacientes con TF reparado, el RTG suele presentarse en las áreas relacionados con las cirugías previas (TSVD, parche de ampliación). También puede encontrarse en la pared anterior del VD y en el septo interventricular.

- Por último, la RMC permite el estudio de otras complicaciones presentes en pacientes con TF reparada como la dilatación de la aorta o la presencia de IT.

Con respecto a la cuantificación de la IP por RMC, no hay umbrales específicos para clasificar la gravedad. Los valores usados en la práctica habitual se han asumido de los parámetros ecocardiográficos. En general, se clasifican según la FR estimada en IP leve si esta es  $< 20\%$ , moderada entre  $20-40\%$  y grave  $> 40\%$ <sup>40</sup>. Por ello en la mayor parte de los estudios publicados, se considera IP grave si la FR es mayor del  $40\%$ <sup>60</sup>.

A partir de la segunda década de la vida, la RMC es una prueba de rutina dentro del seguimiento periódico de los pacientes con IP grave. Se recomienda realizar un estudio con RMC a los pacientes con TF cada 3 años si no hay cambio clínico o ecocardiográfico<sup>7,61</sup>. Una de las limitaciones principales de la técnica es su coste y la menor disponibilidad con respecto a la ecocardiografía, por lo que, en la práctica habitual, los pacientes son seguidos mediante ecocardiografía y, si existen cambios en los estudios ecocardiográficos periódicos, se realiza RMC para valorar los volúmenes y la función del VD.

Tabla 1.5. Parámetros de VD por RMC en adultos de 20-68 años.

<b>Parámetros</b>	<b>Valores normales</b>	<b>Ligeramente anormales</b>	<b>Moderadamente anormales</b>	<b>Severamente anormales</b>
<b>MUJERES</b>				
VTDVDi (ml/m <sup>2</sup> )	48 - 112	113 - 128	129 - 144	> 144
VTSVDi (ml/m <sup>2</sup> )	12 - 52	53 - 62	63 - 72	> 72
FEVD (%)	51 - 71	41 - 51	30 - 40	< 30
<b>HOMBRES</b>				
VTDVDi (ml/m <sup>2</sup> )	61 - 121	122 - 136	137 - 151	> 151
VTSVDi (ml/m <sup>2</sup> )	19 - 59	60 - 69	70 - 79	> 79
FEVD (%)	52 - 72	41 - 52	30 - 40	< 30

En conclusión, la RMC nos permite obtener una valoración exhaustiva de las alteraciones estructurales residuales de la TF y estratificar el riesgo de los pacientes, puesto que la dilatación severa del VD y la disfunción biventricular medida por RMC son predictores de eventos clínicos en pacientes intervenidos de TF<sup>62</sup>.

#### **3.4.2.3 Cateterismo cardiaco**

Las indicaciones para la realización de coronariografía previa a la intervención de RVP son similares a las indicadas para el tratamiento de otras valvulopatías. También se realiza para descartar anomalías coronarias, presente en el 15 % de los pacientes con TF<sup>19</sup> si no han sido descartadas por otros estudios previos.

El estudio hemodinámico mediante cateterismo cardiaco se reserva para pacientes en los que no es posible realizar una valoración adecuada por métodos no invasivos (mal acceso acústico e imposibilidad de realizar RMC por ser portadores de marcapasos) o en aquellos casos que van a ser sometidos a tratamientos percutáneos. El estudio angiográfico permite evaluar la presencia de shunt residual mediante oximetrías, la presencia de estenosis con la medición de gradientes y analizar la función diastólica mediante mediciones de las presiones de llenado. Además, la presencia de IP se manifiesta por la pérdida de la muesca dicrótica en los trazados de la arteria pulmonar y del equilibrio de las presiones diastólicas entre la arteria pulmonar y el VD.

#### **3.4.2.4 Otras pruebas de imagen**

La tomografía computarizada permite la valoración de las anomalías coronarias y su relación anatómica con el TSVD y la posición de las grandes arterias o conductos respecto al esternón con el objetivo de planificar la cirugía o el intervencionismo percutáneo. Su limitación principal es el uso de radiaciones ionizantes.

El uso de pruebas de medicina nuclear queda limitado a la gammagrafía pulmonar cuando es necesario evaluar la perfusión pulmonar.

- *La evaluación de la capacidad funcional es fundamental en los pacientes con IP, recomendando realizarse una determinación de VO<sub>2</sub> con ergoespirometría.*
- *La valoración por técnicas de imagen requiere de un enfoque multimodal.*
- *La ecocardiografía es la técnica diagnóstica de primera línea, ya que permite cuantificar la IP, tamaño y función del VD y VI, estudiar la anatomía del TSVD y las lesiones coexistentes.*
- *La RMC es el método de elección para la evaluación del volumen y función del VD y la cuantificación de la IP.*

## **4. RECAMBIO VALVULAR PULMONAR**

La IP supone la indicación quirúrgica más frecuente en pacientes adultos con CC intervenidos en la infancia<sup>63</sup>. El RVP es el único tratamiento que permite corregir la situación de sobrecarga de volumen a la que está sometido el VD de estos pacientes, siendo una intervención necesaria en pacientes sintomáticos para mejorar su situación clínica. Además, esta

intervención está indicada para evitar el deterioro progresivo que puede presentar el VD por dicha sobrecarga.

#### **4.1 Indicaciones y momento quirúrgico**

Uno de los puntos que siguen siendo controvertidos en la actualidad en el tratamiento de los pacientes con CC es el momento óptimo en el que llevar a cabo el RVP en pacientes asintomáticos con IP grave. En las consultas de CC del adulto, es una situación que se plantea con frecuencia dado que es una de las patologías con mayor prevalencia en este tipo de unidades, de ahí la necesidad real que existe de saber cuándo es adecuado plantear el RVP en esta población. Aunque es una intervención con bajo riesgo (mortalidad de 1-4%) y una excelente supervivencia (86-95% a los 10 años)<sup>17</sup>, tradicionalmente se ha adoptado una estrategia conservadora para la mayor parte de los pacientes asintomáticos, debido al riesgo que implican las reintervenciones y la ausencia de evidencia de beneficio pronóstico. No obstante, esto podría conllevar el riesgo de intervenir cuando la disfunción del VD sea irreversible.

Las guías de práctica clínica de CC del adulto de la AHA publicadas en 2018<sup>7</sup> diferencian el manejo terapéutico de la IP según el antecedente de EP aislada o TF. En el primer caso (*Figura 1.6*), se indica RVP en pacientes sintomáticos con IP mayor que moderada que provoque dilatación o disfunción del VD con indicación I y nivel de evidencia C. En pacientes asintomáticos con dilatación/disfunción progresiva de VD indican que es razonable el RVP (indicación IIb y nivel de evidencia C).

Recommendations for Isolated PR After Repair of Pulmonary Stenosis		
COR	LOE	Recommendations
I	C-EO	1. In symptomatic patients with moderate or greater PR resulting from treated isolated pulmonary stenosis, with RV dilation or RV dysfunction, pulmonary valve replacement is recommended.
I	C-EO	2. For asymptomatic patients with residual PR resulting from treatment of isolated pulmonary stenosis with a dilated right ventricle, serial follow-up is recommended.
I <b>b</b>	C-EO	3. In asymptomatic patients with moderate or greater PR resulting from treatment of isolated pulmonary stenosis with progressive RV dilation and/or RV dysfunction, pulmonary valve replacement may be reasonable.

Figura 1.6. Recomendaciones para el tratamiento de IP aislada tras la reparación de estenosis pulmonar según las guías AHA<sup>7</sup>.

En el caso de IP como secuela de la intervención de TF (*Figura 1.7*) las guías indican RVP en los pacientes sintomáticos (disnea, dolor torácico y/o intolerancia al ejercicio) con indicación I y nivel de evidencia B. Con respecto a los pacientes asintomáticos el RVP es razonable para la preservación del tamaño y la función ventricular si aparece disfunción ventricular (indicación clase IIa, nivel de evidencia B) y también se puede considerar en pacientes que presenten TVS junto con las terapias específicas para su control (indicación clase IIb, nivel de evidencia C). En el texto estas mismas guías indican de forma más detallada que el RVP es razonable en pacientes que presente al menos 2 de los siguientes puntos:

- Disfunción de VD o VI.
- Dilatación severa del VD: VTDVDi  $\geq 160$  ml/m<sup>2</sup>/ VTSVDi  $\geq 80$  ml/m<sup>2</sup>.
- VTDVD mayor o igual a 2 veces el volumen telediastólico del VI.
- Presión sistólica del VD mayor o igual a dos tercios de la presión sistémica.
- Reducción objetiva progresiva de la capacidad de ejercicio.

Recommendations for TOF (Continued)		
COR	LOE	Recommendation
Therapeutic		
I	B-NR	5. Pulmonary valve replacement (surgical or percutaneous) for relief of symptoms is recommended for patients with repaired TOF and moderate or greater PR with cardiovascular symptoms not otherwise explained. <sup>54.3.5-9-54.3.5-11</sup>
IIa	B-NR	6. Pulmonary valve replacement (surgical or percutaneous) is reasonable for preservation of ventricular size and function in asymptomatic patients with repaired TOF and ventricular enlargement or dysfunction and moderate or greater PR. <sup>54.3.5-1,54.3.5-9,54.3.5-12-54.3.5-14</sup>
IIa	B-NR	7. Primary prevention ICD therapy is reasonable in adults with TOF and multiple risk factors for SCD. <sup>54.3.5-15-54.3.5-17</sup>
IIb	C-EO	8. Surgical pulmonary valve replacement may be reasonable for adults with repaired TOF and moderate or greater PR with other lesions requiring surgical interventions.
IIb	C-EO	9. Pulmonary valve replacement, in addition to arrhythmia management, may be considered for adults with repaired TOF and moderate or greater PR and ventricular tachyarrhythmia.

Figura 1.7. Recomendaciones para el manejo de pacientes con TF según las guías AHA<sup>7</sup>.

Las guías de CC de la Sociedad Europea de Cardiología publicadas recientemente<sup>8</sup>, refieren indicaciones para RVP similares a las que presenta las guías de AHA descritas previamente (*Figura 1.8*). Se señala que el RVP está indicado en pacientes con IP significativa sintomáticos (indicación clase I, nivel de evidencia C) y en pacientes asintomáticos cuando asocian algunas de estas características (Indicación clase IIa, nivel de evidencia C): disminución de la capacidad de ejercicio, dilatación progresiva del VD hasta  $VTSVDi \geq 80 \text{ ml/m}^2$  o  $VTDVDi \geq 160 \text{ ml/m}^2$ , disfunción sistólica progresiva del VD y OTSVD con presión sistólica del VD mayor de 80 mmHg. A destacar que las guías europeas también valoran la IT progresiva al menos moderada como indicación para intervenir a los pacientes, mientras que las americanas no lo tienen en cuenta. Además, en la edición previa de las guías europeas de CC de 2010<sup>5</sup> la presencia de arritmias auriculares sostenidas era otra de las indicaciones de RVP.

Así pues, en los pacientes asintomáticos, que representan a la mayor parte de los pacientes controlados en las consultas, uno de los parámetros principales que se ha seguido para la indicación del RVP ha sido el volumen del VD estimado por RMC. Sin embargo, como señalan las guías publicadas<sup>7</sup>, hay una falta de consenso con respecto a las indicaciones óptimas y el momento del RVP en esta población.

### Recommendations for intervention after repair of tetralogy of Fallot

Recommendations	Class <sup>a</sup>	Level <sup>b</sup>
PVRep is recommended in symptomatic patients with severe PR <sup>c</sup> and/or at least moderate RVOTO. <sup>d</sup>	I	C
In patients with no native outflow tract, <sup>e</sup> catheter intervention (TPVI) should be preferred if anatomically feasible.	I	C
PVRep should be considered in asymptomatic patients with severe PR and/or RVOTO when one of the following criteria is present. <ul style="list-style-type: none"> <li>● Decrease in objective exercise capacity.</li> <li>● Progressive RV dilation to RVESVi <math>\geq 80</math> mL/m<sup>2</sup>, and/or RVEDVi <math>\geq 160</math> mL/m<sup>2</sup>, and/or progression of TR to at least moderate.</li> <li>● Progressive RV systolic dysfunction.</li> <li>● RVOTO with RVSP <math>&gt; 80</math> mmHg.</li> </ul>	IIa	C

Figura 1.8. Recomendaciones para el manejo de pacientes con TF según las guías europeas<sup>8</sup>.

## 4.2 Opciones de recambio valvular pulmonar

El RVP puede llevarse a cabo quirúrgica o percutáneamente.

Las opciones quirúrgicas son bioprótesis con stent (de origen porcino o pericárdico), prótesis bivalvas de politetrafluoroetileno, homoinjertos y otros conductos. La durabilidad de las bioprótesis de origen porcino y pericárdico es similar, no requieren anticoagulación y permiten un nuevo implante valvular en el futuro si existe disfunción (*valve in valve*). Las

prótesis mecánicas en posición pulmonar son raramente utilizadas por la necesidad de anticoagulación y el riesgo de trombosis, aunque en una revisión reciente<sup>64</sup> se ha descrito que el riesgo de trombosis no es tan elevado (7% a los 5 años con necesidad de reintervención en un 3%).

Para evitar el riesgo quirúrgico se han ido desarrollando terapias poco invasivas; y en este sentido, el implante percutáneo de prótesis en posición pulmonar es el avance en cardiología intervencionista que ha revolucionado el manejo de estos pacientes. Estas terapias permitirían un tratamiento menos agresivo de la IP y probablemente más precoz.

Las guías publicadas no hacen referencias específicas a las indicaciones del implante de válvulas percutáneas, aunque indican las prótesis percutáneas como preferentes respecto a las quirúrgicas, si es posible técnicamente<sup>8</sup>. Actualmente se usan dos tipos de válvulas percutáneas: la válvula Melody (Medtronic®) y la válvula SAPIEN (Edwards®). Las instrucciones de uso para la válvula de Melody<sup>65</sup> (*tabla 1.6*) especifican la presencia de una indicación clínica asociada a disfunción del TSVD (IP al menos moderada y/o EP) y un diámetro del TSVD > 16 mm. Entre los criterios de exclusión actuales, se incluyen venas centrales ocluidas, infección activa y anatomía desfavorable de la arteria coronaria (posible compresión por la válvula implantada)<sup>66</sup>.

<b>Válvula Melody</b>	<b>Válvula Sapien</b>
Edad $\geq$ 5 años/peso $\geq$ 30 kg	Peso $\geq$ 35 kg
Diámetro de conducto original $\geq$ 16 mm	Conducto in situ $\geq$ 16 mm y $\leq$ 24 mm
Disfunción del conducto en TSVD por ecocardiografía	IP $\geq$ grado 3 (ecocardiografía) o FR $\geq$ 40% (RMC)
- Pacientes en CF NYHA $\geq$ II: gradiente medio $\geq$ 35 mmHg o IP $\geq$ moderada	Con o sin estenosis
- Pacientes en CF NYHA I: gradiente medio $\geq$ 40 mmHg o IP severa asociada con anillo de la válvula tricúspide $\geq$ 2 Z-score FEVD $<$ 40%	

Tabla 1.6. Criterios de inclusión para los ensayos clínicos del uso de las válvulas Melody y Sapien, adaptada de Alkashkari et al<sup>65</sup>.

Con respecto a los resultados tras el implante de válvulas percutáneas, se ha descrito una reducción significativa en la presión sistólica del VD, de las dimensiones del VD y del gradiente del TSVD con mejoría de la clase funcional hasta 3 años después del procedimiento, tanto en pacientes con lesiones estenóticas, regurgitantes o mixtas<sup>67</sup>. Además, Lurz et al demostraron una excelente supervivencia a largo plazo después del RVP con prótesis Melody; sin embargo, el 27% de los pacientes requirieron reintervención a los 70 meses de seguimiento. El mayor riesgo de reintervención fue en aquellos con gradiente residual en TSVD  $>$  25 mmHg, si se realizó el implante sin pre-stenting y si presentaban IT moderada-severa antes del implante. Como ocurre con las bioprótesis y homoinjertos implantados quirúrgicamente, la válvula pulmonar percutánea también degenera y pueden ser necesarios sucesivos implantes a lo largo de la vida. En el momento actual desconocemos cómo afrontar el estrechamiento

gradual que podría suponer el implante sucesivo de múltiples válvulas percutáneas.

Una de las complicaciones más graves después del implante percutáneo es la endocarditis infecciosa, con una incidencia aproximada de 2.4% por paciente-año<sup>65</sup>, siendo el riesgo mayor que en el RVP quirúrgico<sup>68</sup>. Un gradiente elevado residual en el TSVD, la turbulencia resultante y la trombosis in situ se han implicado en la fisiopatología de la endocarditis<sup>65</sup>.

Aunque el implante percutáneo de válvulas pulmonares parece seguro y eficaz frente al abordaje quirúrgico<sup>66</sup>, faltan estudios aleatorizados que comparen el resultado de los distintos abordajes en el tratamiento de la IP, incluidos modelos de costes y el impacto a largo plazo en la supervivencia de los pacientes.

Actualmente, es posible concluir que, si se ha implantado un anillo bioprotésico del tamaño adecuado, el implante de una válvula percutánea es factible con bajo riesgo y buenos resultados a corto y medio plazo. Pero es necesario demostrar si un RVP más precoz con implante de válvula percutánea posterior tiene un impacto en los resultados clínicos<sup>14</sup>.

#### **4.3 Repercusión del recambio valvular pulmonar**

En un metaanálisis publicado en 2013<sup>18</sup> donde se incluye a 3118 pacientes intervenidos de TF que se someten a RVP, se observó que la intervención sobre la válvula pulmonar tiene una baja tasa de mortalidad a los 30 días y a los 5 años (0,87% y 2,2%, respectivamente) y una aceptable tasa de reintervención (4,9% a los 5 años). Además, se observan disminuciones significativas de volúmenes del VD, aumento en los

volúmenes y la función del VI, disminución en la duración del QRS y mejora en la clase funcional. Pero no se evidencia mejoría en la FEVD. A pesar de que tras la cirugía se observa sistemáticamente una reducción importante de los volúmenes ventriculares, no hay evidencia de cuáles son los parámetros volumétricos en los que la cirugía consiga una normalización del volumen, una mejoría de la función sistólica del VD y una mejoría pronóstica.

A pesar de que la mortalidad y morbilidad del procedimiento son bajas, el porcentaje de degeneración de la bioprótesis u homoinjerto implantado es alto y es necesario realizar reintervenciones. En algunas series<sup>69</sup>, el 25% de los pacientes a 10 años precisan de la realización de un nuevo procedimiento de RVP siendo además mayor el porcentaje de pacientes que presentan disfunción de la prótesis (50 % a los 10 años). Se ha demostrado que el número de reintervenciones es un predictor independiente de muerte<sup>39</sup>, por lo que la elección del momento óptimo para el RVP es crucial.

Por un lado, es importante evitar los efectos perjudiciales que puede tener la IP grave si se retrasa mucho la cirugía en el sentido de dilatación y disfunción irreversibles del VD y desarrollo de IC. Pero, por otro, debe evitarse un tratamiento precoz que suponga múltiples reintervenciones en el seguimiento, a lo que se añade que no se ha demostrado mejoría en el pronóstico interviniendo a los pacientes asintomáticos. Además, se ha observado que uno de los factores que influyen en el fallo de la prótesis tras RVP es la edad más precoz en la intervención<sup>70</sup> que podría estar en relación con una degeneración y calcificación mayor en los jóvenes que en los pacientes adultos.

Diversos autores han analizado qué parámetros preoperatorios, principalmente referidos a volúmenes ventriculares, son los idóneos para conseguir una normalización del tamaño y función del VD. La mayoría de los estudios publicados<sup>71-74</sup> indican que pacientes con VTDVDi entre 150-170 ml/m<sup>2</sup> deberían ser intervenidos, puesto que aquellos a los que se realiza el RVP con volúmenes mayores no normalizan el tamaño del VD, e incluso se llega a marcar el punto de corte de VTDVDi de 150 ml/m<sup>2</sup> para conseguir mejorar la función biventricular y la capacidad de ejercicio submáxima.

Otros autores, como Geva et al.<sup>75</sup> han valorado otros parámetros para predecir la respuesta del VD al RVP, así observaron que un VTSVDi <90 ml/m<sup>2</sup> preoperatorio se asoció con la normalización de tamaño y función del VD tras el RVP, mientras que una FEVD < 45% en el preoperatorio supuso una disfunción y dilatación mantenida tras el RVP. En esta misma línea, otro trabajo reciente<sup>76</sup> señala que un punto de corte preoperatorio de VTSVDi ≤82 ml/m<sup>2</sup> es igualmente sensible y más específico para la normalización de los volúmenes de VD que el VTDVDi. Además, el objetivo de reducción del VTSVDi sería más adecuado para valorar la remodelación inversa óptima porque es más independiente de la precarga que el volumen telediastólico. También se ha descrito que los pacientes operados con un VTSVDi > 95 ml/m<sup>2</sup> tienen un resultado hemodinámico subóptimo y mayor riesgo de eventos clínicos<sup>77</sup>.

No obstante, aunque hasta el momento los volúmenes del VD han sido uno de los parámetros fundamentales para indicar el RVP y su normalización uno de los objetivos principales, no se ha evidenciado que un punto de corte determinado mejore el pronóstico de los pacientes.

Con respecto a la arritmias y riesgo de MS, no se ha demostrado que el riesgo de TV se reduzca tras el remodelado inverso que presentan los pacientes que se someten a RVP. En estudios clásicos, donde se observa que el RVP mejora los síntomas, el estado funcional y el tamaño del VD, no se observa una reducción del riesgo de arritmias ni de MS si se compara con una población en la que no se lleva a cabo el RVP<sup>78,79</sup>. De hecho sólo se evidencia disminución del riesgo de arritmias cuando se realizan procedimientos de ablación del sustrato arrítmico asociados al RVP<sup>80</sup>. En este sentido, Therrien et al.<sup>80</sup> observaron que tras el RVP hay una estabilización de la duración QRS y una reducción en la incidencia de TVS del 22% al 9% y de la fibrilación o flutter auricular del 17% al 12%. Pero en este estudio fue frecuente la realización de procedimientos de crioablación concomitante para el tratamiento de arritmias por lo que, aunque el RVP podría tener un papel en la reducción del riesgo arrítmico, no permite evaluar el impacto directo que tendría el RVP en la MS.

- *Los objetivos terapéuticos del RVP son la mejoría clínica y pronóstica.*
- *Sería crucial conocer cuál es el momento óptimo para realizar el RVP.*
- *La mortalidad del RVP es baja, pero la necesidad de reintervención es alta, lo que se supone un predictor de muerte independiente.*
- *La mayoría de los estudios indican que el RVP mejora la CF, pero no la función del VD, el riesgo arrítmico ni el pronóstico.*

## **5. BIOMARCADORES EN LA INSUFICIENCIA PULMONAR**

Se ha demostrado que los péptidos natriuréticos de tipo B (BNP y NT-ProBNP) son biomarcadores importantes en pacientes con IC. Se ha estudiado la relación de los niveles de BNP y la disfunción del VD, y en concreto, en pacientes con TF se ha visto que los niveles de BNP se relacionan con la clase funcional de la New York Heart Association (CF NYHA). Sin embargo, las elevaciones de BNP son leves en comparación con los pacientes con IC por disfunción del VI<sup>29</sup>. En un estudio con 43 pacientes con TF reparada<sup>81</sup>, se observó que los niveles de NT-ProBNP se relacionaban con el grado de dilatación del VD y la severidad de la IP; pero no se encontró relación con la función del VD, apuntando que por el hecho de ser una población joven y asintomática no presentaban disfunción del VD. En esta línea, en otro estudio publicado recientemente<sup>82</sup>, se observó que los niveles de NT-ProBNP en una población con IP residual tras TF se relacionan con la aparición de eventos adversos; sin embargo, no se obtiene correlación entre los niveles del biomarcador y los parámetros de valoración funcional del VD. Estos hallazgos están en discordancia con lo descrito por Koch et al.<sup>83</sup>, en un estudio de cohorte retrospectivo, donde compararon los niveles de BNP en 130 niños y adultos con TF reparada, encontrando relación entre los niveles de BNP y la dilatación del VD. Además, en este trabajo se observan niveles mayores de BNP en pacientes sintomáticos y a la espera de RVP, que disminuyen tras el mismo.

También se ha investigado la correlación del BNP con la capacidad de ejercicio en los pacientes con TF reparado<sup>84</sup>, observando que los niveles de BNP aumentan con el ejercicio y que el incremento en esta población es

mayor que en los controles. El aumento de BNP también se correlacionó con el grado de IP y los valores de diámetro telediastólico de VD. En otro estudio se observó que los niveles de NT-ProBNP se correlacionaron con bajo  $VO_2$  en la prueba cardiopulmonar, así como con la dilatación del VD y la FEVD<sup>85</sup>.

En conclusión, se ha constatado que existe una relación entre los niveles de los péptidos natriuréticos y los parámetros de dilatación de VD en pacientes con TF, así como con la severidad de la IP y la valoración funcional cardiopulmonar. Sin embargo, existen discrepancias en la relación de estos biomarcadores con la FEVD<sup>83-86</sup>.

Con respecto a otros biomarcadores, Lai et al.<sup>87</sup> estudiaron el papel de biomarcadores circulantes del metabolismo del colágeno relacionados con la fibrosis ventricular en pacientes con TF reparada, observando que estos pacientes presentaban niveles mayores de estas moléculas con respecto a los controles, y que se relacionaban con la presencia de RTG, así como con los volúmenes de VD. Por ello postulan que los niveles elevados de estas moléculas podrían reflejar la fibrosis del VD y estar relacionados con eventos adversos.

- *Los péptidos natriuréticos se han relacionado con la clase funcional clínica, la aparición de eventos adversos y la dilatación del VD.*
- *No existe una relación clara entre los péptidos natriuréticos y la FEVD.*
- *Biomarcadores del metabolismo del colágeno se han relacionado con la fibrosis del VD.*

## **6. RECEPTORES ADRENÉRGICOS Y GRK COMO BIOMARCADORES EN PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR**

La investigación de biomarcadores en el ámbito de la cardiología está actualmente en plena expansión, aunque existen escasas publicaciones que hayan estudiado biomarcadores en los pacientes con IP. Los principales biomarcadores usados a nivel práctico en el estudio de la IC, los péptidos natriuréticos, tiene una utilidad limitada en estos pacientes a diferencia de lo descrito en pacientes con disfunción del VI. Por este motivo, se considera interesante estudiar otros marcadores moleculares que puedan ser útiles en la valoración de estos pacientes y además, aumenten el conocimiento en cuestiones por resolver como son la fisiopatología y progresión de la disfunción cardíaca derecha.

Entre los nuevos biomarcadores que se están estudiando a nivel de patología cardiovascular se encuentra los receptores adrenérgicos y las quinasas de receptores acoplados a proteínas G (GRK) que modulan su función. El estudio de estas moléculas en el ámbito de pacientes con CC, y en concreto con IP grave, supone un enfoque molecular novedoso e interesante puesto que algunos de estos marcadores han demostrado valor pronóstico en pacientes con IC<sup>88</sup>.

## **6.1 Receptores adrenérgicos y quinasas moduladoras de su actividad.**

### **6.1.1 Receptores adrenérgicos o adrenoceptores**

La homeostasis del aparato cardiovascular está controlada por el sistema nervioso autonómico, existiendo una interacción permanente entre ambos. Este hecho se concreta en la rica expresión de receptores adrenérgicos o adrenoceptores (AR) presentes en el aparato cardiovascular<sup>89</sup>.

Los AR son receptores de membrana que forman parte de la superfamilia de los receptores con siete dominios transmembrana, también llamados receptores acoplados a proteína G (GPCR), que son la superfamilia más importante de receptores de membrana plasmática y median acciones de hormonas, neurotransmisores, quimioquinas y estímulos sensoriales. Existen tres tipos de adrenoceptores ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$ ) subdivididos en nueve subtipos. Las catecolaminas endógenas realizan su acción a través de estos receptores que controlan diversos procesos fisiológicos mediante la activación de vías de señalización. Por ello, los AR están implicados en diversas funciones como el control de la presión arterial, de la frecuencia cardíaca o de la contractilidad cardíaca<sup>90</sup>.

En concreto, los AR- $\beta$  son activados por la noradrenalina liberada de las terminaciones nerviosas y la adrenalina circulante y con ello regulan distintas respuestas cardiovasculares como la relajación del músculo liso, la contractilidad cardíaca y el control del ritmo cardíaco. Por este motivo son una importante diana terapéutica para el tratamiento de enfermedades

cardiovasculares como la hipertensión arterial, las arritmias cardiacas o la IC<sup>91</sup>. Existen 3 subtipos ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ) que se distribuyen por el organismo en distinta proporción, lo que conlleva que cada uno de ellos esté implicado en un proceso fisiopatológico. Por ejemplo, los AR- $\beta 2$  son los más abundantes a nivel arterial y los AR- $\beta 1$  se distribuyen en mayor proporción a nivel cardiaco por lo que median la contracción y el ritmo cardiaco.

Como se ha comentado, el subtipo  $\beta 1$  es el más frecuente a nivel cardiaco, representando el 70-80% en algunas especies<sup>92</sup>. Por ello, es el principal responsable de la contracción muscular del corazón y del control del ritmo cardiaco. El subtipo  $\beta 2$  está implicado en menor medida en la contracción debido a que se encuentra inicialmente secuestrado en las caveolas<sup>93</sup>. Se ha descrito que la estimulación sostenida del AR- $\beta 1$  cardiaco presenta efectos cardiotóxicos a través de la activación de la apoptosis y de la hipertrofia. Sin embargo, la activación del subtipo  $\beta 2$  favorece efectos cardioprotectores que contrarrestan la señalización de AR- $\beta 1$ . Por ello, la estimulación sostenida y la proporción de cada subtipo estarán muy implicadas en el remodelado del corazón y en el deterioro progresivo descrito en la IC <sup>90,94</sup>.

### **6.1.2 Regulación de los receptores adrenérgicos: las GRK.**

El estudio de los AR no se limita a su cuantificación en la membrana celular, sino que se basa en la comprensión de su ciclo celular. Existen sistemas de regulación que limitan la actividad de los AR para adaptarla según las necesidades fisiológicas del organismo. Estos mecanismos

incluyen la desensibilización, la internalización, la endocitosis y el secuestro de los AR.

En la regulación de la actividad de los AR son importantes dos grupos de proteínas que actúan en la modulación de la funcionalidad y la dinámica intracelular de los AR. Por un lado, destacan las quinasas de receptores acoplados a proteínas G (GRK), una familia de serina/treonina kinasas, que fosforilan a estos receptores cuando son ocupados por agonistas. Y en segundo lugar, las proteínas desacoplantes denominadas arrestinas, que se unen a los receptores fosforilados por kinasas, impidiendo la transducción de la señal de estos AR. Con la actuación de estas proteínas específicas los receptores fosforilados son secuestrados de la superficie celular o internalizados, siendo desde ese momento inaccesibles para los ligandos. Esto puede llevar a la degradación del receptor, y por lo tanto una reducción en el número total de receptores presentes en la célula. Es el proceso conocido como regulación a la baja o disminución regulada (*downregulation*). Pero también puede mediar una vía de señalización intracelular que esta mediada por la b-arrestina y activa MAPK como ERK1/2<sup>95,96,97</sup>. Estos procesos se esquematiza en la *figura 1.9*.

Dentro de la familia de las GRK han sido clonados un total de siete genes que codifican para siete GRK diferentes. Las isoformas más expresadas en el corazón son la GRK2, la GRK3 y la GRK5. Estas GRK junto con las arrestinas tienen un papel fundamental en la modulación de los AR, con ello, cambios en su expresión y actividad afectan al funcionamiento de los AR.

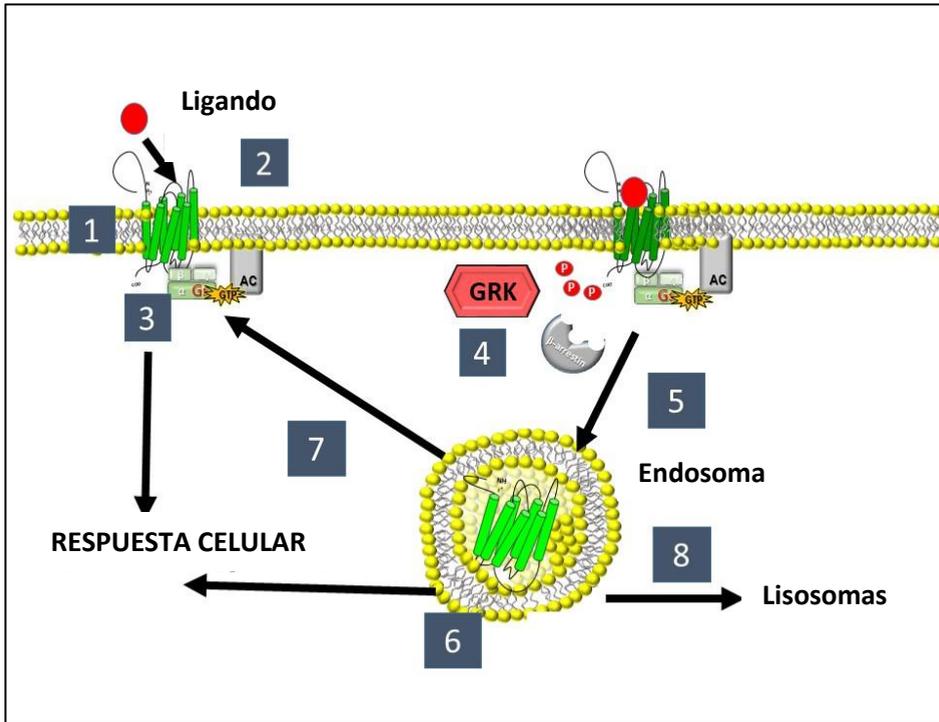


Figura 1.9. Regulación de adrenoceptores y GRK.

1. Localización del adrenoceptor  $\beta$ ;
2. Activación;
3. Señalización a través de proteínas G;
4. Fosforilación por GRK;
5. Endocitosis;
6. Localización endosomas;
7. Reciclado a la membrana;
8. Degradación en lisosomas.

Puesto que para que los AR sean fosforilados precisan de estar activados por su agonista, una exposición sostenida o repetida a catecolaminas circulantes conlleva un aumento de la fosforilación de adrenoceptores mediante GRK. La fosforilación del receptor conlleva la internalización del mismo en la célula y, por tanto, el cese de su función en la membrana celular<sup>95,96</sup>.

Se han descritos múltiples niveles de interacción que cooperan para la activación y la traslocación a la membrana de GRK tras la interacción del receptor con un agonista, por lo que son múltiples y complejos los mecanismos que regulan la expresión, la actividad y la localización de las GRK, y especialmente de la GRK2<sup>97</sup>. Son diferentes señales las que actúan a través de factores de transcripción para modular la transcripción del gen. Por ello, los niveles celulares de proteínas GRK2 están regulados por la integración de los procesos de transcripción, traducción y degradación de proteínas (*figura 1.10*). Y se ha descrito que los mecanismos no transcripcionales están también muy involucrados en la regulación de los niveles de expresión de GRK2, existiendo vías de degradación de proteínas intracelulares que responden a estímulos externos para equilibrar los niveles de proteína. Se ha demostrado que en el caso de las GRK2 esta degradación está mediada por las calpaínas y el proteosoma<sup>98</sup>. Por este complejo mecanismo de regulación, se han observado alterados los niveles proteicos de GRK que no son paralelos a los cambios correspondientes en los niveles de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) en varias afecciones patológicas como procesos inflamatorios crónicos o modelos de hipertrofia cardíaca<sup>98</sup>.

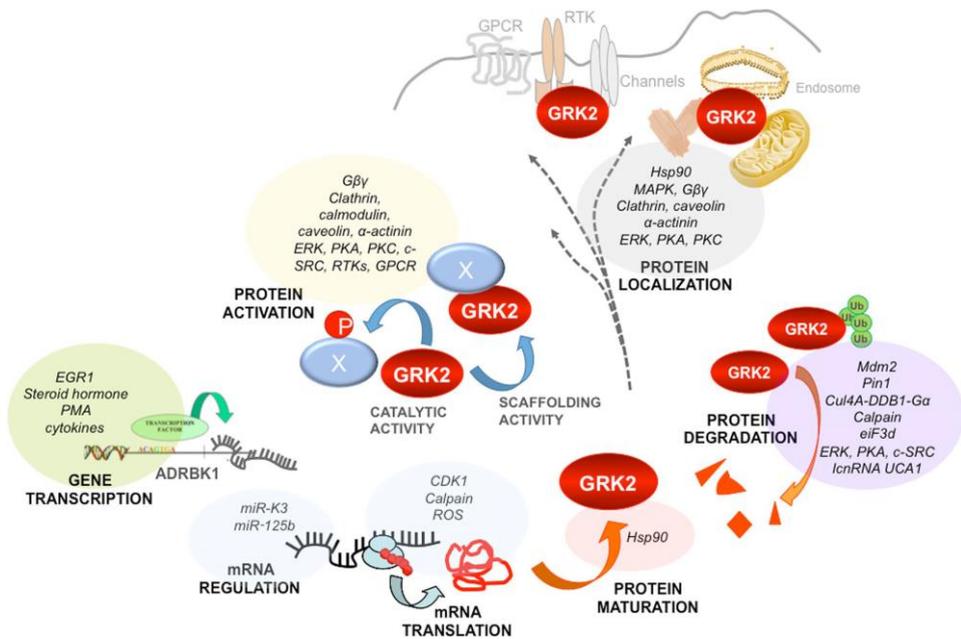


Figura 1.10. Múltiples mecanismos de regulación de los niveles de GRK2 y su funcionalidad. Adaptada de Penela et al.<sup>97</sup>.

## 6.2 Relación de los AR y las GRK con la insuficiencia cardiaca

### 6.2.1 Adrenoreceptores $\beta$

Los AR- $\beta$  han sido ampliamente estudiados en la IC. El sistema  $\beta$ -adrenérgico es un componente fundamental en la regulación de la función cardiaca y está involucrado en la patogénesis de la IC<sup>99</sup>. La actividad del sistema nervioso simpático aumenta en la IC y como consecuencia existen mayores niveles de catecolaminas que estimulan los AR<sup>100</sup>. Inicialmente la estimulación de los AR- $\beta$  cardiacos supone un aumento de la contractilidad del corazón, necesario para compensar la IC, pero posteriormente esta activación mantenida provoca un aumento de la apoptosis y un remodelado

cardiaco inadecuado<sup>101</sup>. Por ello, el uso de fármacos  $\beta$ -bloqueantes constituye una parte importante en el tratamiento de la IC<sup>102</sup>.

Los efectos tóxicos de la activación de AR- $\beta$  en la IC parecen surgir del subtipo AR- $\beta$ 1. La sobreexpresión de AR- $\beta$ 1 en ratones transgénicos causa hipertrofia temprana y fibrosis intersticial seguida de disfunción cardíaca<sup>100</sup>. Además, numerosos estudios indican un papel cardioprotector para los AR- $\beta$ 2 en la IC<sup>90</sup>. Se ha descrito que la sobreexpresión moderada del subtipo  $\beta$ 2 sirve para restaurar la función y la morfología cardíaca deterioradas<sup>103</sup>. Con el progreso de la IC el aumento crónico de la exposición a los agonistas o catecolaminas endógenas está relacionado con un descenso progresivo en la expresión génica y proteica del AR- $\beta$ 1<sup>100</sup>, como probable mecanismo protector para evitar los efectos pro-apoptóticos de este subtipo. Por otra parte, la densidad del subtipo  $\beta$ 2 aumenta, quizás como intento de mejorar la función cardíaca o de protegerla favoreciendo el efecto anti-apoptótico<sup>94</sup>, aunque otros estudios han observado que una sobreexpresión excesiva de este subtipo  $\beta$ 2 también puede relacionarse con hipertrofia cardíaca e IC<sup>104</sup>. Con todo ello se considera que, en la IC, la señalización crónica de AR- $\beta$ 1 es cardiotóxica y la señalización crónica de AR- $\beta$ 2 cardioprotectora. Sin embargo, para ambos subtipos de AR- $\beta$ , el equilibrio entre los efectos tóxicos y los efectos protectores depende de la enfermedad subyacente y del modelo específico utilizado para estudiar los efectos de los AR- $\beta$ <sup>90</sup>.

### 6.2.2 GRK

La investigación sobre la distribución y regulación de las GRK ha permitido conocer que están implicadas en múltiples vías tanto en la función cardiaca normal como en enfermedades cardiovasculares (*figura 1.11*)<sup>105</sup>. En concreto, en la IC existe una regulación de los AR- $\beta$  secundaria a la activación neurohormonal crónica que se provoca en esta enfermedad. Por ello, las GRK encargadas de esta regulación tienen una clara implicación en la función cardiaca en la IC. Estas cinasas son las responsables de reducir la actividad de los AR- $\beta$ , contribuyendo a la reducción del gasto cardiaco, que podría favorecer el desarrollo y la progresión de la enfermedad.

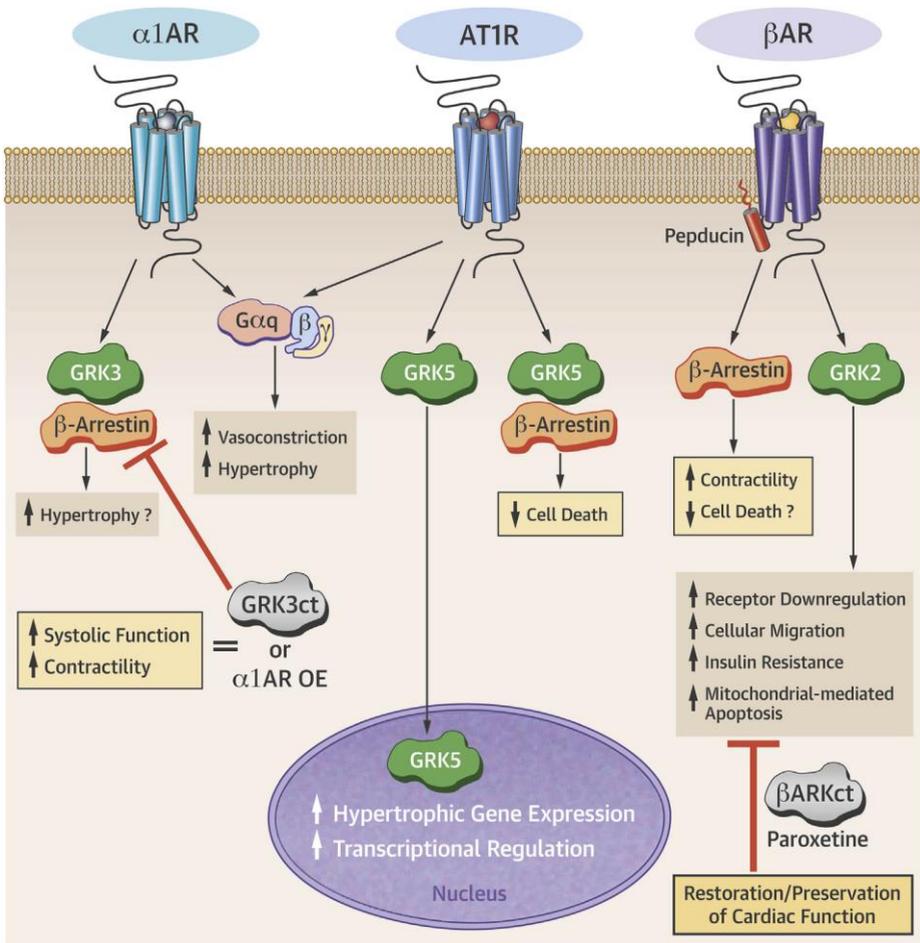


Figura 1.11. Implicación de las GRK en la regulación de la función cardíaca a múltiples niveles. Adaptada de Grisanti et al.<sup>105</sup>.

La GRK2 es una de las cinasas más estudiadas. Tiene un importante papel en diferentes procesos celulares y funciones fisiológicas como resultado de la integración de todas las interacciones que tiene tanto con receptores GPCR, entre ellos los AR, como con otro tipo de moléculas en respuesta a señales extracelulares. Actualmente la investigación en este campo sigue ampliándose para conocer con más detalle las moléculas

implicadas en la regulación y actividad de las GRK2, puesto que como se ha revisado recientemente, juega un importante papel en la regulación de los AR- $\beta$  tanto en el corazón sano como enfermo y por ello, se piensa en su inhibición como posible diana terapéutica<sup>105</sup>. Se ha descrito que tanto la GRK2, como la GRK5, juegan un papel clave en la IC, la hipertrofia y el infarto de miocardio<sup>92,103</sup>. Los niveles de GRK2 tanto a nivel de ARNm como a nivel proteico están aumentados en el corazón durante la IC<sup>106,107</sup> y este aumento se relaciona con una disminución de la actividad de AR- $\beta$  en muestras de corazón humano de pacientes con IC<sup>106</sup>. Estos hallazgos parecen mostrarse antes del desarrollo de la enfermedad, pudiendo representar un marcador temprano de la disfunción cardíaca<sup>108</sup>. Por otro lado, se ha descrito que la actividad de la GRK2 en muestras de corazón insuficiente aumenta conforme avanza la gravedad de la enfermedad en estadios leves o iniciales de la enfermedad (clases I-II de la NHYA), pero baja hasta niveles controles en estadios más graves o avanzados (clases III-IV de la NHYA)<sup>109</sup>. Además, se ha descrito que la regulación celular que se lleva a cabo a través de la GRK2 tiene importantes implicaciones en la respuesta inflamatoria durante las enfermedades cardíacas<sup>110</sup>. Aparte del papel de la GRK2 en la IC, también está implicada en otros procesos que están relacionados con las enfermedades cardiovasculares como la resistencia a la insulina<sup>105</sup>.

En cuanto a la GRK5, que se encuentra principalmente en el corazón, existe una sobreexpresión en corazones de animales con IC, sobre todo en fases terminales<sup>111</sup>. Pero su papel en la IC no está del todo claro. En pacientes con IC terminal, sometidos a trasplante cardíaco, se ha observado una correlación inversa entre los niveles de expresión génica (ARNm) de GRK5 y GRK3 y el volumen diastólico del VI<sup>112</sup>. También se ha descrito una

correlación inversa entre la expresión de GRK5, que modula la actividad del AR- $\beta$ 1 cardíaco, y la hipertrofia ventricular, lo que respalda la evidencia clínica de un papel protector de un polimorfismo de GRK5 en la IC que inhibe la señalización del AR-  $\beta$ 1<sup>113</sup>.

Por último, la GRK3 se encuentra expresada a lo largo de todo el organismo en multitud de órganos y tejidos diferentes. En los estudios más antiguos que se han realizado en modelos animales y humanos de IC no se han encontrado alteraciones<sup>114,115</sup>, pero sí en el anteriormente citado <sup>112</sup>. De hecho, se ha asociado una mayor expresión de GRK3 y GRK5 con menores dimensiones del VI, aportando nueva información a hallazgos previos que apoyan un papel protector de GRK3 en el sistema cardiovascular<sup>116,117</sup> y contribuyendo a una mejor comprensión de la posición del gen GRK3 en un locus de un cromosoma asociado con la masa y la contractilidad del VI<sup>118</sup>.

En resumen, en la IC, se han descrito cambios en la expresión (génica o proteica) de los AR- $\beta$ 1, GRK2 y GRK5 en el corazón<sup>119,120</sup>, que varían según el origen de la enfermedad (miocardiopatía isquémica o no isquémica)<sup>112</sup>, el estadio de la enfermedad<sup>109,121</sup> o el uso de betabloqueantes<sup>109</sup>. Estos cambios se explican por el papel que las catecolaminas circulantes o el tratamiento con bloqueadores beta puedan tener en la expresión de AR y GRK. De hecho, un aumento sostenido de catecolaminas circulantes induce una disminución de la expresión de los AR- $\beta$  acompañada de un aumento en la expresión de las GRK, mientras que la administración de bloqueadores beta produce los efectos contrarios<sup>88,122</sup>.

La principal limitación de los primeros estudios que incluyeron estos marcadores de disfunción cardíaca fue que precisaban material biológico de

origen cardiaco (biopsia endomiocárdica, explante cardiaco) para su estudio. Este problema se solventó cuando se asentó la correlación entre la expresión de AR y GRK en tejido cardiaco y linfocitos de sangre periférica<sup>106,122-125</sup>, de tal modo que, una muestra de sangre periférica es suficiente para realizar el estudio de estos marcadores moleculares.

### **6.3 AR y GRK en linfocitos de sangre periférica como biomarcadores en patología cardiovascular**

Se ha descrito la presencia de AR- $\beta$  y GRK en células del sistema inmune implicadas en la regulación de funciones del propio sistema inmunitario como en patologías de carácter autoinmune<sup>126,127</sup>. En base a estos estudios se ha sugerido que la presencia de AR- $\beta$  podría ser la conexión existente entre dicho sistema y el sistema nervioso simpático<sup>128</sup>. Además, la presencia de los AR y las GRK en células del sistema inmune como en los linfocitos de sangre periférica o fracción monolinfocitaria circulante (FMLC), ha abierto la posibilidad de usarlos como biomarcador en determinadas patologías cardiovasculares como la IC.

En este sentido, se ha estudiado la distribución de AR- $\beta$  en linfocitos, siendo el subtipo  $\beta 2$  el más abundante<sup>129</sup> y se ha observado una correlación en la densidad de los AR- $\beta$  entre miocardio y linfocitos, proponiendo los linfocitos como marcador molecular para el control de las enfermedades cardiovasculares<sup>127</sup>. Además, se han visto cambios en la expresión de los AR en linfocitos en pacientes con IC<sup>106,129</sup> y se han observado cambios en la densidad de AR en pacientes tratados con  $\beta$ -bloqueantes<sup>130</sup>. Todo ello,

sugiere que los cambios en AR en linfocitos pueden ser un reflejo de los cambios ocurridos a nivel cardiaco.

En el caso de las quinasas reguladoras, la GRK2 medida en linfocitos se ha sugerido como biomarcador de enfermedades cardiovasculares. En esta línea, se han descrito niveles alterados en la expresión y actividad de esta molécula en pacientes con HTA<sup>131</sup> y pacientes con IC<sup>106</sup>. En este sentido, Iaccarino et al.<sup>106</sup> observaron un aumento en la expresión y la actividad de la GRK2 en linfocitos que se correlacionaba con los hallazgos en miocardio y que era más marcado según el deterioro de la función cardiaca, proponiendo el uso de esta cinasa como biomarcador de la IC. Hallazgos similares se han descrito en otros estudios, donde se han observado aumento en los niveles de ARNm y proteína para la GRK2, GRK3 y GRK5 en linfocitos de pacientes con sobrecarga del VI relacionados con la gravedad de la enfermedad<sup>132</sup>. Además de estos hallazgos desde un punto de vista descriptivo, en un estudio realizado en pacientes con IC y fracción de eyección de VI (FEVI) deprimida se ha descrito que los niveles proteicos de GRK2 en linfocitos son un predictor independiente de mortalidad cardiovascular y mortalidad total en esta población<sup>88</sup>.

Sin embargo, no siempre hay una concordancia en los cambios producidos en el corazón y en los linfocitos. Así, se han descrito niveles elevados de GRK2 y AR- $\beta$ 2 en el miocardio de pacientes con IC y miocardiopatía dilatada, pero que mostraban niveles de expresión disminuidos de estos biomarcadores en linfocitos y que se revierten tras el trasplante cardiaco<sup>133</sup>. Por ello, el interés en estudiar estas moléculas en la población con IP se centra más en su papel como biomarcadores en sí mismo más que en el mimetismo que puedan tener con la expresión de estas

mismas moléculas a nivel cardiaco.

- *Descripción de nuevos marcadores relacionados con la regulación de la función cardíaca: Receptores adrenérgicos (AR) y sus quinasas moduladoras (GRK).*
- *La expresión de los AR- $\beta$  y las GRK (GRK2, GRK3 y GRK5) cambia como consecuencia de las variaciones neurohumorales producidas en la IC, por lo que su cuantificación puede ser útil en el seguimiento de esta enfermedad.*
- *Es posible determinar su expresión en linfocitos de sangre periférica lo que facilita su uso como biomarcadores.*
- *Se ha demostrado que la determinación de GRK2 en linfocitos de pacientes con IC es un predictor independiente de mortalidad.*
- *Interés en estudiar estos biomarcadores en la IP grave para ampliar conocimientos sobre su fisiopatología.*

## **II. HIPÓTESIS**

---



La IP crónica, como secuela tras la intervención de enfermedades obstructivas del TSVD, es bien tolerada clínicamente, pero conlleva un deterioro progresivo del VD. Empíricamente, este deterioro podría asociar alteraciones a nivel molecular similares a la que se producen en otros escenarios como la IC.

Se han descrito biomarcadores de IC, como son los AR y sus quinasas moduladoras, las GRK, que pueden ser determinados en la FMLC.

El estudio de estas moléculas podría ser útil para profundizar en el conocimiento de la fisiopatología de los pacientes con IP.

## **1. HIPÓTESIS PRINCIPAL**

Los pacientes con IP grave como secuela tras la cirugía correctora de CC obstructivas del TSVD tienen un patrón de expresión de AR y GRK en la FMLC significativamente distinto a los controles sin cardiopatía y similar a pacientes con IC.

## **2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS**

- El patrón de expresión de AR y GRK es diferente en los pacientes con IP grave en función de la situación clínica y de parámetros de tamaño y función del VD.

- En los pacientes con IP grave el patrón de expresión de AR y GRK es diferente en función de si presentan criterios de RVP.

- La expresión de AR y GRK tiende a normalizarse tras el RVP.



## **III. OBJETIVOS**

---



## 1. OBJETIVO PRINCIPAL

Describir la expresión de AR- $\beta$  (AR- $\beta$ 1 y AR- $\beta$ 2) y GRK (GRK2, GRK3 y GRK5) en la FMLC que presentan los pacientes con IP grave y compararla con la expresión que presentan los controles sin cardiopatía y los pacientes con IC.

## 2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

a) Comparar la expresión de AR- $\beta$  y GRK entre pacientes con IP grave según su situación clínica y los parámetros de valoración del VD y analizar la correlación de la expresión de estos marcadores con datos clínicos, electrocardiográficos y de imagen del VD en los pacientes con IP grave.

b) Comparar la expresión de AR- $\beta$  y GRK (además de datos clínicos, ECG y de imagen del VD) entre pacientes con indicación de RVP frente a aquellos sin indicación de intervención según criterio clínico siguiendo las recomendaciones actuales.

c) Analizar los cambios que se produzcan en la expresión de AR- $\beta$  y GRK en la FMLC y en los datos clínicos, ECG y de imagen de VD tras la cirugía de RVP en aquellos pacientes que sean intervenidos en la evolución.



## **IV. MATERIAL Y MÉTODO**



## 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio de cohortes, unicéntrico, prospectivo y observacional. Se incluyeron pacientes no consecutivos diagnosticados de IP grave definida por criterios ecocardiográficos (*tabla 1.2*) y/o por RMC (FR de IP > 40%)<sup>40</sup> seguidos en la Unidad de Cardiopatías Congénitas del Adulto (centro de referencia de la Comunidad Valenciana) del Hospital Universitario y Politécnico La Fe desde diciembre de 2011 a julio de 2015.

## 2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Los pacientes que cumplían los criterios de inclusión expuestos en la *tabla 4.1* fueron incorporados al estudio tras firmar el consentimiento informado (*Anexo I*).

Tabla 4.1. Criterios de inclusión y de exclusión.

CRITERIOS INCLUSIÓN	CRITERIOS EXCLUSIÓN
Edad superior a 14 años	Disfunción ventricular izquierda
CC con TSVD disfuncionante	Valvulopatía izquierda grave
Presencia de IP grave	Enfermedad inflamatoria crónica
	Enfermedad autoinmune

El grupo control estaba, a su vez, formado por dos grupos, un grupo de 22 sujetos sanos comparables en cuanto a edad y sexo con los pacientes con IP incluidos y un grupo de 13 pacientes con IC avanzada de origen no

isquémico en estudio pre-trasplante cardiaco con el objeto de comparar la expresión de AR- $\beta$  y GRK en la FMLC.

### **3. PROTOCOLO DEL ESTUDIO**

El protocolo de estudio se muestra en la *figura 4.1*. Tras la firma del consentimiento e inclusión en el estudio, los pacientes fueron sometidos a una extracción sanguínea, obteniéndose una muestra para el análisis de la expresión de AR- $\beta$  y GRK en la FMLC. En el momento de la inclusión a los pacientes también se les realizó un ECG y una ecocardiografía. Se incorporaron datos clínicos y de valoración de VD por RMC realizada dentro de su evaluación rutinaria.

Durante el seguimiento, a aquellos pacientes intervenidos de RVP se les realizó una nueva extracción de sangre periférica para el análisis de los marcadores un año tras la cirugía. Se obtuvieron los datos de la evaluación clínica con ECG, ecocardiograma y RMC realizados al año de la cirugía.

Tanto al grupo de los controles sanos como al grupo de pacientes con IC avanzada se les realizó una única extracción sanguínea para el análisis molecular.

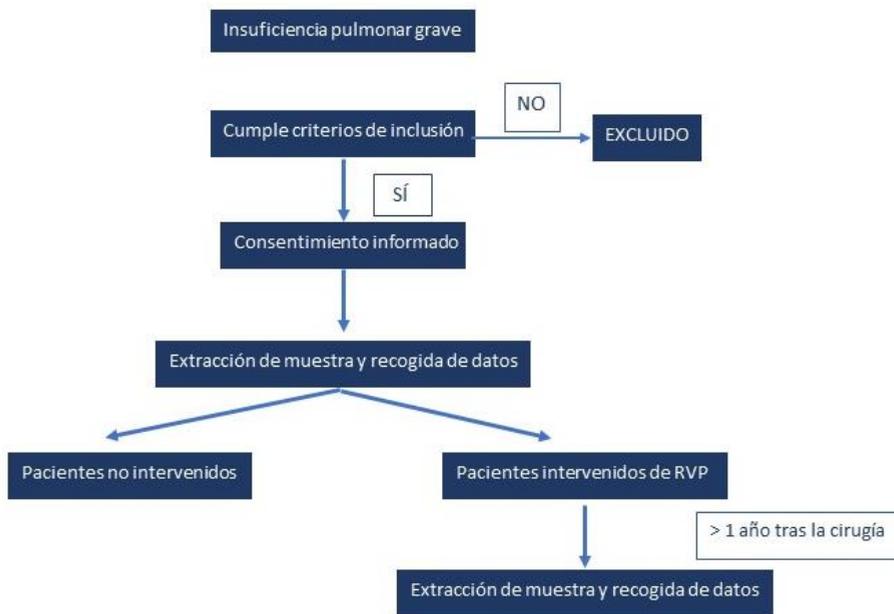


Figura 4.1. Protocolo de estudio. RVP: recambio valvular pulmonar.

## 4. MATERIAL Y VARIABLES ANALIZADAS

### 4.1 VARIABLES CLÍNICAS Y FUNCIONALES.

Se registraron datos clínicos, electrocardiográficos, analíticos y de técnicas de imagen en el momento del reclutamiento y en el seguimiento de los pacientes que fueron intervenidos (*tabla 4.2*).

VARIABLES CLÍNICAS ANALIZADAS:

- Datos demográficos: edad y sexo.
- Cardiopatía congénita de base y otras anomalías cardíacas asociadas.

- Intervenciones realizadas y fecha en las que se llevaron a cabo. Se incluyeron las intervenciones paliativas previas como fístulas. Puesto que en su mayoría se trata de pacientes con enfermedades obstructivas del TSVD se detalló el tipo de intervención realizada, quirúrgica o percutánea. Y en caso de cirugía, si se realizó una miectomía/valvulotomía aislada o si se asoció el implante de parche transanular o ampliación del TSVD.
- Secuelas surgidas en el seguimiento.
- Situación clínica en el momento de la incorporación en el estudio, incluyendo clase funcional de la NYHA y signos de IC derecha como edema, hepatomegalia o ingurgitación yugular.
- Indicación de RVP en el momento de la inclusión en el estudio.
- Eventos clínicos: síncope, muerte, presencia de arritmias auriculares y/o ventriculares, necesidad de marcapasos y/o DAI.

Con respecto a las variables electrocardiográficas, se obtuvo un ECG en el momento de la inclusión en el estudio sobre el que se analizó el ritmo, la presencia de trastornos de conducción y la duración del QRS. Desde el punto de vista arrítmico se analizó el tipo de arritmias auriculares, detallando si presentaron flutter, fibrilación auricular o episodios de otro tipo de taquicardias supraventriculares.

Las determinaciones analíticas se realizaron de acuerdo con la metodología de rutina del laboratorio clínico de Urgencias del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Se determinó el NT-proBNP como biomarcador usado en la práctica clínica en pacientes con IC.

A los pacientes intervenidos de RVP se le realizó una nueva evaluación al año de la cirugía valorando la situación clínica tras la intervención con los mismos ítems que se definieron en el momento de la inclusión, así como la aparición de eventos clínicos, los datos del ECG referidos al inicio del estudio, la determinación de NT-proBNP y el análisis de la expresión génica de AR- $\beta$  y GRK.

Tabla 4.2. Resumen de variables clínicas, electrocardiográficas, analíticas, ecocardiográficas y de RMC registradas durante el seguimiento.

<b>Variables clínicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad</li> <li>• Sexo</li> <li>• Cardiopatía congénita</li> <li>• Tipo y fecha de cirugía</li> <li>• Secuelas tras cirugía</li> <li>• Clase funcional</li> <li>• Síncope</li> <li>• Fallecimiento</li> <li>• Arritmias supraventriculares</li> <li>• Arritmias ventriculares</li> <li>• Necesidad marcapasos</li> <li>• Necesidad de DAI</li> </ul>
<b>Variables ECG</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ritmo ECG</li> <li>• Trastorno de la conducción</li> <li>• Anchura QRS</li> <li>• Tipo de arritmias</li> </ul>
<b>Variables analíticas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NT-proBNP (ng/dl)</li> </ul>
<b>Variables ecocardiográficas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dimensiones VI y FEVI</li> <li>• Dimensiones VD</li> <li>• TAPSE</li> <li>• Onda s´</li> <li>• FAC</li> <li>• Índice de Tei</li> <li>• Gradiente transpulmonar</li> <li>• Gradiente AD-VD</li> <li>• Otras secuelas</li> </ul>
<b>Variables RMC</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Volúmenes ventriculares <ul style="list-style-type: none"> <li>- VTDVD</li> <li>- VTSVD</li> <li>- VTDVI</li> <li>- VTSVI</li> </ul> </li> <li>• FEVD</li> <li>• FEVI</li> <li>• FR de IP</li> <li>• Presencia de fibrosis</li> </ul>

## 4.2 **Técnicas de imagen**

### 4.2.1 **Ecocardiograma**

En todos los pacientes se realizó una ecocardiografía-2D con equipos Philips® iE33 en el Laboratorio de Ecocardiografía del Hospital Universitario y Politécnico La Fe supervisada por un ecocardiografista de la Unidad de Imagen Cardíaca tras la inclusión en el estudio.

La detección de la IP se basó en imágenes de flujo de color al observarse un chorro diastólico en el TSVD dirigido hacia el VD. La duración del flujo y su amplitud permitió distinguir visualmente la IP patológica. A lo largo de los años de inclusión de pacientes en el estudio han ido validándose nuevos métodos cuantitativos de valoración de la IP. El ecocardiografista, con los criterios expuestos en la tabla 1.2, definía si el paciente presentaba una IP grave<sup>40</sup>.

Se obtuvieron datos de tamaño y función del VD según se indica en las guías de ecocardiografía publicadas<sup>44,52</sup>. Se midieron los siguientes parámetros:

- Diámetro basal, medio y longitudinal en un plano apical focalizado en VD, como está descrito en la literatura, siempre que fue posible (*figura 4.2*).
- Área telediastólica (ATD) y telesistólica (ATS) para calcular la FAC en el mismo plano que las medidas previas (*figura 4.3*).
- Desplazamiento longitudinal del anillo tricúspide (TAPSE) (*figura 4.4*).
- Onda s' del anillo lateral tricúspide obtenida por DTI (*figura 4.5*).

- Índice de Tei obtenido por doppler tisular. Se calcula sumando el tiempo de contracción isovolumétrica y el tiempo de relajación isovolumétrica del VD dividido por el tiempo de eyección (figura 4.6).

Se valoró la presencia de IT y su severidad de acuerdo con las recomendaciones y guías vigentes. En aquellos pacientes con IT se pudo estimar el gradiente entre cavidades derechas a partir de la velocidad de la IT con doppler continuo para estimar la PSVD. También se cuantificó el gradiente del flujo pulmonar a partir de la velocidad del flujo en el plano valvular pulmonar con doppler continuo.

Por último, se analizó la presencia de otras secuelas y alteraciones asociadas a la CC de base o a sus correcciones.



Figura 4.2. Medida del diámetro basal de VD en plano apical focalizado en VD.

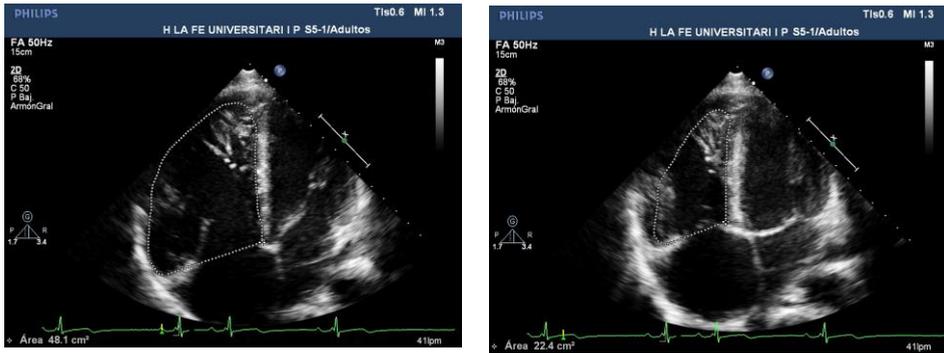


Figura 4.3. Medida del área telediastólica y telesistólica del VD en plano apical focalizado en VD para cálculo de la FAC.

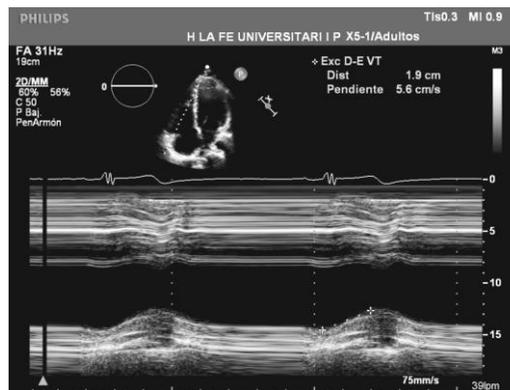


Figura 4.4. Medida del desplazamiento longitudinal del anillo tricúspide (TAPSE).

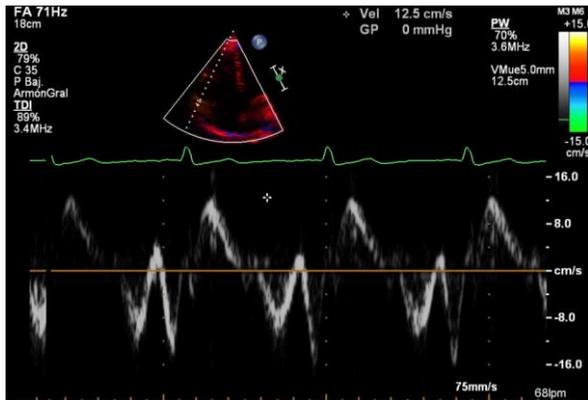


Figura 4.5. Medida de onda s' del anillo tricúspide por DTI.

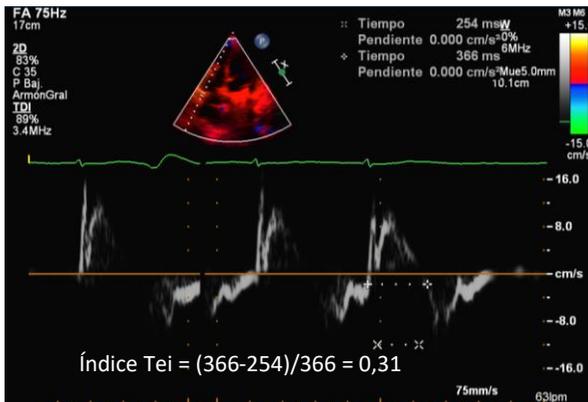


Figura 4.6. Cálculo de índice de Tei.

#### 4.2.2 Resonancia magnética cardiaca

El estudio de resonancia magnética cardiaca se realizó con un equipo de RM de 1,5 T (Siemens Magnetom-Avanto®). Puesto que los estudios con RMC forman parte de la evaluación rutinaria realizada a los pacientes por su

patología, realizándose pruebas cada 3 años y/o si hay cambios clínicos o ecocardiográficos como indican las guías<sup>7</sup>, se registraron los datos del estudio más cercano a la toma de muestras.

Las imágenes de RMC se adquirieron en cortes en dos dimensiones de un grosor de 5 a 10 mm y con una resolución en el plano de entre 1 y 2 mm. La adquisición de las imágenes se realizó con sincronización electrocardiográfica. En todos los casos se siguió el protocolo habitual de estudio de pacientes con IP que se ha desarrollado en la introducción. Así se realizaron:

- Secuencias de cine SSFP en los planos de dos cámaras, cuatro cámaras y eje corto para valorar la función de ambos ventrículos (*figura 4.7*). Las superficies endocárdicas fueron trazadas para obtener los volúmenes telediastólicos y telesistólicos a partir de imágenes adquiridas en el eje corto tanto de VI como de VD. La fracción de eyección de ambos ventrículos se calculó de forma automática por método de Simpson usando la ecuación (volumen telediastólico - volumen telesistólico) / volumen telediastólico). Se completaron los estudios con planos específicos para estudio del TSVD y válvula pulmonar (*figura 4.8*). Para el análisis posterior de los resultados se ha considerado el punto de corte de FEVD  $\leq 45\%$  como disfunción significativa de VD puesto que se ha observado que es un predictor de mala evolución tras la cirugía de RVP<sup>75</sup>. Del mismo modo, se ha considerado dilatación significativa de VD el punto de corte de VTDVDi  $\geq 160$  ml/m<sup>2</sup>, puesto que es el valor que indican las guías como uno de los parámetros para indicar cirugía<sup>7</sup>.
- Secuencias de contraste de fase a nivel de la válvula pulmonar, en un plano perpendicular a la arteria pulmonar principal, para calcular el

volumen y la fracción regurgitante pulmonar, considerando IP grave si la FR es mayor del 40% (figura 4.9)

En aquellos casos en los que se pudo administrar contraste paramagnético (gadolinio) se realizaron secuencias para valorar la presencia de RTG que indicaran la presencia de fibrosis miocárdica.

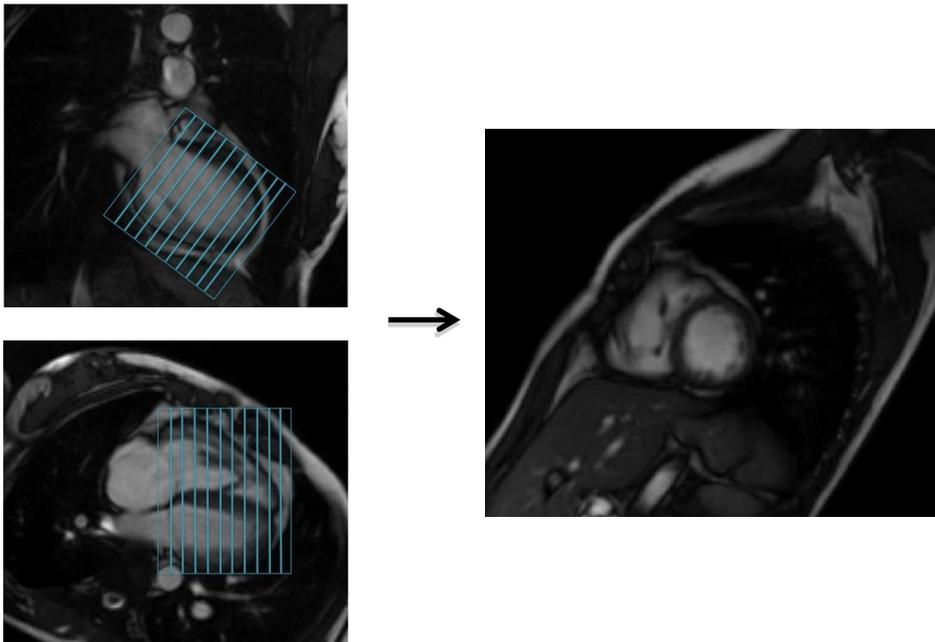


Figura 4.7. Obtención de los planos de eje corto para cálculo de volúmenes y fracción de eyección ventriculares.

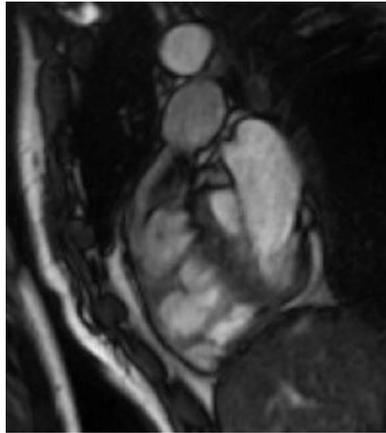


Figura 4.8. Planos específicos de estudio de tracto de salida de ventrículo derecho y válvula pulmonar donde se observa la señal de IP.

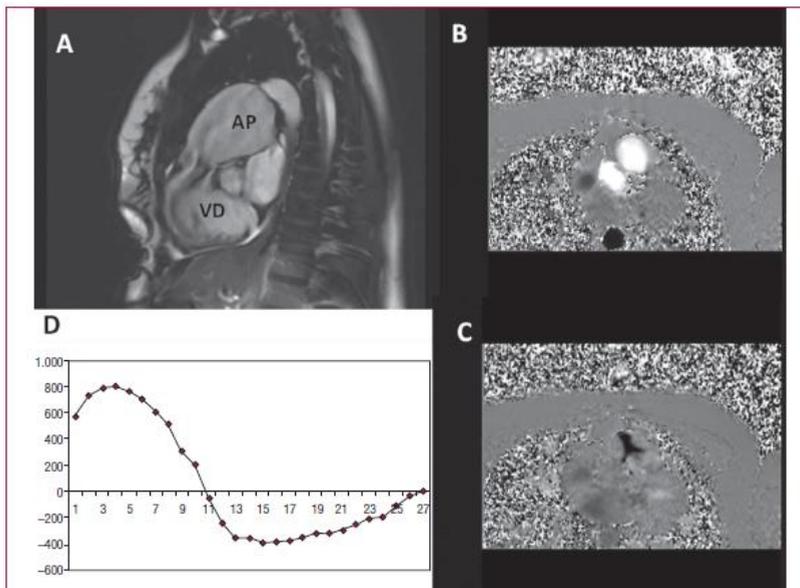


Figura 4.9. Secuencia de contraste de fase en pacientes con IP grave. Imagen adaptada de Gallego<sup>60</sup>.

Se completaron los estudios con secuencias para valorar la anatomía cardiaca completa y estudiar la asociación de otras alteraciones o secuelas según la CC de base y la corrección quirúrgica realizada, como alteraciones a nivel de las ramas pulmonares.

#### **4.3 Análisis de la expresión de AR- $\beta$ y GRK en FMLC**

El material biológico a estudio fue una muestra de sangre fresca (5 ml) obtenida por venopunción y conservada en un tubo con anticoagulante (EDTA). Tras la inclusión de los pacientes y un año tras la cirugía, se extrajeron dos muestras de sangre para realizar la determinación de la expresión génica de los AR- $\beta$  ( $\beta_1$  y  $\beta_2$ ) y de sus quinasas moduladoras (GRK2, GRK3 y GRK5) mediante RT-PCR (transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real) en el laboratorio del departamento de Farmacología Cardiovascular de la Facultad de Farmacia (Universidad de Valencia).

Inmediatamente tras la extracción, se realizó el aislamiento de linfocitos mediante gradiente de Ficoll<sup>134</sup> a través de los reactivos Ficollpaque Plus (GE Healthcare®) o Lymphoprep<sup>TM</sup>, reactivos estériles y libres de endotoxinas diseñado para el aislamiento puro de linfocitos por gradiente de densidad (*figura 4.10*). El pellet de células linfocitarias obtenido se etiquetó y se conservó a -80°C hasta su procesado en el laboratorio.

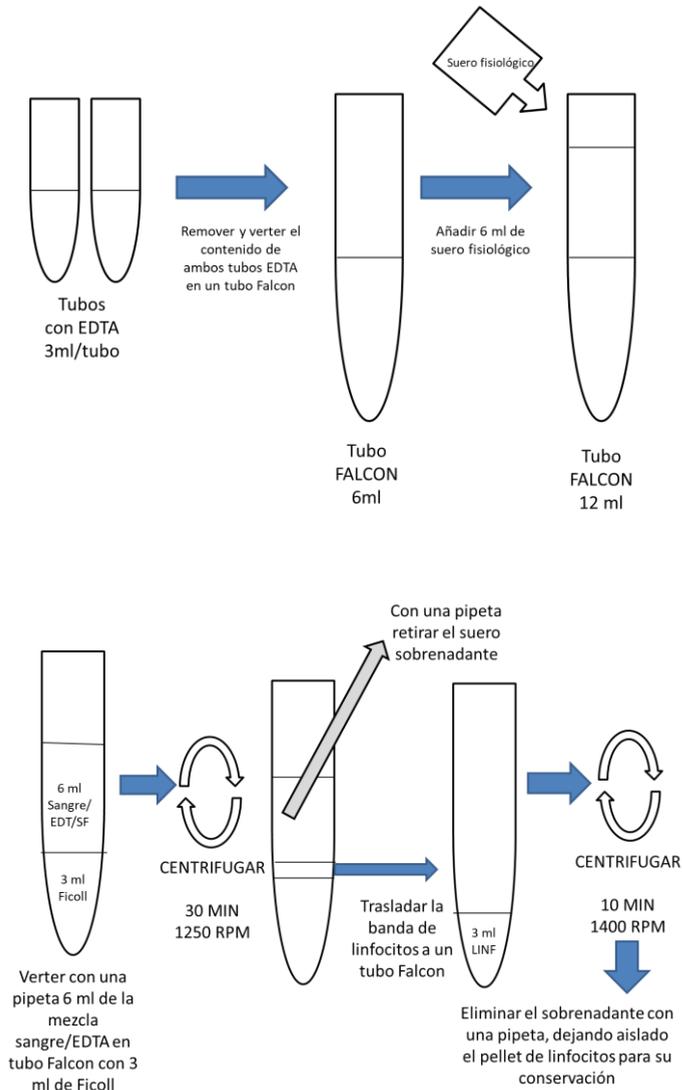


Figura 4.10 Aislamiento de linfocitos mediante gradiente Ficoll.

### **Extracción de ARN total**

En una primera fase se efectuó la extracción de ácido ribonucleico (ARN). Los experimentos se realizan en condiciones apropiadas libres de RNasas, en una zona del laboratorio habilitada únicamente para la extracción de ARN cuidadosamente higienizada y tratada con inhibidor de RNasas (RNaseZAP®, Sigma). Para ello, se homogeniza el pellet de células en 1 ml de reactivo de aislamiento Tripure Isolation Reagent<sup>135</sup> (Roche Applied Science®). A partir del homogenizado de las muestras se realiza una primera centrifugación a 12.000 g, durante 10 minutos a 4°C, con el fin de eliminar restos de tejido y/o restos celulares no lisados. Tras la centrifugación se recupera el sobrenadante que debe permanecer a temperatura ambiente durante 5 minutos. Pasado ese tiempo se añade a la muestra un volumen de 200 µl de Cloroformo por 1ml de reactivo Tripure y se mezcla intensamente durante 15 segundos en vórtex. Tras ello se deja 10 minutos a temperatura ambiente para que las fases se separen. En este punto el ARN se disuelve en la fase acuosa y queda en la parte superior. Para facilitar la separación y precipitación del ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico, se realiza una segunda centrifugación a 12.000 g durante 15 minutos a 4°C. Se recoge la fase superior acuosa que contiene el ARN total y se añade un volumen de 500µl de Isopropanol. Se deja la mezcla en reposo durante 10 minutos a temperatura ambiente con este reactivo que facilita la precipitación de los ácidos nucleicos. Transcurrido el tiempo, se realiza una tercera centrifugación a 12.000 g durante 10 minutos a 4°C, obteniendo un pellet de ARN total. Se descarta el sobrenadante y se lava el pellet con 1 ml de Etanol diluido al 70% en agua tratada con DEPC (dietil pirocarbonato). Para recoger el pellet lavado, se realiza una última centrifugación a 8.000 g durante 5 minutos a 4°C. Finalmente, se descarta el sobrenadante, quedándonos con el pellet que se somete a secado bajo la luz de un flexo el tiempo necesario. Para

terminar, el pellet es resuspendido y disuelto en el volumen mínimo necesario de agua tratada con DEPC e inmediatamente cuantificado y almacenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso posterior.

### **Cuantificación y análisis cualitativo de la integridad del ARN**

El análisis cualitativo de la integridad y cuantificación del ARN se realiza utilizando el sistema automático *Experion<sup>TM</sup>*® (Bio-Rad®) (figura 4.11) basado en la tecnología *Lab-on-a-Chip* de separación, detección y análisis mediante electroforesis microfluídica que, además de permitir usar menor cantidad de ARN unificando cuantificación y análisis de la calidad, nos proporciona mayor precisión y sensibilidad. Las muestras se procesan conjuntamente para evitar sesgos intraoperador.



Figura 4.11. *Experion<sup>TM</sup>*® (Bio-Rad®)

Los chips del kit usado (Bio-Rad®) fueron cargados siguiendo las condiciones del fabricante. El gel fue filtrado a 1.500 g durante 10 minutos. Transcurrido ese periodo, se preparó el gel teñido con el fluorocromo específico de ARN proporcionado en el kit. Este gel teñido se hizo pasar por

los micro-canales del chip gracias a un sistema de llenado por aire comprimido. Seguidamente, 1  $\mu$ l de cada muestra de ARN total se desnaturalizó a 70°C durante 2 minutos y pasado ese tiempo, se cargó en cada uno de los pocillos conteniendo tampón de carga. Las muestras se separaron a través del gel microfluídico gracias a la aplicación de un determinado voltaje en cada pocillo, y mediante excitación por láser del colorante fluorescente se visualizaron las bandas de ARN. El chip se analizó gracias al soporte Experion™ System V2.1 (Bio-Rad®). El programa informático nos dio los valores de concentración (ng/ml) por muestra, así como el valor de cociente de área entre los picos de ARN ribosomales (razón 28S/18S) representativo de la calidad de la muestra (valores próximos a 2), visualizando el resultado gracias a un electroferograma y un gel virtual.

### **Transcripción Reversa**

Para la reacción de Transcripción Reversa (RT) de los ARN obtenidos de cada muestra se utiliza una enzima de alta sensibilidad, Improm-II (Promega Corp. Madison, USA), que permite partir de cantidades inferiores de ARN total (0,1-1  $\mu$ g).

Tras incubar el ARN (500 ng) con el cebador oligo (dT16) (250 ng) en agua tratada con dietil pirocarbonato (agua-DEPC) a 70°C y luego enfriado en hielo, se llevó a cabo la reacción de RT conteniendo tampón de reacción ImProm-II TM®, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM de cada deoxinucleósido trifosfato, 20 U del inhibidor de ribonucleasas recombinante RNAsin® (Promega Corp. Madison, USA) y 1  $\mu$ l de Transcriptasa reversa ImProm-IITM® (Promega Corp. Madison, USA) con un volumen final de 20  $\mu$ l. Se realizó un primer ciclo de hibridación a 25°C durante 5 min, y seguidamente, la reacción de extensión transcurrió a 42°C durante 60 minutos.

Transcurrido este periodo, la enzima fue inactivada incubando la muestra a 70°C durante 15 min. En todos los casos, una vez finalizadas las reacciones, el ADN complementario sintetizado se almacenó a -20°C hasta su posterior uso.

### **Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (PCR)**

En una segunda fase, la cuantificación de la expresión génica se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real, que actualmente es el método más sensible y preciso para la detección de niveles de ARNm. Este método permite cuantificar la expresión génica a través del empleo de compuestos con propiedades fluorescentes, en nuestro caso, sondas Taqman® usando el termociclador *GeneAmp 7500 Fast system*®.

Así pues, los ARNm codificantes para cada uno de los diferentes subtipos de AR- $\beta$  ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ), cinasas de receptores acoplados a proteínas G (GRK2, GRK3 y GRK5) y para GAPDH como control interno, se cuantificaron mediante Taqman® RT-PCR a tiempo real usando el termociclador GeneAmp 7500 Fast system. Diluciones 1/10 de la reacción de la RT previa, se analizaron por duplicado mediante ensayos Taqman® de expresión génica (Taqman® Gene Expression Assays, Applied Biosystems), consistentes en una mezcla 20X de cebadores y sonda Taqman® MGB (minor Groove binder; ligando de unión al surco menor del ADN) marcada con el fluorocromo 6- FAMTM en el extremo 5' de la sonda y un quencher (o apantallador) no fluorescente en el extremo 3', diseñados para la detección y cuantificación de secuencias génicas específicas por RT-PCR a tiempo real de dos pasos.

Los ensayos Taqman® de expresión génica están optimizados para

alcanzar gran sensibilidad y especificidad en condiciones universales de termociclado, garantizando su reproducibilidad. Las sondas, siempre que fue posible, se diseñaron para hibridar en la unión exon-exon y así mejorar la especificidad de hibridación y evitar la contaminación por ADN genómico (Taqman® Gene Expresión Assays protocol, Applied Biosystems, US). Las sondas específicas fueron:  $\beta$ 1-AR, Hs00265096\_s1;  $\beta$ 2 -AR, Hs00240532\_s1; GRK2, Hs00176395\_m1; GRK3, Hs00178266\_m1; GRK5, Hs00178389\_m1 and GAPDH, Hs99999905\_m1 (Applied Biosystems). Las reacciones se ajustaron a un volumen de 25  $\mu$ l con Taqman® Universal Master Mix (AmpliTaq Gold® DNA Polymerase; Applied Biosystems, US), incluyendo 5  $\mu$ l de la dilución de la reacción de RT y 1,2  $\mu$ l de la mezcla 20X de sonda (250 nM) y cebadores (900 nM) (Taqman® Gene Expresión Assays). El ADN codificante fue amplificado según las condiciones del fabricante: un primer paso de activación de la Polimerasa a 95°C durante 10 minutos y 40 ciclos compuestos de dos pasos: desnaturalización a 95°C durante 15 segundos e hibridación/extensión a 60°C durante 1 minuto.

### **Análisis de los resultados**

Los valores del ciclo umbral (“threshold cycle”, Ct) obtenidos para cada gen en cada reacción se calcularon mediante el programa informático 7500 Fast sequence-detectionsystem (Applied Biosystems, US). Los valores Ct fueron normalizados usando como gen de referencia el GAPDH, siendo  $\Delta$ Ct la diferencia entre Ct del gen estudiado y el de referencia. El valor  $\Delta$ Ct se transformó matemáticamente mediante la expresión  $2^{-\Delta$ Ct, directamente proporcional al número inicial de copias de cada gen<sup>136</sup>.

En resumen, con este método se cuantifica la expresión génica de los AR- $\beta$  ( $\beta$ <sub>1</sub> y  $\beta$ <sub>2</sub>) y de sus quinasas moduladoras (GRK2, GRK3 y GRK5) en la

FMLC, midiéndose las copias de ARNm de cada gen con respecto a un gen de referencia y expresándolo en una fórmula matemática cuyo uso ha sido validado considerando que esta forma de representación es más adecuada que el valor absoluto<sup>136</sup>. El proceso se esquematiza en la *figura 4.12*.

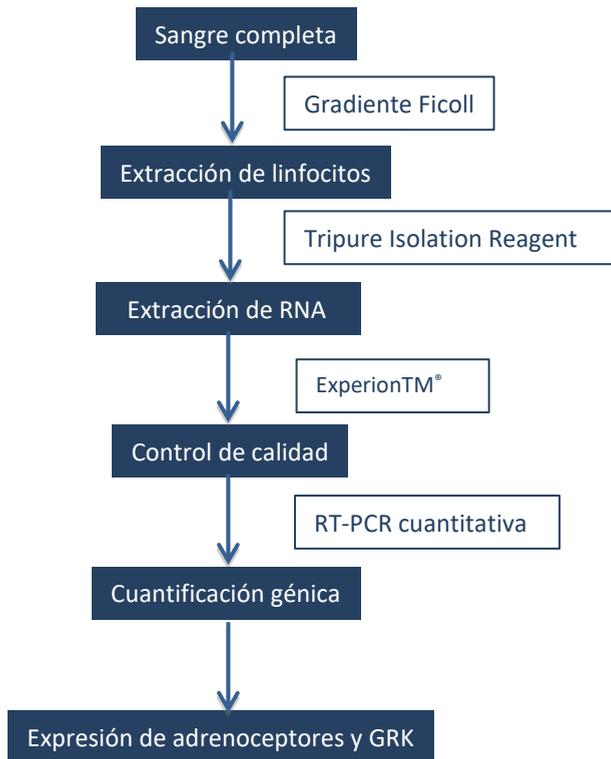


Figura 4.12. Proceso para obtener la expresión de AR y GRK.

## 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Inicialmente se realizó un análisis descriptivo de las variables clínicas y funcionales de la población de estudio. Las variables cualitativas se expresaron como porcentaje y las variables cuantitativas como media  $\pm$  desviación típica o mediana y rango intercuartílico (p25-p75) en función de la normalidad de la distribución analizada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

El análisis de los datos se realizó para responder a los objetivos planteados en este estudio.

### ***Objetivo principal***

Se realizó un análisis descriptivo de la expresión de AR y GRK en la FMLC que presentaron los pacientes con IP grave. Posteriormente se comparó la expresión de los marcadores moleculares descritos en los 3 grupos principales de estudio (controles, pacientes con IP grave y pacientes con IC avanzada). Los valores de AR y GRK se expresaron como mediana y rango intercuartílico (p25-p75) ya que algunas moléculas vulneraban la distribución normal determinada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov en alguno de los grupos. La comparación de la expresión molecular en los 3 grupos de estudio se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis con comparaciones múltiples.

Adicionalmente, se realizó una comparación de las características basales a nivel clínico y funcional entre los pacientes con IP y los pacientes con IC avanzada mediante la prueba de  $\chi^2$  para variables cualitativas y

mediante la t-Student o U de Mann\_Whitney para variables cuantitativas según correspondiera por la distribución de los datos.

### **Objetivos secundarios**

Se comparó la expresión de AR y GRK en la FMLC dentro del grupo de pacientes con IP grave según su situación clínica y los datos de valoración del VD mediante la U de Mann Whitney por vulnerar en alguno de los grupos el supuesto de normalidad. Además, se correlacionó la expresión de estos biomarcadores moleculares con datos clínicos, electrocardiográficos y de imagen del VD mediante correlaciones bivariadas (“r” de Pearson).

Posteriormente, se realizó un análisis comparativo de la expresión de AR y GRK en la FMLC y de las características clínicas, electrocardiográficas y de valoración del VD de los pacientes con IP con indicación de RVP según criterio clínico en el momento de la inclusión frente a los pacientes sin indicación de RVP. Las variables cualitativas se compararon mediante la prueba de  $\chi^2$  y las variables cuantitativas, incluidos AR y GRK, mediante el test T de Student o U de Mann Whitney según la distribución de los datos.

A continuación, se analizó la expresión génica de AR y GRK en los pacientes con IP intervenidos de RVP en el seguimiento. Se comparó el patrón de expresión génica de este subgrupo antes de la cirugía con el grupo control mediante la prueba de U de Mann Whitney. Posteriormente, se realizó un análisis de comparaciones múltiples de la expresión de los biomarcadores en el grupo control, los pacientes con indicación de RVP y sin indicación de RVP. Por último, se analizó el patrón de expresión tras la cirugía en los pacientes con IP intervenidos mediante la prueba T de

Wilcoxon para muestras apareadas por la distribución de los datos. También se compararon los cambios en los datos clínicos, electrocardiográficos y de valoración de VD tras la cirugía mediante el test t de Student para muestras apareadas.

Como norma general, se consideró significación estadística cuando se alcanzó un estadístico  $p < 0,05$  para todas las pruebas realizadas. La significación clínica de los resultados queda referida en el apartado correspondiente y comentada en la discusión. Se utilizaron los paquetes estadísticos SPSS 15, STATA versión 14.0 y Graph Pad software para el análisis de los datos.

## **6. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONSENTIMIENTO INFORMADO**

El proyecto se basó en el respeto y la información al paciente y se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Fue presentado y aceptado por el Comité Ético del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Anexo II). El estudio incluyó un modelo específico de consentimiento informado que fue explicado a los pacientes y que tuvieron que firmar antes de ser incluidos (Anexo I). El consentimiento fue entregado por alguno de los investigadores del estudio.

El proyecto contó con el apoyo y la colaboración de la Unidad de Cardiopatías Congénitas del Adulto y de facultativos del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, donde se desarrolló el proyecto. Además, los trabajos experimentales se realizaron en

el Laboratorio de Farmacología Vascular de la Facultad de Farmacia (Universidad de Valencia), con la ayuda del personal docente e investigador.

El estudio tuvo una naturaleza observacional por lo que no se llevó a cabo ninguna intervención clínica ni farmacológica sobre los pacientes. La inclusión en el mismo no supuso ningún tipo de ventaja ni desventaja para los pacientes en comparación con los enfermos no incluidos.

La firmante de este proyecto se encargó de la custodia y confidencialidad de los datos obtenidos en el estudio.



## **V. RESULTADOS**

---



---

## 1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

### 1.1 Inclusión de pacientes

El período de inclusión de pacientes en el estudio comenzó en diciembre de 2011 y concluyó en julio de 2015. Se incluyeron pacientes no consecutivos diagnosticados de IP grave seguidos en la Unidad de Cardiopatías Congénitas del Adulto del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Los pacientes fueron incluidos en la visita de seguimiento programada para control de su CC si cumplían los criterios de inclusión y exclusión referidos en el apartado previo. Ningún paciente rehusó la participación en el estudio. En el estudio se incluyeron 35 pacientes con IP grave.

### 1.2 Características de la población de estudio

En la población de pacientes con IP, 19 fueron hombres (54,3% de la muestra) y 16 mujeres (45,7%) con una edad media de  $32,2 \pm 10,9$  años. Respecto a la cardiopatía de base, la mayor parte de pacientes presentaban TF (65,7% de la población) como se muestra en la *figura 5.1*. Tres de los pacientes con TF asociaban otros defectos congénitos, en un caso una anomalía coronaria, otro paciente presentaba estenosis severa de ramas pulmonares y otro una estenosis del tronco braquiocefálico. De los pacientes con estenosis pulmonar, tres pacientes asociaban una CIA ostium secundum y tres pacientes CIV, uno de los cuales también presentaba un ductus arterioso permeable. El paciente con estenosis subinfundibular también asociaba CIV.

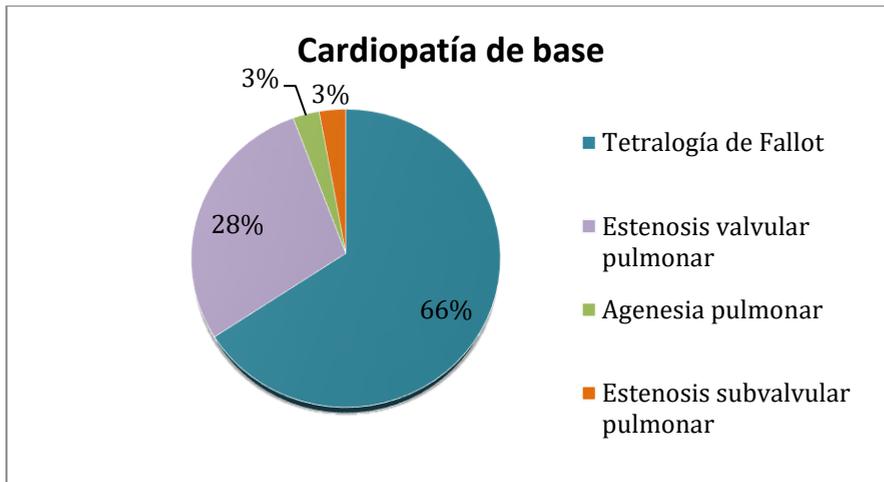


Figura 5.1. Cardiopatía de base de la población de pacientes con IP.

Nueve pacientes (25,7 %) habían sido sometidos en la infancia a una intervención paliativa mediante una fístula sistémico-pulmonar. Se realizó cirugía correctora en todos los pacientes, excepto en uno que tenía agenesia de la válvula pulmonar. La mediana de la edad en el momento de la intervención fue de 3,5 años (rango intercuartílico 2-7 años). En el 80% se implantó un parche transanular y en el resto se realizó una valvulotomía pulmonar asociando en un paciente una ampliación infundibular con un parche.

Con respecto a las características clínicas de los pacientes en el momento de la inclusión, el 77,1% se encontraba en clase funcional I de la NYHA. De los 35 pacientes, 8 de ellos (22,9%) habían presentado arritmias auriculares, 2 habían presentado síncope, 3 pacientes taquicardia ventricular no sostenida y en 2 pacientes se habían registrado TVS por lo que eran portadores de DAI. El 91,4% estaba en ritmo sinusal, con una duración media del QRS de  $143,2 \pm 31,8$  ms. A uno de los pacientes se le había

implantado un marcapasos antes de la inclusión. El resto de los datos se muestran en la *tabla 5.1*.

Tabla 5.1. Características basales de los pacientes con IP grave.

Clase funcional, n (%)	
- NYHA I	27 (77,1)
- NYHA II	8 (22,9)
Factores de riesgo cardiovascular, n (%)	
- Hipertensión arterial	7 (20)
- Dislipemia	4 (11,4)
- Tabaquismo	3 (8,6)
- Diabetes mellitus	0 (0)
Tratamiento, n (%)	
- Diuréticos	4 (11,4)
- Betabloqueantes	10 (28,6)
- IECA	7 (20)
Características ECG	
- Ritmo sinusal, n (%)	32 (91,4)
- Duración de QRS (ms)	143,2 ± 31,8

ECG: electrocardiograma, IECA: inhibidor de enzima convertidora de angiotensina.

En el ecocardiograma se analizaron los datos ya referidos en la tabla 4.2. En la *tabla 5.2* se muestran los valores de dimensión y función del VD. Además, 2 pacientes asociaban IT significativa y 3 pacientes EP ligera o ligera-moderada. El 80% de los pacientes mostraron un diámetro basal del VD > 42 mm, lo que indica que la mayor parte de los pacientes presentaban dilatación del VD según el dato ecocardiográfico más utilizado a nivel práctico, siendo el diámetro basal medio de 49,24 ± 8,02 mm. Sin embargo,

a nivel de los parámetros que valoran la función sistólica del VD, los valores medios se encuentran dentro de los rangos de normalidad y sólo un 11,4% de los pacientes presentan una FAC <35%, por lo que la mayor parte de la muestra no presenta disfunción significativa del VD según los datos ecocardiográficos.

Se disponía de un estudio de RMC en todos los pacientes, que había sido realizada dentro de su seguimiento clínico, con una diferencia media de tiempo respecto a la extracción de 7,5 meses. En la *tabla 5.3* se muestran los datos de valoración de ambos ventrículos medidos por RMC en pacientes con IP. El 37,1% presentaba disfunción del VD según los criterios de RMC (FEVD  $\leq$  45%) y el 45,7%, dilatación significativa del VD (VTDVDi por RMC  $\geq$  160 ml/m<sup>2</sup>). Se administró contraste iv (gadolinio) en todos los casos, excepto 2 pacientes, y se observó realce tardío en el VD de 7 pacientes (20%) y en el VI de 3 pacientes (8,6%). Se realizaron secuencias de contraste de fase para estimar la FR de la IP por métodos directos siendo la FR media de  $47,7 \pm 13,7\%$ .

Tabla 5.2. Valores ecocardiográficos de valoración del VD.

Diámetro basal VD (mm)	49,24 ± 8,02
Diámetro medio VD (mm)	42,33 ± 8,1
Diámetro longitudinal VD (mm)	80,93 ± 10,06
Área telediastólica VD (mm <sup>2</sup> )	28,60 ± 7,77
Área telesistólica VD (mm <sup>2</sup> )	15,90 ± 4,75
FAC (%)	44,59 ± 7,93
TAPSE (mm)	19,23 ± 3,88
S' lateral (cm/s)	10,76 ± 2,34
Índice de Tei	0,23 ± 0,11
Gradiente máximo VP (mmHg)	16,2 ± 9,79
Gradiente VD-AD (mmHg)	26,77 ± 7,72
Diámetro telediastólico VI (mm)	42,74 ± 5,47
Diámetro telesistólico VI (mm)	28,06 ± 4,19
FEVI (%)	66,76 ± 10,13

Tabla 5.3. Valores ventriculares medidos por RMC.

VTDVDi (ml/m <sup>2</sup> )	155,2 ± 27,7
VTDVSi (ml/m <sup>2</sup> )	78,6 ± 21,5
FEVD (%)	47,0 ± 10,3
VTDVli (ml/m <sup>2</sup> )	70,1 ± 13,9
VTSVli (ml/m <sup>2</sup> )	27,6 ± 8,4
FEVI (%)	59,7 ± 8,3

## 2. ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE AR Y GRK EN LA FMLC DE PACIENTES CON INSUFICIENCIA PULMONAR

Se comparó la expresión de los AR y GRK en la FMLC obtenidos de muestras sanguíneas de los 3 grupos de estudio: controles, pacientes con IP grave y pacientes con IC.

### 2.1 Características de los grupos control e IC

Las comparaciones se realizaron con 22 controles sanos (62% varones con una media de edad de 36,7 ± 5,2 años) y 13 pacientes con IC avanzada (76,9% varones con una media de edad de 47,5 ± 17,1 años). Los pacientes con IC presentaban miocardiopatías de causa no isquémica

(diámetro telediastólico VI:  $67,6 \pm 13,7$  mm; diámetro telesistólico VI:  $57,5 \pm 15$  mm; FEVI:  $22,5\% \pm 16,6\%$ ).

Adicionalmente en la *tabla 5.4* se comparan las características clínicas de los pacientes con IP e IC. Los pacientes con IC eran mayores, con peor situación clínica y mayores niveles de NT-proBNP, por lo que tenían mayor necesidad de tratamiento diurético. La tasa de tratamiento con betabloqueantes en el grupo de IC era baja por encontrarse en un estadio avanzado de su enfermedad, con mala tolerancia hemodinámica.

Tabla 5.4. Características basales de los pacientes con IP grave e IC.

	<b>Insuficiencia pulmonar</b>	<b>Insuficiencia cardiaca</b>	<b>p*</b>
Varones, n (%)	19 (54,3)	10 (76,9)	0,154
Edad (años)	32,2 ± 10,9	47,5 ± 17,1	0,009
Clase funcional, n (%)			
- NYHA I	27 (77,1)	0	< 0,001
- NYHA II	8 (22,9)	0	
- NYHA III-IV	0	13 (100%)	
FRCV, n (%)			
- Hipertensión arterial	7 (20)	5 (38,5)	0,263
- Dislipemia	4 (11,4)	2 (15,4)	0,656
- Diabetes	0	2 (15,4)	0,069
-Antecedentes tabaquismo	3 (8,6)	7 (53,8)	0,002
Tratamiento, n (%)			
- Diuréticos	4 (11,4)	10 (76,9)	< 0,001
- Betabloqueantes	10 (28,6)	5 (38,5)	0,509
- IECA/ARA II	7 (20)	8 (61,5)	0,012
- Inotrópicos	0	5 (38,5)	0,001
NT-proBNP (pg/ml)	113,5 (75,0-190,5)	2649,00 (1580,0-2880,0)	< 0,001

Los valores expresan n (%) o media +/- desviación estándar.

\* test de chi-cuadrado/prueba exacta de Fisher para variables cualitativas y t de Student/U de Mann-Whitney para variables cuantitativas.

## 2.2 **Comparación de los niveles de AR y GRK**

Se realizaron pruebas de normalidad para los niveles de AR y GRK en los 3 grupos de estudio, encontrándose que, excepto la GRK2, el resto de los biomarcadores vulneran el supuesto de normalidad en alguno de los grupos por lo que se realizó la comparación con la prueba de Kruskal-Wallis con comparaciones múltiples.

En la *tabla 5.5* se muestran la mediana y el rango intercuartílico de ARNm de los adrenoceptores  $\beta$  (AR- $\beta$ 1 y AR- $\beta$ 2) y las GRK (GRK2, GRK3, GRK5) según el grupo de estudio.

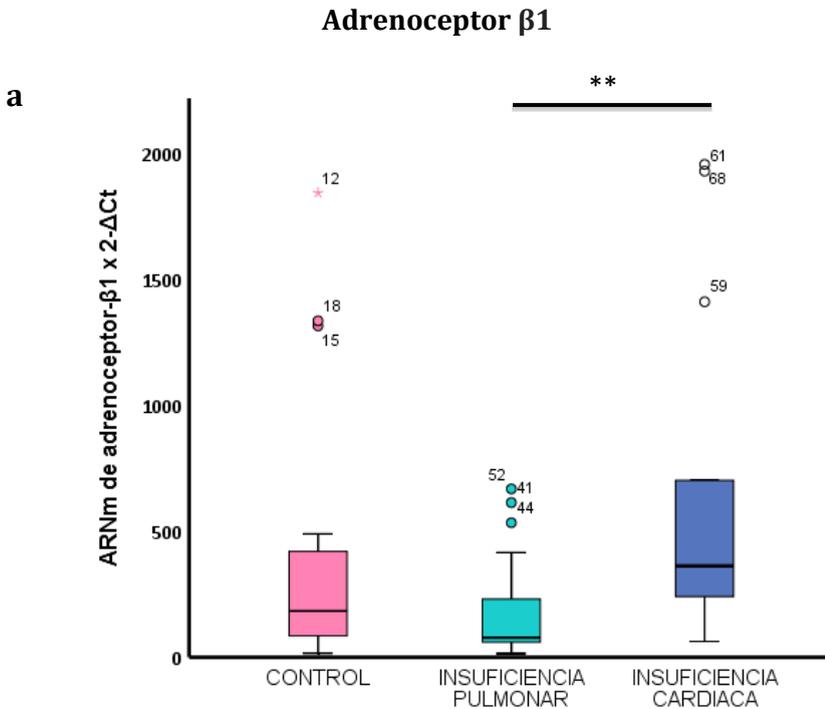
Tabla 5.5. Expresión de AR y GRK según los grupos de estudio.

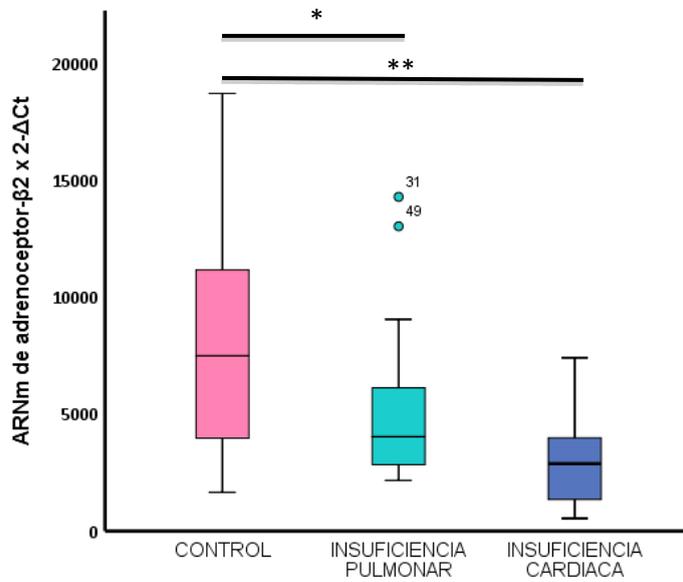
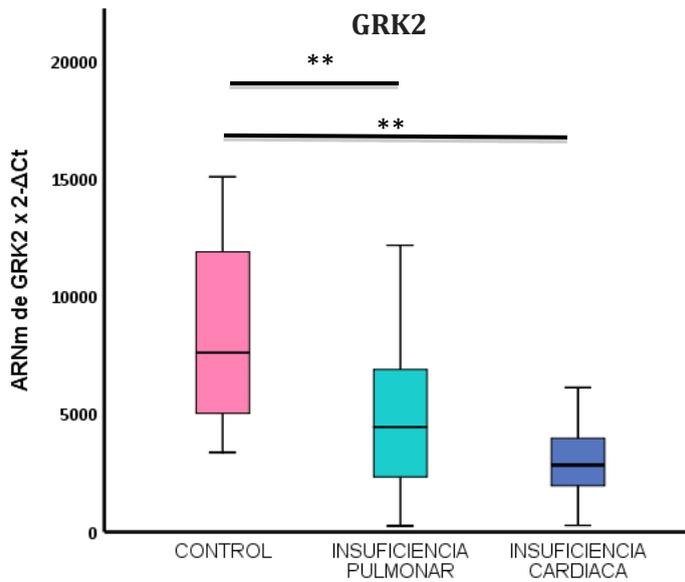
<b>ARNm (2<sup>-ΔCt</sup>)</b>	<b>Controles sanos</b>	<b>Pacientes IP</b>	<b>Pacientes IC</b>	<b>Kruskal-Wallis</b>	<b>Comparaciones múltiples</b>
<b>AR-β1</b>	18,37 (8,44 - 43,32)	7,76 (5,98 - 23,26)	36,27 (17,13 - 105,81)	0,0016	IP vs controles p = 0,078 IP vs IC p = 0,001 IC vs controles p = 0,238
<b>AR-β2</b>	748,49 (384,07 - 1119,44)	402,80 (282,85 - 611,64)	287,46 (127,36 - 478,74)	0,0011	IP vs controles p = 0,025 IP vs IC p = 0,149 IC vs controles p < 0,001
<b>GRK2</b>	760,89 (497,97 - 1233,81)	445,17 (233,36 - 731,75)	284,09 (163,54 - 410,48)	0,0001	IP vs controles p < 0,001 IP vs IC p = 0,135 IC vs controles p < 0,001
<b>GRK3</b>	288,39 (139,42 - 434,29)	159,18 (115,12 - 247,62)	215,37 (156,04 - 352,01)	0,0542	IP vs controles p = 0,057 IP vs IC p = 0,412 IC vs controles p = 0,929
<b>GRK5</b>	298,53 (215,40 - 367,00)	192,85 (116,71 - 276,38)	548,07 (363,15 - 994,84)	0,0004	IP vs controles p = 0,087 IP vs IC p < 0,001 IC vs controles p = 0,091

Como se observa en la *figura 5.2b* y según los resultados obtenidos en el análisis con comparaciones múltiples, se encontraron diferencias significativas en la expresión del AR- $\beta$ 2 en el grupo control frente a los grupos de pacientes con IP e IC: 748,49 (384,07 - 1119,44) frente a 402,80 (282,85 - 611,64) y a 287,46 (127,36 - 478,74) ( $p = 0,001$ ), respectivamente. En los últimos 2 grupos la expresión de AR- $\beta$ 2 está significativamente disminuida con respecto al grupo control (IP frente a controles,  $p = 0,025$ ; IC frente a controles,  $p < 0,001$ ). Estos mismos resultados se obtuvieron cuando analizamos la expresión génica de GRK2 como se muestra en la *figura 5.2c*. Los valores de ARNm en el grupo control son significativamente mayores a los del grupo IP e IC: 760,89 (497,97 - 1233,81) frente a 445,17 (233,36 - 731,75) y a 284,09 (163,54 - 410,48 ( $p < 0,001$ ), respectivamente. Estas diferencias se confirman en el análisis por comparaciones múltiples (IP frente a controles,  $p < 0,001$ ; IC frente a controles,  $p < 0,001$ ).

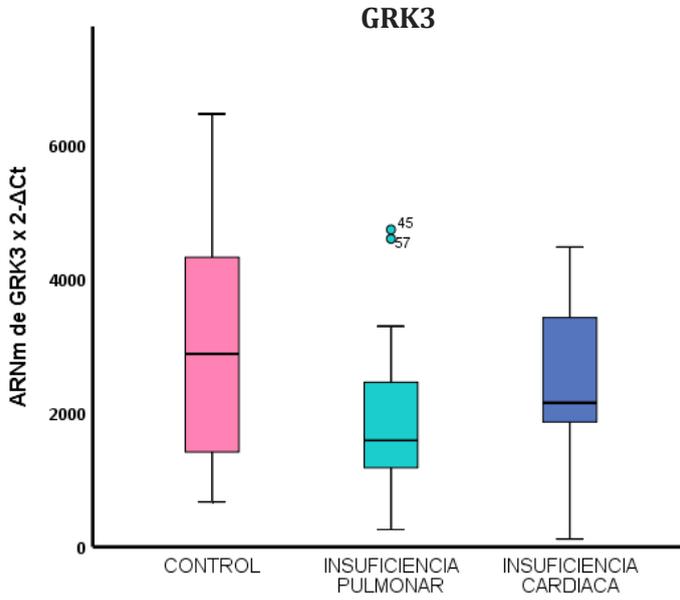
Por otro lado, en el análisis estadístico también se muestran diferencias significativas en la expresión del AR- $\beta$ 1 y GRK5 entre los 3 grupos. En el análisis por comparaciones múltiples en ambos biomarcadores, se observa diferencia en la expresión génica entre los pacientes con IP e IC, aunque no con los controles. Por último, en la expresión de GRK3 las diferencias entre los grupos están en el límite de la significación estadística y en el análisis por comparaciones múltiples se observa que esta diferencia ocurre entre el grupo IP frente al grupo control.

Figura 5.2 a-e. Niveles de ARNm para los receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y  $\beta_2$ , y las quinasas GRK2, GRK3 y GRK5 acopladas a proteínas G en los tres grupos de estudio. Los datos se calcularon como 2-dCt frente a GAPDH como gen de referencia, y la mediana está representada por la línea continua. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  (Test de Kruskal Wallis con comparaciones múltiples).

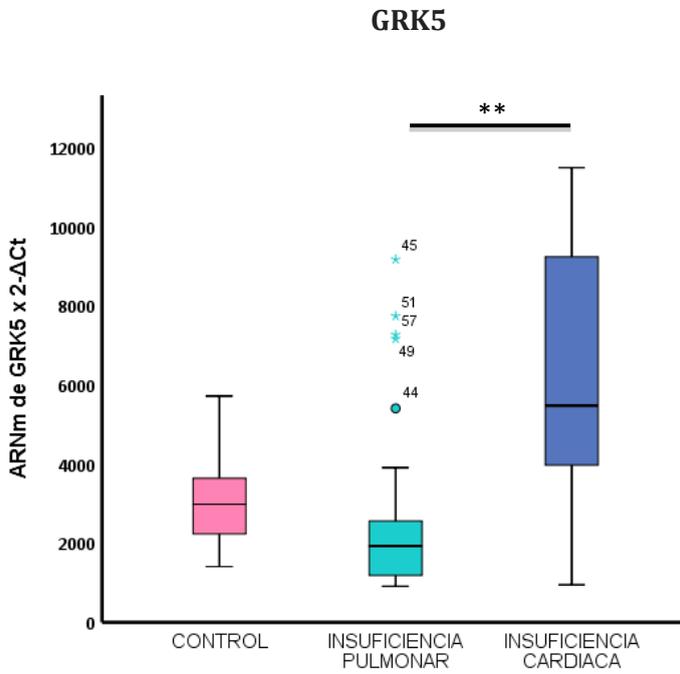


**Adrenoceptor  $\beta 2$** **b****c**

d



e



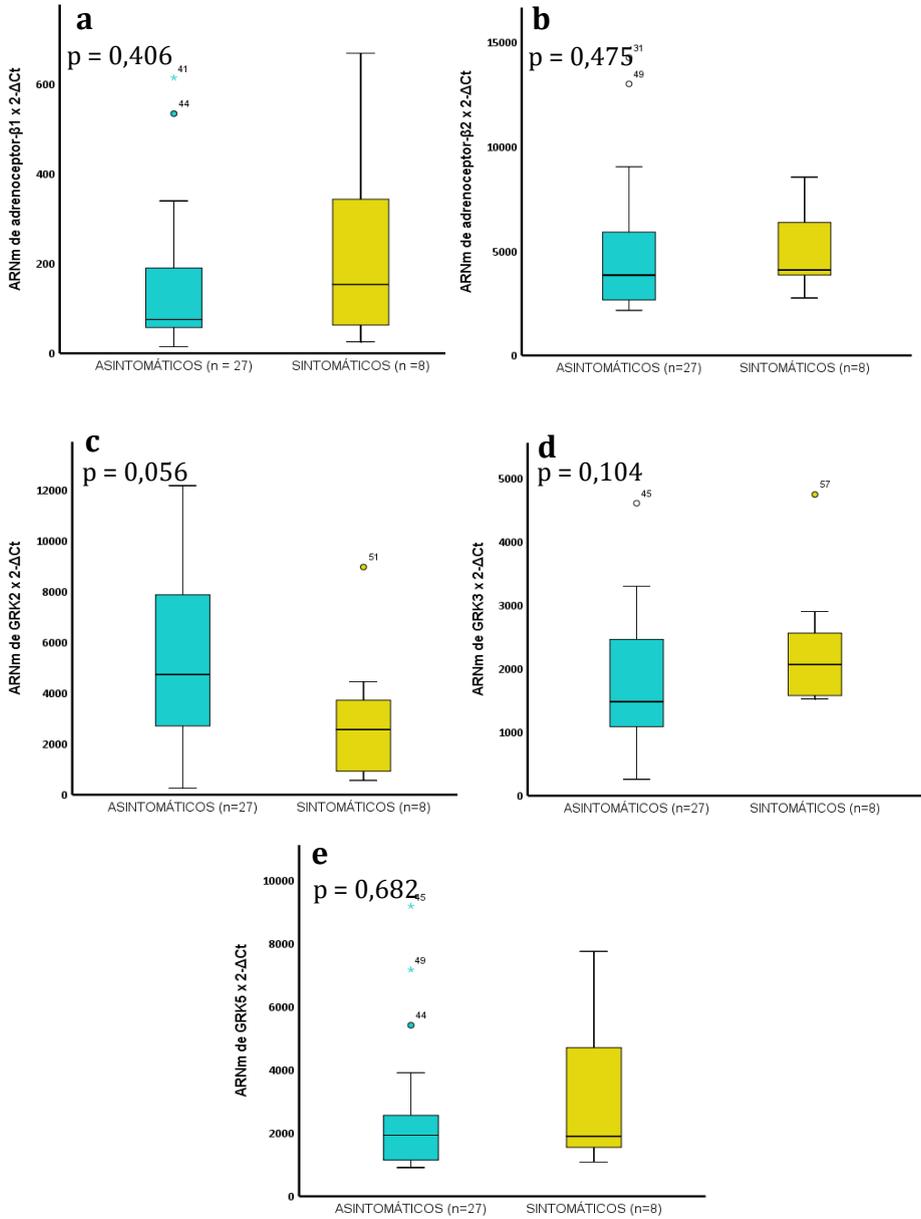
---

### 3. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE AR Y GRK EN LA FMLC DE PACIENTES CON IP EN RELACIÓN CON VARIABLES CLÍNICAS Y DE AFECTACIÓN DE VD

Como objetivo secundario se comparó la expresión génica de AR y GRK en los pacientes con IP grave en relación con variables clínicas y los valores de tamaño y función del VD.

En el análisis comparativo de los pacientes según su situación clínica no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (*figura 5.3 a-e*), aunque los pacientes sintomáticos sí mostraban menor expresión de GRK2 [valores de ARNm de GRK2 en el grupo de pacientes sintomáticos de 256,60 (85,81 – 408,65) vs 473,13 (243,20 –en 841,39) en pacientes asintomáticos] pero sin alcanzar una diferencia con significación estadística ( $p=0,056$ ) como se muestra en la *figura 5.3c*.

Figura 5.3 a-e. Comparación de niveles de expresión de ARNm de los AR y GRK en pacientes con IP relación con la situación clínica (test U de Mann Whitney).



En la población de estudio, las dos CC principales que presentan los pacientes son la TF y la EP aislada. Puesto que los pacientes con TF asocian otras secuelas y esto puede marcar su evolución, se comparó también la expresión génica de AR y GRK entre el grupo de pacientes con TF y los que presentaban otras cardiopatías del TSVD incluidos en el estudio. Los resultados se muestran en la *figura 5.4*, sin observarse diferencias entre ambos grupos.

También se analizó la diferencia de expresión de AR y GRK en función de si los pacientes se encontraban en tratamiento con betabloqueantes sin encontrarse diferencias entre ambos grupos (*figura 5.5*).

Al analizar la expresión génica según la presencia de dilatación y disfunción de VD, tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de expresión de AR y GRK según estos parámetros (*figura 5.6* y *figura 5.7*).

Figura 5.4 a-e. Comparación de niveles de expresión de ARNm de los AR y GRK en pacientes con IP en relación con la CC de base (test U de Mann Whitney).

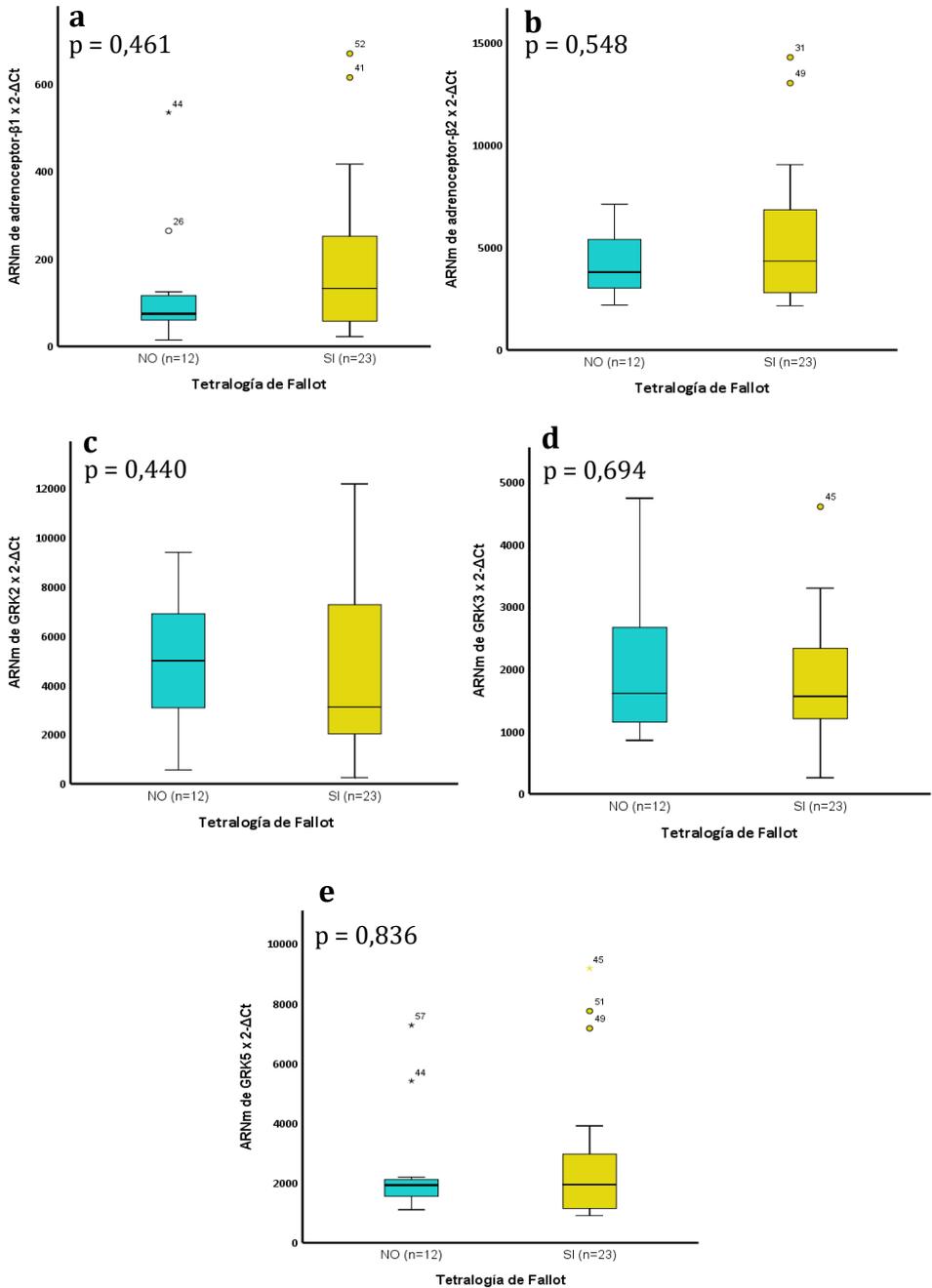


Figura 5.5 a-e. Comparación de niveles de expresión de ARNm de los AR y GRK en pacientes con IP en relación con tratamiento con betabloqueantes (test U de Mann Whitney).

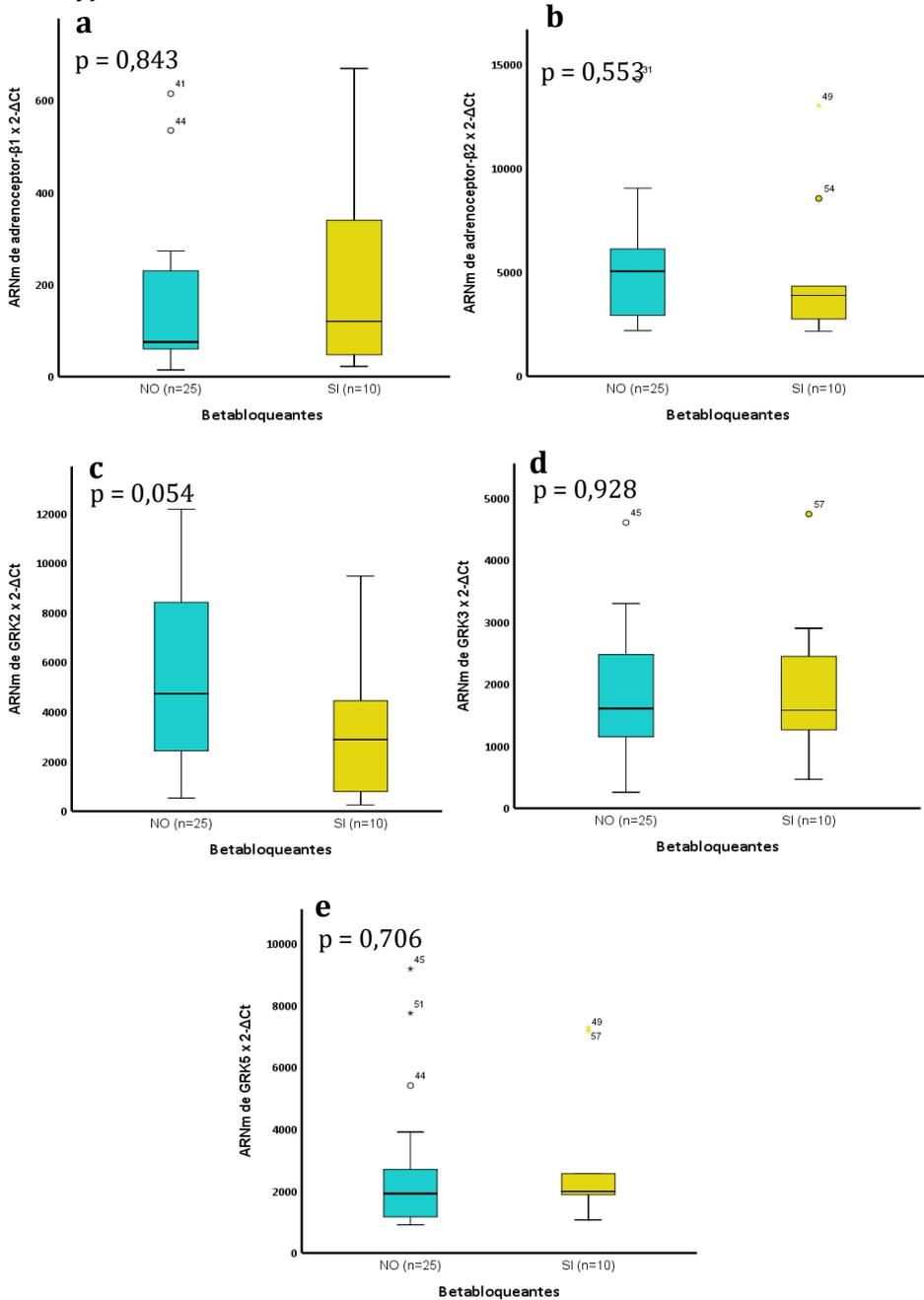


Figura 5.6 a-e. Comparación de niveles de expresión de ARNm de los AR y GRK en pacientes con IP en relación con dilatación de VD (VTDVDi  $\geq 160$  ml/m<sup>2</sup>) (test U de Mann Whitney).

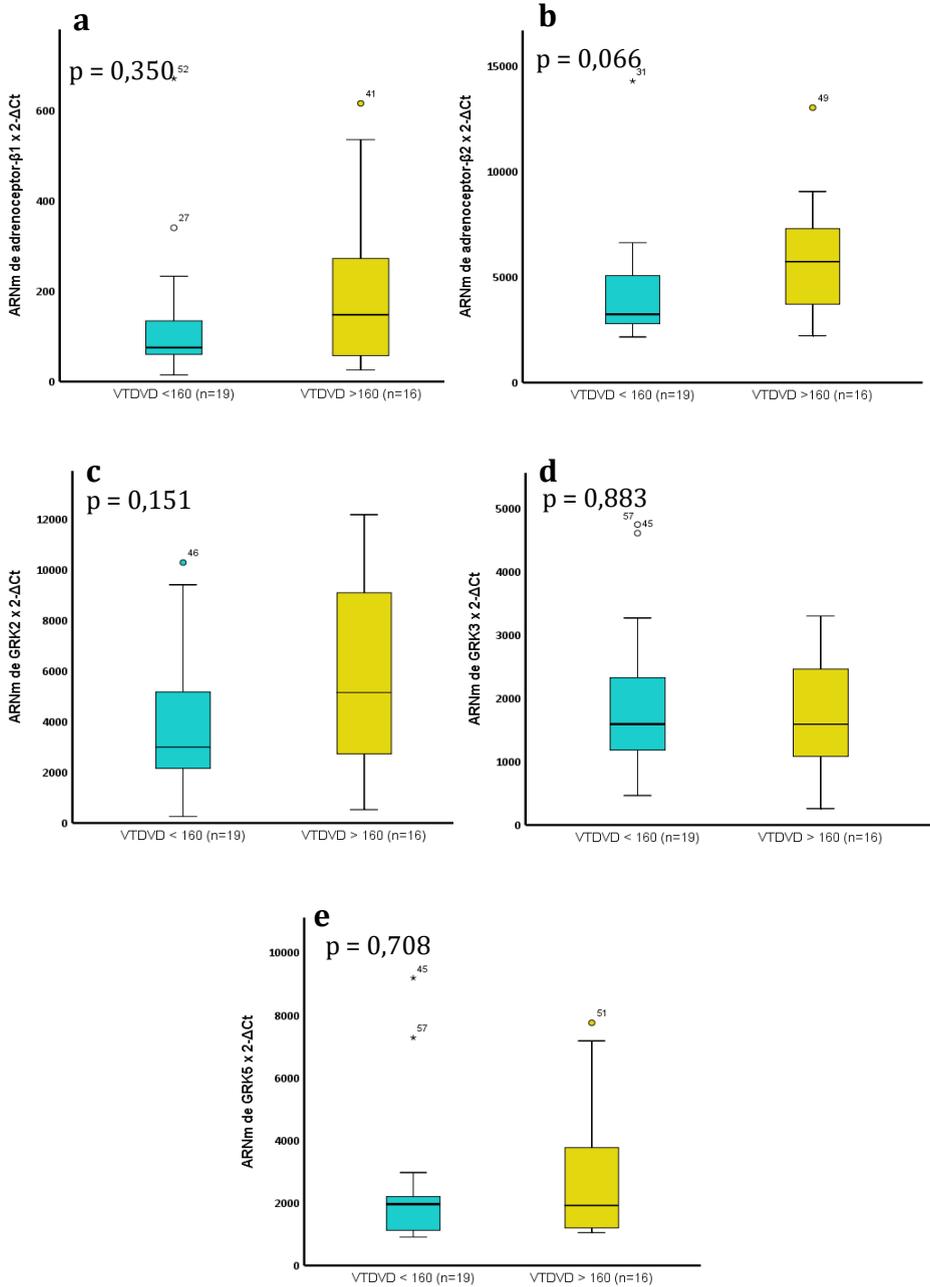
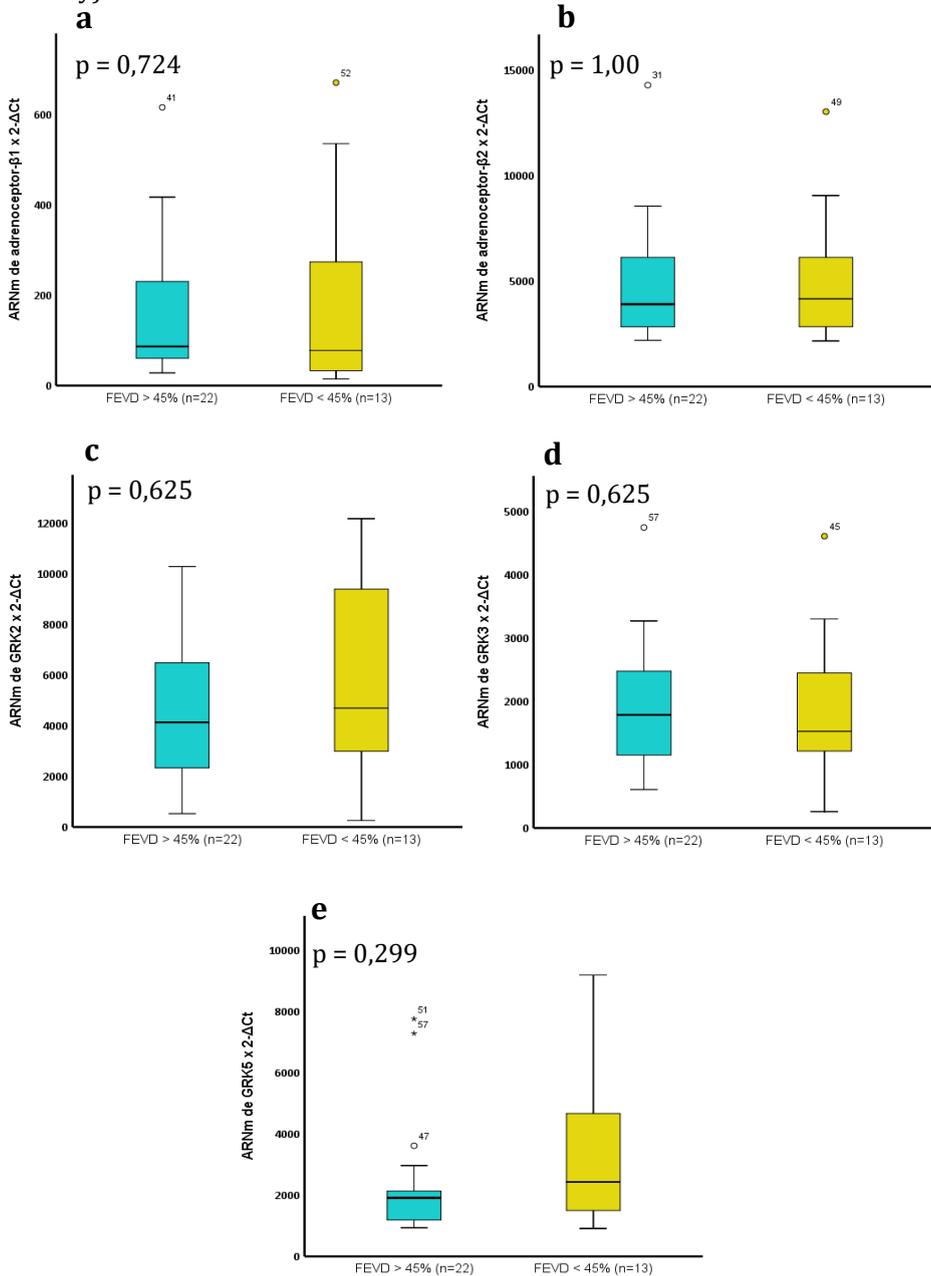


Figura 5.7 a-e. Comparación de niveles de expresión de ARNm de los AR y GRK en pacientes con IP en relación con función de VD (FEVD  $\leq$  45%) (test U de Mann Whitney).



Por último, como se observaron diferencias en la expresión génica de AR- $\beta$ 2, GRK2 y GRK3 en los pacientes con IP frente a los controles, se analizó la correlación de esta expresión con variables cuantitativas que se han relacionado con la evolución de los pacientes como la edad, la anchura del QRS, los volúmenes y la función del VD. Los resultados se muestran en las figuras 5.8-5.10. Únicamente se observó una correlación significativa entre los niveles de expresión de GRK3 y el VTDVDi.

Figura 5.8. Correlación de Pearson entre niveles de ARNm de AR- $\beta$ 2 y determinadas variables clínicas en pacientes con IP.

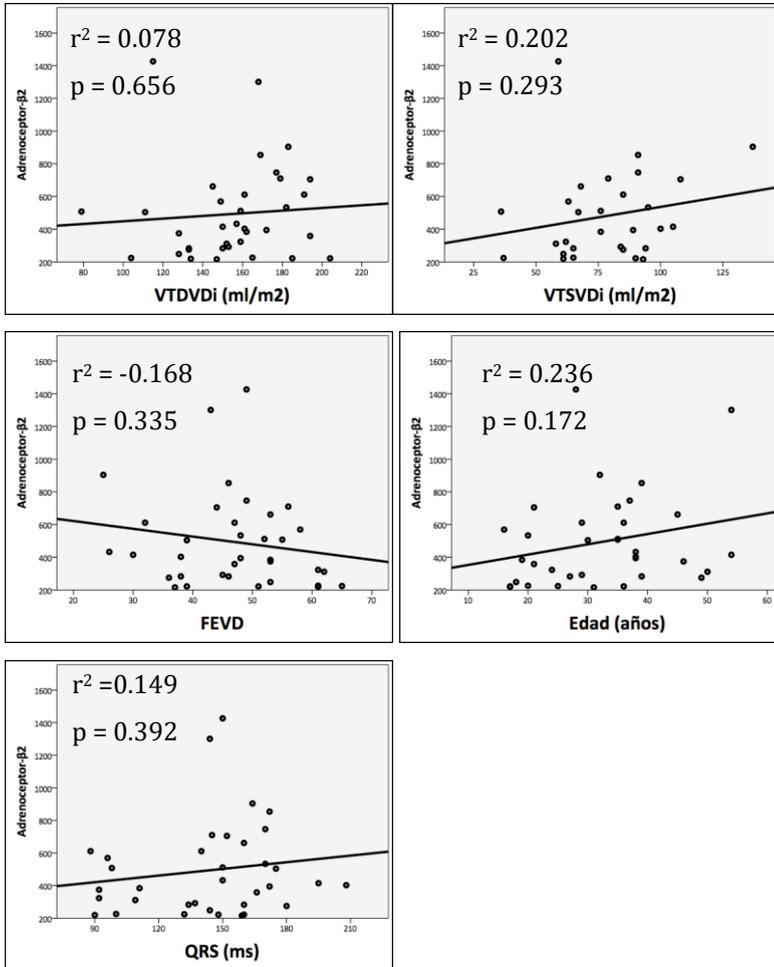


Figura 5.9. Correlación de Pearson entre niveles de ARNm de GRK2 y determinadas variables clínicas en pacientes con IP.

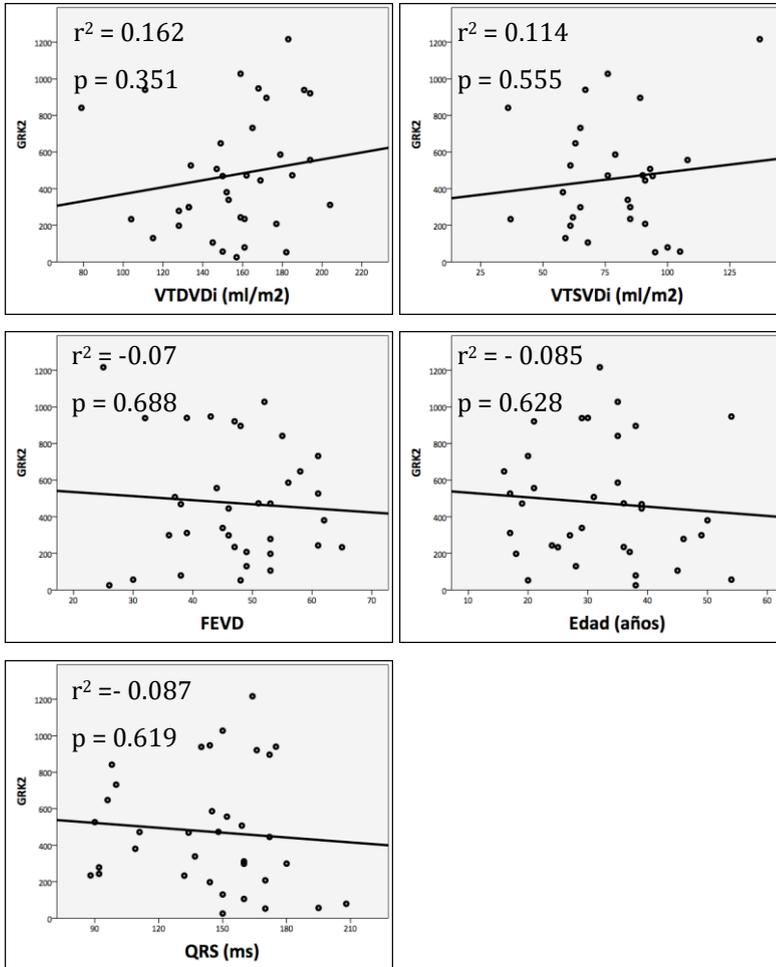
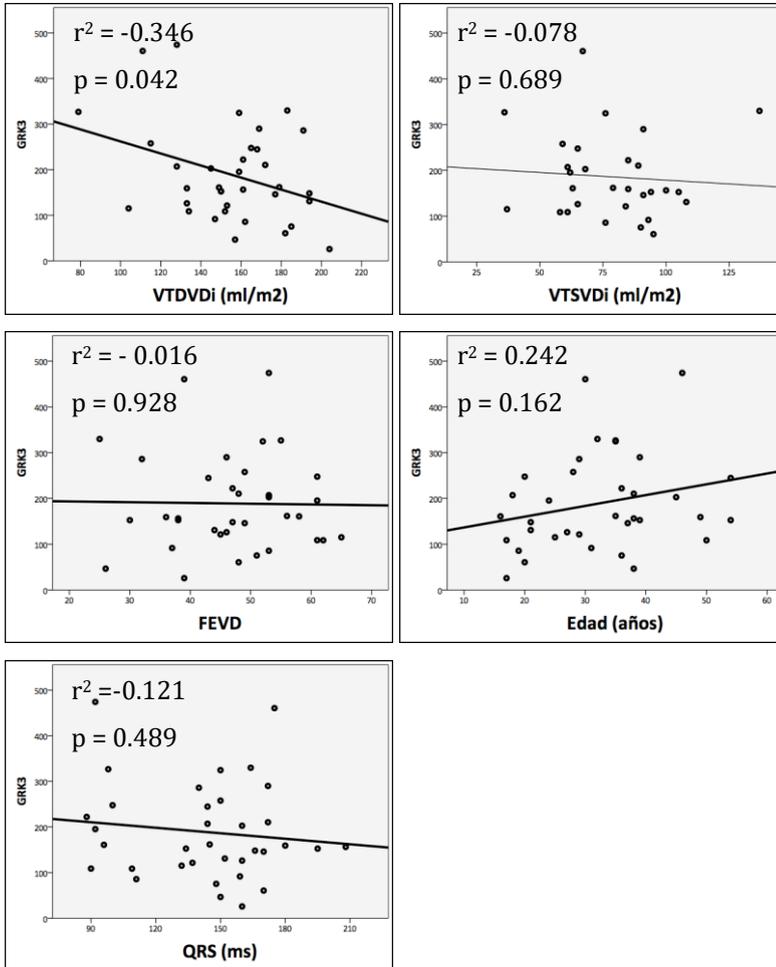


Figura 5.10. Correlación de Pearson entre niveles de ARNm de GRK3 y determinadas variables clínicas en pacientes con IP.



#### 4. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE AR Y GRK EN LA FMLC EN LOS PACIENTES CON INDICACIÓN DE RVP VS. SIN INDICACIÓN DE RVP

##### 4.1 Descripción del subgrupo de pacientes con indicación de RVP.

De los 35 pacientes incluidos en el estudio, 20 pacientes con IP severa tenían indicación de RVP en el momento de la inclusión en el estudio según criterio clínico siguiendo las indicaciones de las guías de práctica clínica por presencia de síntomas y/o datos de dilatación y disfunción del VD<sup>5-7</sup>. De los 20 pacientes con indicación de RVP, 8 de ellos tenían indicación de cirugía por la presencia de síntomas (CF II de NYHA), 2 por TV recurrente siendo ya portadores de DAI, un paciente presentaba disminución de la capacidad de ejercicio y arritmias auriculares, 4 pacientes disminución de la capacidad de ejercicio y disfunción/dilatación significativa de VD y 5 pacientes dilatación progresiva del VD con VDTDVDi > 160 ml/m<sup>2</sup>.

En la *tabla 5.6* se comparan las características basales registradas en el momento de la inclusión del estudio del grupo de pacientes con indicación de RVP frente al grupo de los que no la tenían. El grupo de pacientes con indicación de RVP presentaban una edad media mayor, el porcentaje de pacientes sintomáticos era mayor que en el grupo sin indicación quirúrgica y presentaban una mayor duración del QRS. La cardiopatía de base más frecuente en los pacientes con indicación de RVP fue la TF, aunque sin observarse diferencias estadísticamente significativas frente al grupo sin indicación de cirugía. Los pacientes que presentaron arritmias ventriculares fueron intervenidos. El 40 % de los pacientes intervenidos estaba bajo

---

tratamiento con betabloqueantes, 7 de ellos con bisoprolol y uno con carvedilol.

Con respecto a los parámetros de valoración de VD, de acuerdo con los criterios de RMC, el 45% de los pacientes con indicación de RVP tenía disfunción de VD ( $FEVD \leq 45\%$ ) y el 80% dilatación significativa del VD ( $VTDVDi \geq 160 \text{ ml / m}^2$ ). Este grupo de pacientes presentaba volúmenes de VD indexados medidos por RMC mayores a los pacientes no intervenidos y una FEVD menor con diferencias estadísticamente significativas (*tabla 5.7*). En los parámetros ecocardiográficos se observaron diferencias en el diámetro medio del VD y en el diámetro telesistólico del VI.

Tabla 5.6. Características clínicas de los pacientes con IP intervenidos de RVP frente a los pacientes no intervenidos.

	<b>IP con indicación de RVP (n = 20)</b>	<b>IP sin indicación de RVP (n=15)</b>	<b>p*</b>
Varones, n (%)	14 (70)	5 (33,3)	0,031
Edad (años)	37,0 ± 10,7	25,9 ± 7,5	0,002
CC, n (%)			
- TF	15 (75)	8 (53,3)	0,163
- EP	3 (15)	7 (46,7)	
- Otras	2 (10)		
CF en la inclusión, n (%)			
- NYHA I	12 (60)	15 (100%)	0,006
- NYHA II	8 (40)	0	
Arritmias auriculares	7 (35%)	1 (12,5)	0,101
Arritmias ventriculares	3 (15%)	0	0,244
Tratamiento betabloqueante, n (%)	8 (40)	2 (13,3)	0,134
Duración del QRS (ms)	152,7 ± 29,8	130,5 ± 30,7	0,039
NT-proBNP (pg/ml)	106 (75-165)	168 (72-165)	0,278

Los valores expresan n (%) para variables cualitativas y media +/- desviación estándar o mediana y rango intercuartílico para variables cuantitativas.

\* test de chi-cuadrado para variables cualitativas y t-Student o U de Mann Whitney para variables cuantitativas.

Tabla 5.7. Comparación de los datos de valoración de VD de los pacientes con IP intervenidos de RVP frente a los pacientes no intervenidos.

	<b>IP con indicación de RVP (n = 20)</b>	<b>IP sin indicación de RVP (n=15)</b>	<b>p *</b>
VTDVDi (ml/m <sup>2</sup> )	165,9 ± 22,0	141,9 ± 28,9	0,007
VTSVDi (ml/m <sup>2</sup> )	88,3 ± 20,2	69,6 ± 19,0	0,016
FEVD (%)	43,7 ± 10,1	51,5 ± 9	0,024
FEVI (%)	59,7 ± 9,3	59,9 ± 7,2	0,941
FR (%)	45,4 ± 12,9	50,8 ± 14,6	0,305
RTG, n (%)	5 (25%)	2 (13,3%)	0,672
Diámetro basal VD (mm)	51,1 ± 9,3	46,4 ± 4,6	0,099
Diámetro medio VD (mm)	45,50 ± 8,2	38,2 ± 6,0	0,012
Diámetro longitudinal VD (mm)	82,4 ± 8,9	79,9 ± 11,4	0,367
Área telediastólica VD (mm <sup>2</sup> )	29,0 ± 7,1	28,1 ± 8,6	0,762
Área telesistólica VD (mm <sup>2</sup> )	16,6 ± 5,0	15,0 ± 4,5	0,404
FAC (%)	43,2 ± 7,4	46,6 ± 8,6	0,259
TAPSE (mm)	18,9 ± 4,4	19,6 ± 3,3	0,597
S´ lateral (cm/s)	10,5 ± 2,7	11,1 ± 1,9	0,511
Índice de Tei	0,24 ± 0,13	0,21 ± 0,07	0,456
Gradiente máximo VP (mmHg)	18,4 ± 11,1	13,1 ± 6,9	0,198
Gradiente VD-AD (mmHg)	28,5 ± 8,6	24,2 ± 5,5	0,135
Diámetro telediastólico VI (mm)	43,4 ± 6,3	41,9 ± 4,3	0,419
Diámetro telesistólico VI (mm)	29,7 ± 5,3	26,0 ± 3,8	0,03

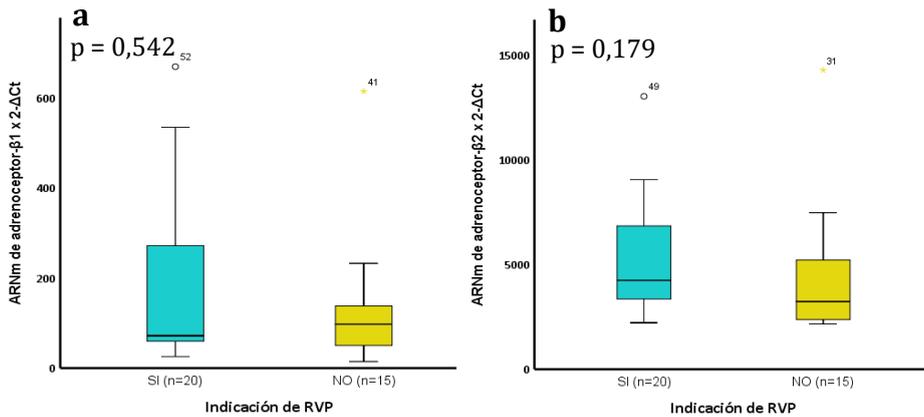
Los valores expresan n (%) o media +/- desviación estándar.

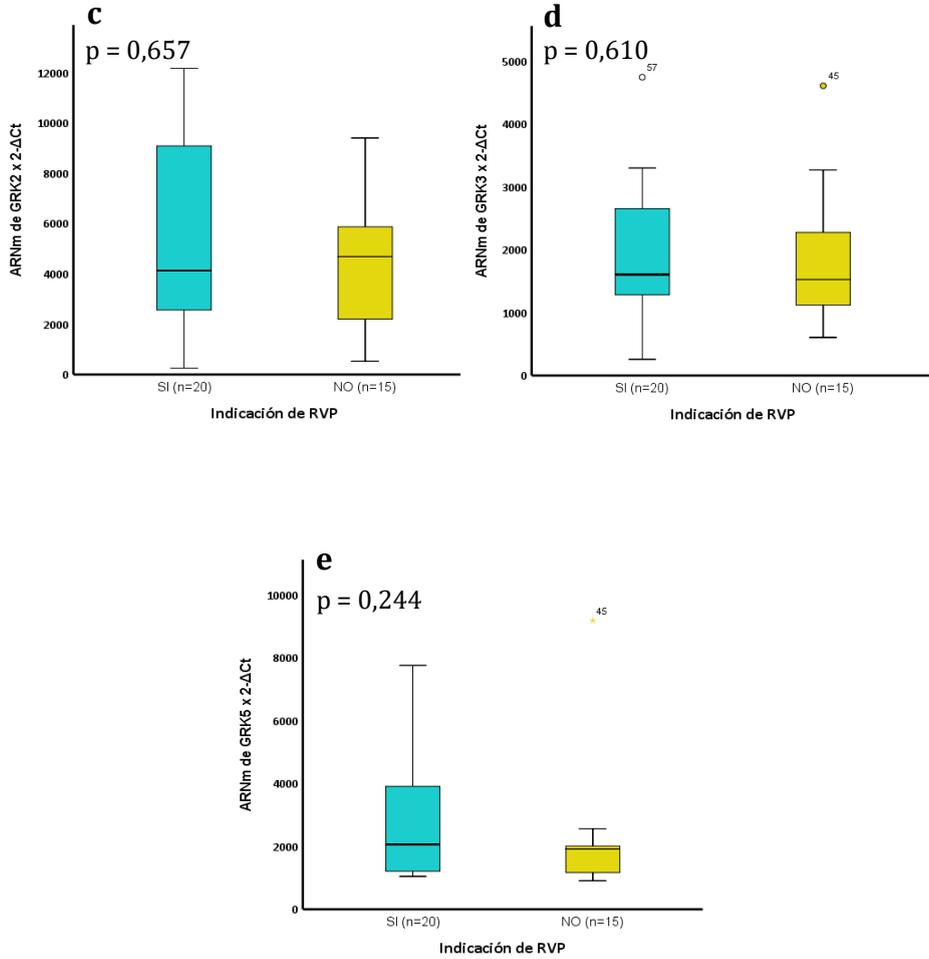
\* test de chi-cuadrado para variables cualitativas y t-Student para variables cualitativas.

## 4.2 Análisis de la expresión génica de AR y GRK en el grupo de pacientes con indicación de RVP vs. sin indicación de RVP

En el análisis comparativo de la expresión de AR y GRK en la extracción basal en los pacientes con IP grave con indicación de RVP frente a los pacientes que no tenían indicación de cirugía en el momento de la inclusión no se observan diferencias significativas (*figura 5.11*).

Figura 5.11 a-e. Comparación de niveles de ARNm para los AR y GRK en los pacientes intervenidos frente a los no intervenidos de RVP (test U de Mann Whitney).





## **5. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE AR y GRK EN LA FMLC EN EL SUBGRUPO DE PACIENTES CON IP GRAVE INTERVENIDOS DE RVP TRAS LA CIRUGÍA**

Los pacientes con IP con indicación de RVP fueron intervenidos con un tiempo medio desde la inclusión en el estudio hasta la cirugía de  $9,6 \pm 14,3$  meses. En 5 casos la cirugía se postpuso por motivos personales, aunque presentaban indicación de RVP desde la inclusión en el estudio.

### **5.1 Cambios en las variables clínicas y parámetros de tamaño y función del VD tras la intervención de RVP**

Los cambios observados en la situación clínica, electrocardiográfica y en los parámetros de evaluación de VD después del RVP se muestra en la *tabla 5.8*. Se observó una mejoría significativa en la clase funcional de la NYHA, así como de los volúmenes de VD después de la intervención quirúrgica, pero no de la FEVD ni de la FEVI. Tampoco se observaron cambios en la duración del QRS.

Tabla 5.8. Variables clínicas y parámetros de tamaño y función de VD de los pacientes con IP severa antes y después del RVP.

	<b>Antes del RVP</b>	<b>Después del RVP</b>	<b>p*</b>
VTDVDi (ml/m <sup>2</sup> )	165,8 ± 22,6	101,3 ± 31,5	< 0,001
VTSVDi (ml/m <sup>2</sup> )	88,3 ± 20,2	51,7 ± 18,5	< 0,001
FEVD (%)	43,7 ± 10,4	45,8 ± 9,3	0,427
FEVI (%)	58,9 ± 8,9	56,8 ± 10,6	0,389
QRS (ms)	151,8 ± 31,2	147,9 ± 30,3	0,360
CF NYHA (%)			
- I	60	90	0,028
- II	40	10	

Los valores expresan n (%) o media +/- desviación estándar.

\* Student t-test para muestras apareadas para variables cuantitativas y test de chi-cuadrado para variables cualitativas

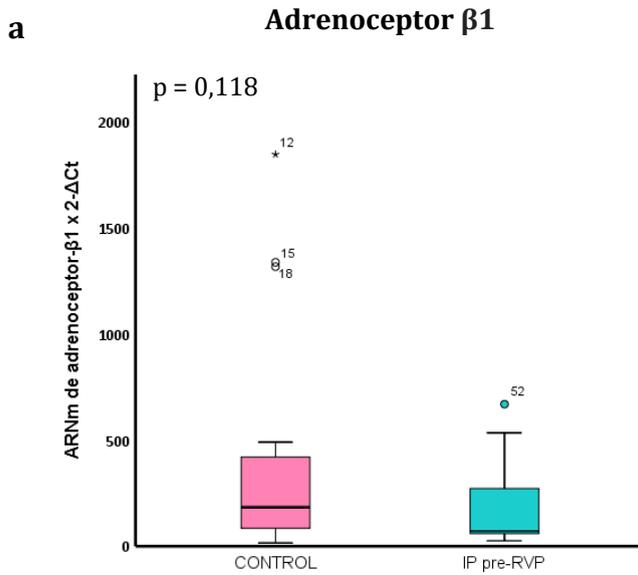
## **5.2 Análisis de la expresión génica inicial de AR y GRK en la FMLC en el grupo de pacientes intervenidos en la evolución de RVP**

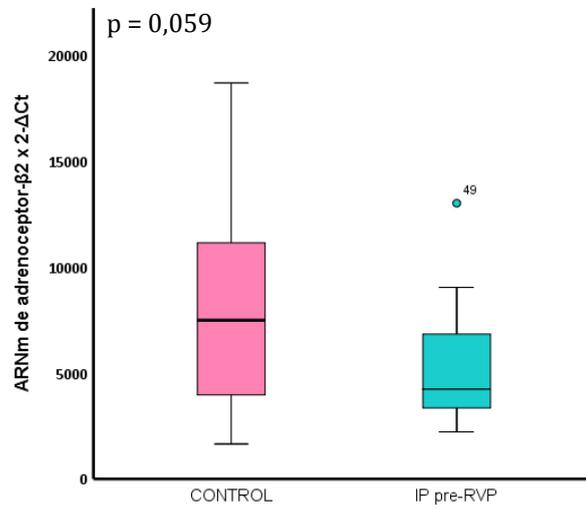
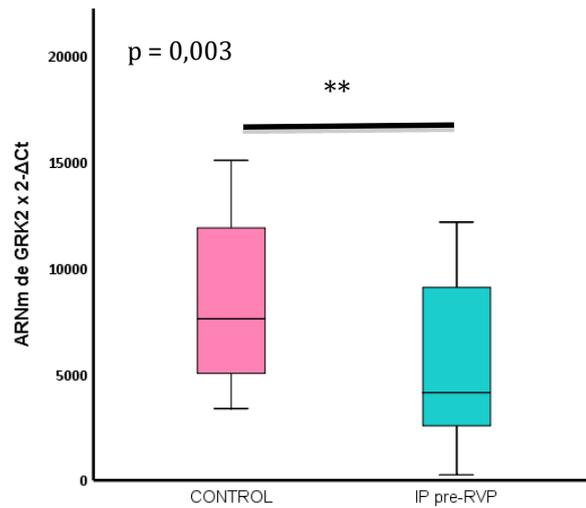
### **5.2.1 Comparación del grupo de pacientes con IP intervenidos de RVP y el grupo control**

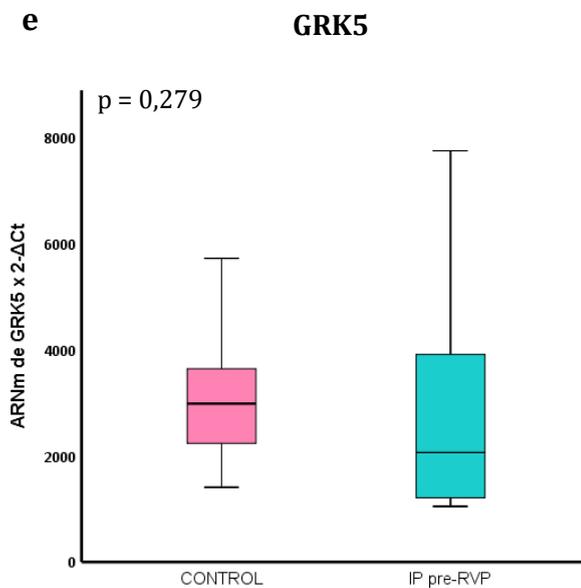
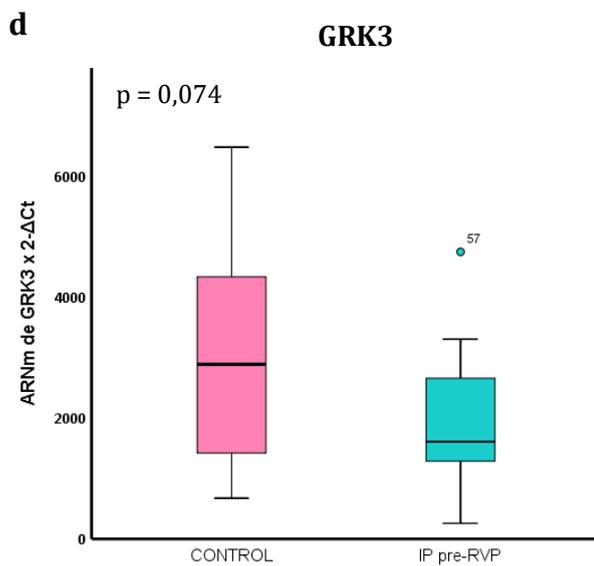
El grupo de pacientes con IP grave intervenidos de RVP en la evolución, presentaban antes del procedimiento una expresión significativamente menor de GRK2 en comparación con los voluntarios sanos, 412,85 (245,60 - 914,61) y 760,89 (497,97 - 1233,81), respectivamente. Resultados similares se observaron al analizar la expresión de AR-β2 en el límite de la significación estadística [423,95 (323,27 - 694,28) en IP vs 748,49 (384,07 - 1119,44) en grupo control]. La

expresión de AR- $\beta$ 1, GRK3 y GRK5 no presentaba diferencias significativas en pacientes con IP severa vs controles (*figura 5.12*).

Figura 5.12 a-e. Niveles de ARNm para los receptores adrenérgicos  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2, y las quinasas GRK2, GRK3 y GRK5 acopladas a proteínas G en el grupo control vs pacientes con IP intervenidos de RVP. Los datos se calcularon como  $2^{-\Delta Ct}$  frente a GAPDH como gen de referencia. \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  (prueba U de Mann Whitney).

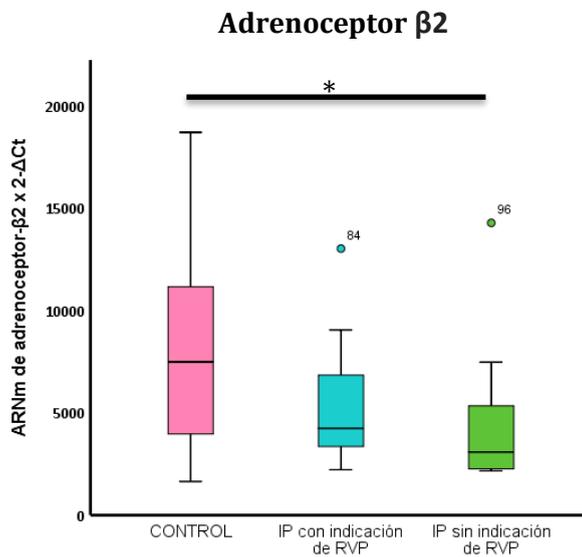


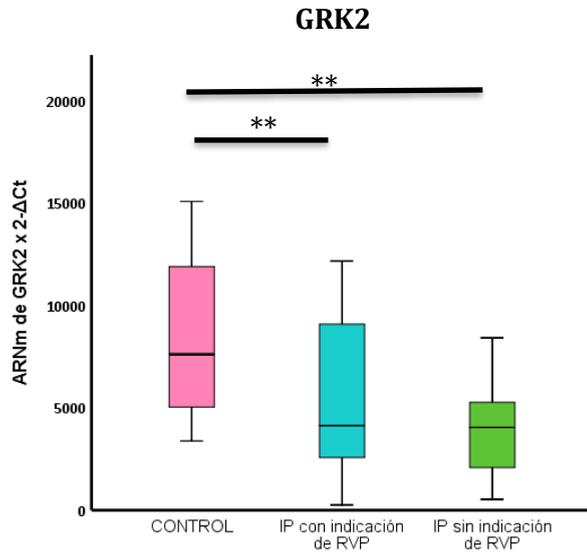
**b** Adrenoceptor  $\beta_2$ **c** GRK2



A continuación, se realizó un análisis comparativo con comparaciones múltiples de la expresión de AR y GRK entre el grupo control, el grupo de pacientes con IP sin indicación de RVP y el grupo de pacientes con IP con indicación de RVP, observándose que las diferencias en la expresión génica de GRK2 y AR- $\beta$ 2 con el grupo control también se observan en los pacientes sin indicación de cirugía (*figura 5.13*).

Figura 5.13. Niveles de ARNm para el AR- $\beta$ 2 y la GRK2 en el grupo control vs IP con indicación de RVP y sin indicación de RVP. Los datos se calcularon como 2-dCt frente a GAPDH como gen de referencia. \* p <0.05, \*\* p <0.01 (Test de Kruskal Wallis con análisis de comparaciones con grupo control con test de Dunn's)

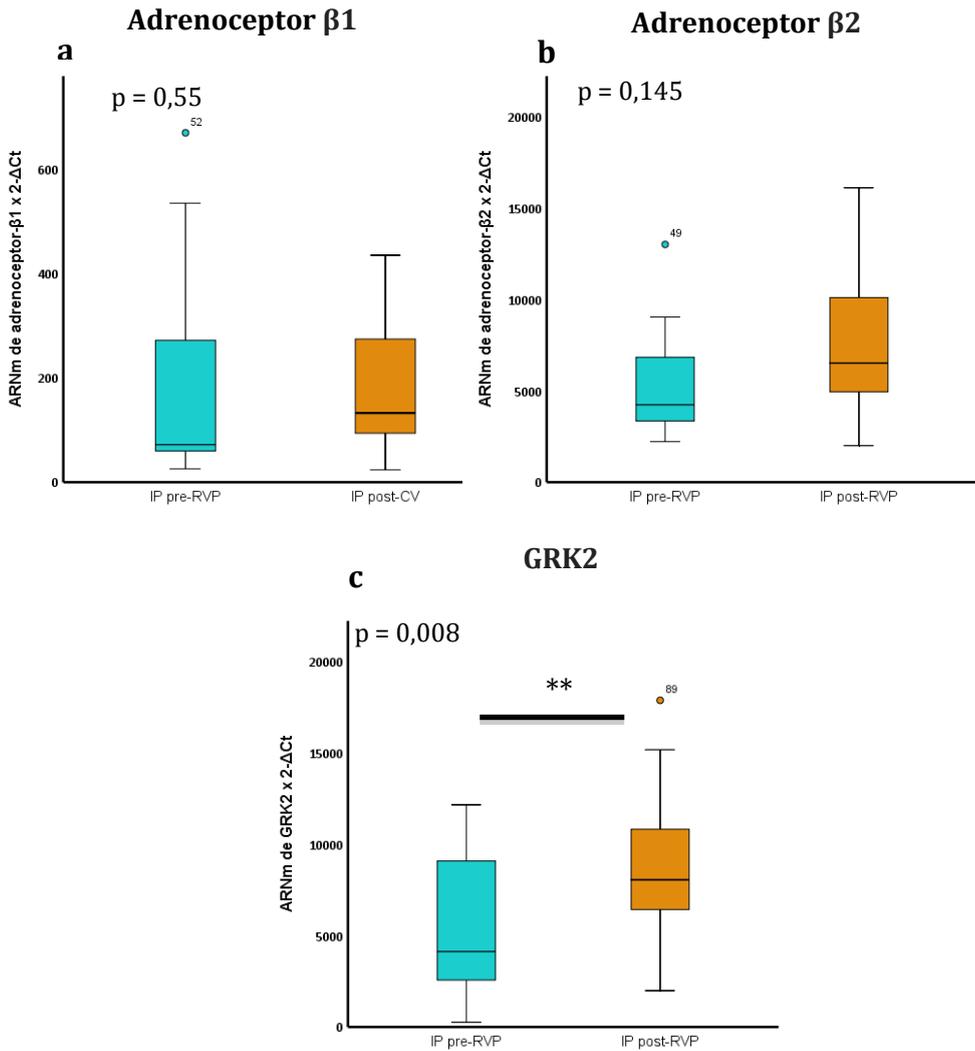




### 5.2.2 Comparación de la expresión génica de AR y GRK tras el RVP

Al analizar el comportamiento de los AR y GRK tras la intervención se observa que la expresión de GRK2 aumenta significativamente en los pacientes tras el RVP [(412,85 (245,60 - 914,61) a 806,25 (641,69 - 1087,76)]. En el caso de la expresión de AR-β2 los niveles también aumentan tras el RVP, pasando de 423,95 (323,27 - 694,28) a 652,38 (493,78 - 1020,70), aunque sin llegar a ser una diferencia estadísticamente significativa. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de ARNm de AR-β1, GRK3 y GRK5 tras el RVP (*figura 5.14*). La *figura 5.15* muestra el análisis de resultados obtenido antes y después de RVP para cada paciente incluido en el estudio.

Figura 5.14 a-e. Niveles de ARNm para los receptores adrenérgicos  $\beta 1$  y  $\beta 2$ , y las quinasas GRK2, GRK3 y GRK5 acopladas a proteínas G en los pacientes con IP antes y después del RVP. Los datos se calcularon como 2-dCt frente a GAPDH como gen de referencia. \*  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0.01$  (prueba T de Wilcoxon).



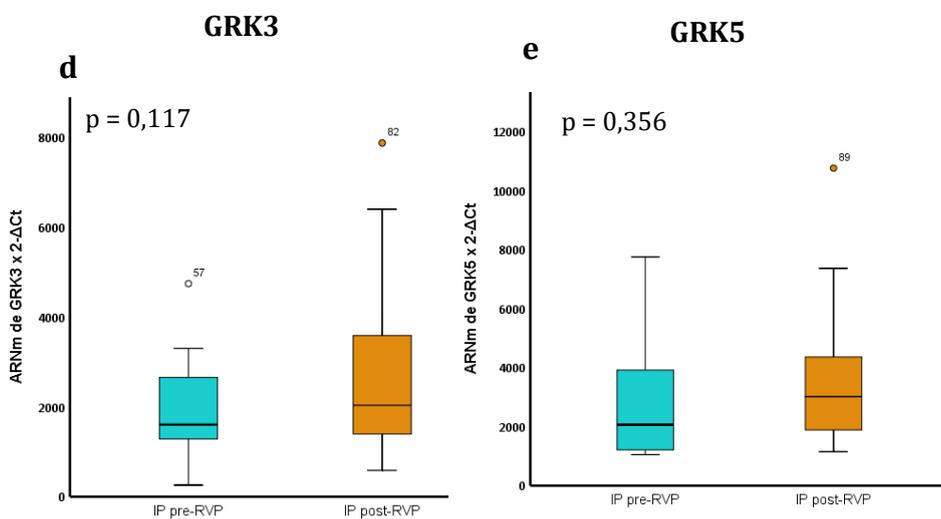
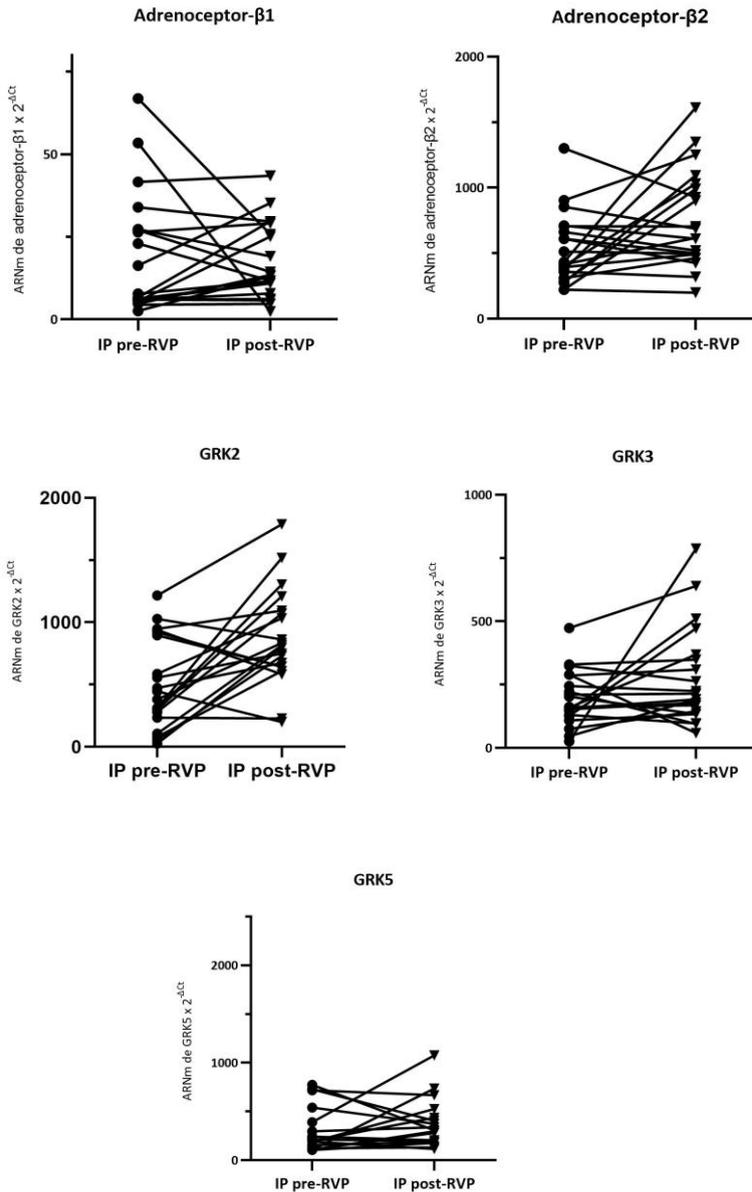
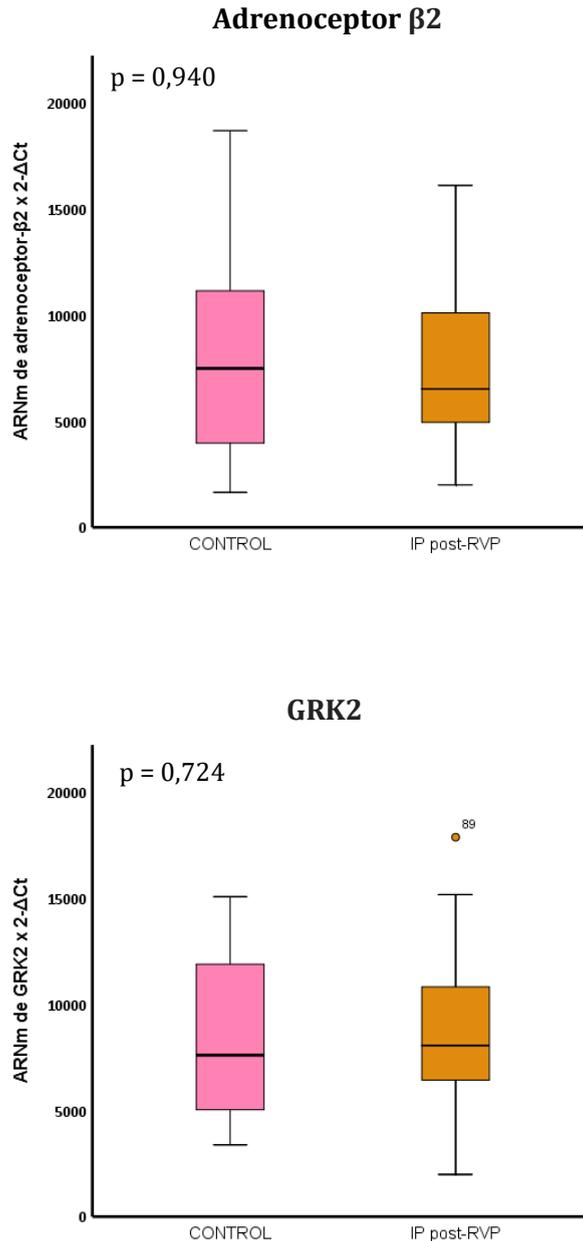


Figura 5.15. Niveles de ARNm para los receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y  $\beta_2$ , y las quinasas GRK2, GRK3 y GRK5 acopladas a proteínas G en los pacientes con IP antes y después del RVP.



Es interesante reseñar que el aumento en la expresión génica de GRK2 y AR- $\beta$ 2 observados después de PVR evidencia la normalización de los valores de expresión de estos marcadores sin observarse diferencias estadísticas con los observados en el grupo de sujetos sanos, siendo la expresión de GRK2 en pacientes con IP tras RVP de 806,25 (641,69 – 1087,76) vs. 760,89 (497,97 – 1233,81) en el grupo control y la expresión de AR- $\beta$ 2 652,38 (493,78 – 1020,70) vs. 748,49 (384,07 – 1119,44), respectivamente (*figura 5.16*).

Figura 5.16. Comparación de niveles de ARNm para AR- $\beta$ 2 y GRK2 en los pacientes con IP después del RVP y grupo control. Los datos se calcularon como  $2^{-\Delta Ct}$  frente a GAPDH como gen de referencia. p (prueba U de Mann Whitney para AR- $\beta$ 2 y GRK2)





## **VI. DISCUSIÓN**

---



---

La insuficiencia pulmonar representa una complicación muy frecuente en los pacientes intervenidos de CC con obstrucción del TSVD y supone un importante volumen dentro de las consultas de CC del adulto. Centrar este trabajo en esta patología, no es sólo debido a su prevalencia, sino a la repercusión clínica y pronóstica que tiene en los pacientes y al debate que sigue existiendo en el momento óptimo de intervención. Además, se trata de un trabajo pionero por realizar un abordaje molecular del estudio del VD en estos pacientes.

La sobrecarga crónica de volumen que provoca la IP participa en la dilatación y disfunción del VD, provocando disminución de la capacidad de ejercicio e incrementando la incidencia de IC, arritmias y muerte súbita. A pesar de que la IP es la causa de reintervención más frecuente dentro de las CC, suponiendo casi la cuarta parte de las intervenciones<sup>63</sup>, la indicación de RVP sigue siendo uno de los temas en discusión dentro del ámbito de las CC. La indicación de RVP en estos pacientes está aceptada cuando presentan síntomas. No obstante, muchos de estos pacientes presentan una buena tolerancia clínica a esta afectación crónica. En estos pacientes asintomáticos o paucisintomáticos las indicaciones de RVP son motivo de debate desde hace años dado que tras la intervención no se ha observado una mejoría en la supervivencia de estos pacientes. Por ello, la búsqueda de nuevos parámetros que permitan seleccionar a los pacientes que pueden beneficiarse de un RVP en términos pronósticos y de situación funcional han llevado a numerosas investigaciones y publicaciones en este campo<sup>137</sup>. Uno de los problemas que plantean estos pacientes es la complejidad de valoración funcional del VD. Por un lado, el hecho que sean pacientes intervenidos dificulta el análisis del VD y, en este sentido, la cuantificación de volúmenes y función del VD no parecen ser suficientes para indicar el RVP

y observar mejoría en su pronóstico<sup>71,137</sup>. Por otro lado, el conocimiento del que disponemos de la fisiopatología del VD es limitado en comparación con la del VI y, por ello, parece necesario ampliar el estudio en este campo con nuevos enfoques que aumenten el conocimiento de la disfunción del VD y, por tanto, ayuden a la toma de decisiones.

Así pues, proponemos el abordaje de este problema desde una nueva perspectiva como es la valoración molecular, con la aspiración de que sea complementaria a las ya establecidas desde la evidencia científica. Desde este punto de vista, es interesante analizar una serie de marcadores moleculares que pudieran aportar información de la repercusión de la IP en el VD y de este modo, poder ser utilizados en un futuro para decidir el momento idóneo para el RVP en pacientes asintomáticos junto con las herramientas de las que ya disponemos en la actualidad.

En este trabajo se han estudiado a estos pacientes desde un punto de vista molecular, y se han analizado cambios en biomarcadores que permitan conocer más sobre la evolución de esta enfermedad y ayudar a su tratamiento clínico. Para ello, se ha analizado la expresión génica de AR y sus quinasas moduladoras, las GRK. El sistema adrenérgico juega un papel fundamental en la regulación cardiaca y, por ello, los receptores que participan en esta regulación están siendo estudiados como biomarcadores en distintas patologías cardiacas, como la IC y la hipertensión arterial. En la actualidad, se están ampliando conocimientos sobre las vías de señalización de estas moléculas y sobre los distintos procesos fisiológicos en los que participan<sup>97</sup>. Su expresión no sólo se encuentra en muestras miocárdicas, sino que se ha observado que estas moléculas también están presentes en

células linfocitarias de sangre periférica y que su estudio puede ser útil en diversas patologías cardiacas, describiéndose que los niveles de GRK2 en linfocitos de pacientes con IC tienen valor pronóstico<sup>88</sup>. Por ello, el interés de estudiar la expresión de AR y GRK en pacientes con IP grave con el objetivo de conocer más sobre la fisiopatología del daño miocárdico del VD en esta enfermedad.

Este trabajo es el primero en abordar el estudio de los pacientes con IP grave desde una perspectiva molecular analizando biomarcadores que han demostrado valor pronóstico en pacientes con IC pero que no han sido estudiados hasta el momento en una población de pacientes con CC.

## 1. Características de la población de estudio

La población de estudio es una población joven (edad media de  $32,2 \pm 10,9$  años) en comparación con las que se analizan en otras patologías cardiacas adquiridas, incluidos los pacientes con miocardiopatía dilatada que componen el grupo de IC de este trabajo ( $47,5 \pm 17,1$  años) y es similar a la que se describe en otros estudios de pacientes adultos con IP<sup>42,62</sup>. Con respecto a la patología de base, se han incluido pacientes con TF y con otras enfermedades obstructivas del TSVD corregidas en la infancia. Aunque la CC más frecuente en este estudio es la TF, presente en un 65,7% de los pacientes, en comparación con otros trabajos, el porcentaje de pacientes con TF es algo menor al que presentan otras series, donde representan el 71-75% de las muestras<sup>71,138</sup>. Los pacientes incluidos en el estudio fueron intervenidos en la infancia, en su mayoría en la década de los 80-90 y una cuarta parte de ellos presentaba una intervención paliativa previa a través de fistulas, cifras similares a las descritas en otras publicaciones<sup>71</sup>. Además,

un 80% son portadores de un parche transanular, causa principal de desarrollo de la IP, y que es similar a lo descrito en otras series con porcentajes que oscilan entre un 74 y 84%<sup>62,71,73</sup>. En nuestra población, los pacientes con TF no presentaban otras secuelas importantes con respecto a su CC por lo que se consideró que podría estudiarse el grupo de pacientes con IP de forma global sin diferenciar por su CC.

Como es ampliamente conocido, la IP es bien tolerada clínicamente durante años por lo que la mayor parte de los pacientes se encuentran asintomáticos en el momento de la inclusión (el 77,1% de los pacientes del estudio se encuentra en CF I de NYHA). Aunque el porcentaje de eventos clínicos en esta población es bajo, es conocido por diversos estudios que alrededor del 30% de los pacientes presentarán arritmias auriculares en el seguimiento<sup>29</sup>. En nuestro grupo de estudio el 22,9% de los pacientes había presentado fibrilación/flutter auricular en el momento de la inclusión en el estudio. Este dato es importante ya que la presencia de arritmias supraventriculares es un dato predictor de MS<sup>32</sup> y era indicación de RVP en las guías de la ESC publicadas en 2010<sup>5</sup>. Con respecto a las taquicardias ventriculares, se registraron TV no sostenidas en 3 pacientes, 8,6% de la población, porcentaje similar al descrito en el trabajo de Valente donde la presencia de este hallazgo se relacionó con el riesgo de MS y de TV<sup>32</sup>. La presencia de factores de riesgo cardiovascular es baja al tratarse de una población joven, siendo la hipertensión arterial el más prevalente, presente en el 20% de la muestra.

Con respecto a los parámetros electrocardiográficos, en este estudio se han registrado el ritmo cardiaco, la frecuencia cardiaca y la duración del

QRS. La duración media del QRS de los pacientes analizados es de  $143,2 \pm 31,8$  ms. Sólo 3 pacientes presentaba un  $QRS \geq 180$  ms, marcado por las guías como uno de los factores de riesgo de MS<sup>7</sup>. Actualmente hay estudios interesantes que analizan otros parámetros electrocardiográficos en la evolución de la IP, como el cambio del QRS, la dispersión del QT<sup>33</sup> o la disminución en la variabilidad de la frecuencia cardíaca<sup>34</sup> que se han relacionado con la aparición de arritmias ventriculares o MS.

Por otro lado, aunque la ecocardiografía es la técnica más utilizada para el seguimiento de pacientes con cardiopatía, las guías de práctica clínica no describen valores ecocardiográficos de dilatación o disfunción del VD para indicar el RVP en el grupo de pacientes con IP por las propias limitaciones de la técnica en su evaluación. En esta población, el 80% de los pacientes con IP grave presentan un diámetro basal del VD  $> 42$  mm que marcan las guías como dilatación del VD<sup>44</sup>, pero sin definir rangos sobre el grado de dilatación del VD por lo que la información que se obtiene de este valor es limitada. Además, se ha descrito que la correlación de las medidas 2D del VD con los volúmenes por RMC en pacientes con sobrecarga de volumen, como es esta población, es débil<sup>46</sup>. Con respecto a la valoración de la función del VD, la FAC es el parámetro ecocardiográfico de valoración funcional que mejor se correlaciona con la FEVD por RMC<sup>51</sup>. Este grupo de pacientes presentan una FAC media de  $44,6 \pm 7,9$  % y sólo un 11,4% de los pacientes presentan una FAC menor del 35%, por lo que por parámetros ecocardiográficos es una población que en su mayoría no presenta disfunción del VD. Pero según los datos de valoración de VD por RMC un tercio de los pacientes si presenta FEVD  $< 45\%$ , esto puede ser debido a que el cálculo de función por RMC tiene en cuenta el TSVD a diferencia del cálculo de la FAC por ecocardiografía-2D, indicando las limitaciones que tienen los

parámetros ecocardiográficos clásicos para valorar la función de VD en estos pacientes. Por otro lado, aunque un tercio de los pacientes presenta disfunción significativa de VD, si tenemos en cuenta la FEVD media de la población,  $47 \pm 10,3\%$ , los pacientes de este estudio se encuentran dentro de los valores que se han descrito en otras series de pacientes con IP donde se lleva a cabo el RVP, que presentan FEVD media de 42 a  $51\%$ <sup>71,73,77</sup>.

En el análisis de los valores obtenidos por la RMC, casi la mitad de los pacientes (45,7%) presentan una dilatación significativa de VD (VTDVDi por RMC  $\geq 160$  ml/m<sup>2</sup>), siendo este volumen el indicado por las guías como el punto de corte para realizar el RVP<sup>7,8</sup>. En este sentido, Oosterhof et al.<sup>73</sup> describieron que la normalización en el tamaño del VD podría lograrse si se realizaba el RVP cuando el VTDVDi fuera  $<160$  ml/m<sup>2</sup> o VTSVDi  $< 82$  ml/m<sup>2</sup>. En otro estudio realizado por Therrien et al.<sup>72</sup> encontraron que aquellos pacientes con VTDVDi  $> 170$  ml/m<sup>2</sup> y VTSVDi  $> 85$  ml/m<sup>2</sup> no normalizaban el tamaño del VD por lo que se sugirió que el RVP debería llevarse a cabo antes de alcanzar estos valores. Otros autores sugieren una actitud más agresiva<sup>71,74</sup> y marcan el punto de corte de VTDVDi de  $150$  ml/m<sup>2</sup> para conseguir normalizar los volúmenes de VD y mejorar la función biventricular y la capacidad de ejercicio submáxima. Con todo ello, un porcentaje importante de los pacientes incluidos en este estudio presentan indicación de RVP siguiendo los parámetros descritos en la mayor parte de los trabajos publicados.

## 2. Análisis comparativo de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con insuficiencia pulmonar

En este estudio hemos comparado la expresión génica de AR y GRK en pacientes con IP grave con respecto a la que presenta un grupo control de sujetos sanos y un grupo de pacientes con IC avanzada. En primer lugar, es interesante analizar las características clínico-demográficas de la población de estudio en comparación con los pacientes con IC avanzada. Los pacientes con IP grave representan una población más joven, que en su mayoría está asintomática o presentan síntomas únicamente a moderados esfuerzos, frente a los pacientes con IC que se encuentran en CF III/IV de NYHA. También observamos que los pacientes con IP presentan unos niveles significativamente menores de NT-proBNP, un biomarcador clásico de IC, pero como ya ha sido descrito, las elevaciones de NT-proBNP en esta población son leves en comparación con los pacientes con IC por disfunción del VI<sup>29</sup>. Además, aunque este biomarcador se ha relacionado con la disminución de la capacidad de ejercicio en pacientes con TF y con datos de dilatación de VD, hay discrepancias en cuanto a la relación con la FEVD en esta población. Este hecho, junto con que las elevaciones del NT-ProBNP son discretas, limitan su utilidad en la práctica clínica a diferencia de lo que ocurre en otros escenarios de IC. Por ello, el estudio de otros biomarcadores en esta población que tengan también valor pronóstico supone una vía nueva de abordar esta patología.

La expresión de AR- $\beta$  y GRK en linfocitos se encuentra alterada en distintas enfermedades cardiovasculares como en la hipertensión arterial o en la IC<sup>106,116,119,121,133,139,140</sup>, por lo que se ha propuesto su uso como biomarcadores en la evolución de estas patologías, especialmente en la IC

donde se ha observado que la expresión de GRK2 en linfocitos tiene valor pronóstico<sup>88</sup>.

Nuestros resultados confirman que los pacientes con IP grave como secuela tras la cirugía correctora de CC obstructivas del TSVD tienen un patrón de expresión génica de GRK2 y AR- $\beta$ 2 en la FML similar a los pacientes con IC, observándose una disminución significativa con respecto a los controles sin cardiopatía. Estos resultados no se observan en los otros 3 genes estudiados.

Como se ha descrito en trabajos previos<sup>128,129</sup>, en nuestro estudio se evidencia que el subtipo de AR- $\beta$  más expresado en los linfocitos es el AR- $\beta$ 2, que parece ser el punto de unión entre el sistema inmune y el sistema nervioso<sup>128,141</sup>. Esto se explica porque la noradrenalina liberada en la respuesta inmunitaria a nivel de las terminaciones nerviosas estimula los AR- $\beta$ 2 que activa los linfocitos desempeñando un papel en la prevención de la enfermedad<sup>128</sup>. Con respecto a las GRK, el subtipo más expresado en la FMLC de todos los grupos de pacientes es la GRK2 como ya se había observado en otras situaciones clínicas<sup>106,124</sup>.

En este trabajo los pacientes con IP grave e IC presentan una disminución en la expresión génica de AR- $\beta$ 2 que ya había sido descrita previamente por otros autores en pacientes con IC<sup>129</sup> y que parece ser secundaria a la regulación que sufren estos AR por la estimulación continua de catecolaminas que se produce en pacientes con IC<sup>129</sup>. Estos mismos hallazgos se habían observado en pacientes con sobrecarga de volumen de VI<sup>132</sup>, por lo que se especula que la regulación de los AR- $\beta$ 2 puede estar

---

relacionada con la respuesta fisiopatológica que tiene el sistema circulatorio para adaptarse a las alteraciones hemodinámicas.

La GRK2 es una de las cinasas más estudiadas en la IC. Se ha descrito que sus niveles, tanto proteicos como ARNm, están aumentados en el corazón durante la IC<sup>106,107</sup> relacionándose con una disminución de la actividad de los AR- $\beta$ <sup>106</sup>. Estos hallazgos también se han observado antes del desarrollo de la enfermedad, pudiendo representar un marcador temprano del daño cardíaco<sup>108</sup>. Además, la determinación de GRK2 en linfocitos también se ha correlacionado con los hallazgos en miocardio<sup>122</sup> y se ha descrito que los niveles proteicos de GRK2 en linfocitos representan un predictor independiente de mortalidad en los pacientes con IC<sup>88</sup> junto con los niveles de NT proBNP. En este estudio, los autores destacan que la valoración de las GRK2 ofrece información pronóstica adicional muy significativa a la obtenida sólo con el NT proBNP como marcador hemodinámico. En nuestro estudio observamos que tanto en los pacientes con IP grave como en el grupo de IC terminal los niveles de GRK2 en la FMLC están disminuidos significativamente respecto a los observados en los controles sanos. Estos resultados difieren de los publicados en otros estudios que observan valores aumentados de GRK2 en linfocitos de pacientes con IC<sup>88,106</sup>. Sin embargo, estas publicaciones cuantificaron niveles proteicos de GRK2, mientras que nosotros determinamos ARNm. A pesar del papel conocido que tienen las GRK2 en el músculo cardíaco, el conocimiento de los mecanismos que modulan su expresión en linfocitos es limitado. Existen múltiples vías de regulación de la expresión de GRK2 y sus niveles proteicos están regulados por las integración de los procesos de transcripción, traducción y degradación de proteínas<sup>97</sup>, por lo que los niveles proteicos y de ARNm pueden diferir. Por otro lado, las GRK2 están

altamente expresada en diferentes tipos celulares del sistema inmune y parece constituir un importante regulador de las respuestas de estas células. Por ello, otra explicación adicional a las diferencias obtenidas entre los estudios de cuantificación proteica y de ARNm pueden derivarse de que al procesar una población mixta de células (FMLC), es posible que la disminución en la expresión de GRK2 en pacientes con IP esté limitada a ciertos subconjuntos de estas células y/o que la composición alterada de la población de FMLC que puede ocurrir por la estimulación de AR- $\beta$ 2 sea la causa de este hallazgo<sup>142</sup>.

En la actualidad sabemos que la IC se produce no sólo como consecuencia de un proceso hemodinámico, sino como un síndrome complejo con importantes alteraciones neurohumorales que contribuyen a los síntomas y progresión de la enfermedad<sup>143</sup>. Las diversas noxas que afectan al corazón producen disminución de la eficacia contráctil y una activación neurohumoral, evidenciándose fenómenos de estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial<sup>144</sup>. Estas alteraciones se traducen en cambios morfológicos y funcionales a nivel de miocardio (hipertrofia, fibrosis y apoptosis) referidos habitualmente como remodelado ventricular. En este contexto, se ha observado que las alteraciones endoteliales que se producen por el estado proinflamatorio en la IC alteran la disponibilidad del óxido nítrico y con ello se produce una regulación a la baja de GRK a nivel miocárdico<sup>145</sup>. Además, se ha observado que el stress oxidativo que se produce en los fenómenos inflamatorios puede regular los niveles linfocitarios de GRK2 a la baja<sup>146</sup>. Por otro lado, también se ha descrito una reducción de AR- $\beta$  en la FMLC en distintas enfermedades cardiacas en relación con una respuesta inflamatoria crónica de baja intensidad<sup>147</sup>. En

---

este sentido, la reducción de AR- $\beta$ 2 y GRK2 en los LMC que se observa en los pacientes con IP grave podría explicarse por una afectación del VD significativa que justificaría esta respuesta inflamatoria.

En resumen, los niveles disminuidos de ARNm de GRK2 y AR- $\beta$ 2 de estos pacientes pueden depender tanto de la regulación adrenérgica por los cambios locales a nivel miocárdico como de los efectos sistémicos secundarios a la respuesta neuro-humoral que se produce en la IC como estado proinflamatorio.

Por otra parte, nuestros resultados son congruentes con los descritos previamente, en los que se observaba una disminución en la expresión génica de GRK2 y AR- $\beta$ 2 en pacientes con miocardiopatía dilatada, que revertía tras el trasplante cardiaco<sup>133</sup>. Estos datos también justifican que las alteraciones observadas están en relación con la afectación cardiaca existente.

Analizando la expresión génica de los AR- $\beta$ 1, aunque son el subtipo más frecuente de AR en el miocardio<sup>90</sup>, a nivel linfocitario la mayor parte de los estudios en IC se han realizado analizando la expresión de AR- $\beta$ 2. Esto se debe a que están localizados de forma homogénea en los linfocitos y presentan cambios sinérgicos con la expresión a nivel cardiaco<sup>125</sup>. Sin embargo, también se ha descrito que los AR- $\beta$ 1 se localizan en los linfocitos y que los niveles de ARNm disminuyen en pacientes con IC como ocurre con los AR- $\beta$ 2<sup>129</sup>. En nuestro estudio no observamos que los pacientes con IP presenten diferencias en la expresión génica de AR- $\beta$ 1 con respecto a los controles, pero paradójicamente los pacientes con IC muestran una sobreexpresión de estos receptores, aunque sin que existan diferencias

significativas con el grupo de voluntarios sanos. Este hallazgo puede explicarse porque, como se observa en la *figura 5.2*, existe una dispersión importante en los niveles de expresión de AR- $\beta$ 1 entre los pacientes con IC.

Respecto al análisis de la expresión génica de la GRK3, en el análisis post-hoc comparativo de los 3 grupos, se han observado diferencias en el límite de la significación sólo entre los pacientes con IP, donde se observaba una baja expresión frente al grupo control. En los pacientes con IC no se han observado estas diferencias, lo cual es concordante con lo publicado en la mayoría de los estudios previos<sup>114,115</sup>. En esta línea, es importante destacar los resultados de un estudio en el que, aunque se confirma la ausencia de cambios en la expresión cardiaca de GRK3 en pacientes con miocardiopatía dilatada, sí se describen niveles ligeramente elevados de GRK3 en las muestras del VD, y no del resto de cámaras cardiacas<sup>107</sup>.

Por último, analizando la expresión de GRK5, observamos una sobreexpresión de ARNm en la FMLC de pacientes con IC terminal como se había descrito previamente en el miocardio de animales con IC en fases terminales<sup>111,148</sup>, en muestras de VI de pacientes con miocardiopatía dilatada<sup>107</sup> y en linfocitos, tanto a nivel proteico como de ARNm, en pacientes con sobrecarga del VI en relación a la gravedad de la enfermedad<sup>132</sup>. Sin embargo, no observamos esta expresión aumentada en pacientes con IP frente a los controles, donde los niveles de ARNm son similares. Esto puede ser debido a que la GRK5 se encuentre alterada en fases muy avanzadas de la enfermedad y su regulación no esté tan relacionada con la inflamación crónica como lo está la GRK2.

### 3. Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC de pacientes con IP en relación con variables clínicas y de afectación de VD

En el análisis comparativo de la expresión génica de los biomarcadores en los pacientes con IP severa según la situación funcional se observa que hay una tendencia, aunque no significativa, a una expresión génica de GRK2 menor en los pacientes sintomáticos que en los asintomáticos. La ausencia de significación estadística en esta diferencia se puede relacionar con el reducido tamaño muestral. Esto podría indicar que los pacientes sintomáticos deben tener un grado de daño cardiaco mayor y que puede existir una relación inversa entre la concentración de GRK2 y el grado de daño cardiaco. No se observan diferencias en la expresión del resto de biomarcadores, incluida la expresión de AR- $\beta$ 2.

En el estudio se incluyeron pacientes con enfermedades obstructivas del TSVD, principalmente TF y EP, cardiopatías que presentan una evolución distinta por la complejidad de base. Sin embargo, en el análisis comparativo de la expresión génica de AR y GRK entre los pacientes con TF y los pacientes con otras CC del TSVD no se observaron diferencias significativas. En esta serie los pacientes con TF no presentaban otras secuelas importantes asociada a su CC de base, siendo la IP grave la lesión principal, por lo que no era esperable que hubiera diferencias entre los grupos. Además, ambos grupos habían sido intervenidos con técnicas agresivas de ampliación del TSVD, principal causa de la presencia y evolución de la IP.

Por otro lado, estudios previos mostraron que los betabloqueantes regulan la densidad de AR de manera selectiva en el subtipo AR- $\beta$ , mientras que causan la regulación negativa de GRK2<sup>109</sup>. Sin embargo, este efecto depende del bloqueador beta utilizado, por ejemplo, el carvedilol presenta un comportamiento peculiar que disminuye la densidad de AR- $\beta$ <sup>149</sup>. En nuestro grupo de pacientes con IP, se observó una expresión similar de AR- $\beta$ 2 y GRK2 independientemente del tratamiento con bloqueadores beta, lo que excluye el posible sesgo debido al tratamiento farmacológico.

Al comparar la expresión de los biomarcadores en función del daño del VD en términos de dilatación o disfunción sistólica no se observan diferencias. Esto podría apuntar a que, aunque en la actualidad los parámetros utilizados para la indicación quirúrgica se basan en los valores de volumen y función del VD por RMC, tal vez haya que poner el punto de atención en otros indicadores de daño miocárdico que aporten información complementaria a las herramientas usadas en la actualidad para el manejo de estos pacientes.

Por último, en el análisis de correlación entre la expresión génica de AR- $\beta$ 2, GRK2 y GRK3 en los pacientes con IP grave y distintas variables clínicas, no se observó ninguna correlación significativa entre la expresión de AR- $\beta$ 2 y GRK2 y los parámetros de valoración del VD (volúmenes y función) ni con la edad ni la duración del QRS. Esto apoya la idea de que los cambios moleculares pueden preceder a otras alteraciones más evidentes en la evaluación de estos pacientes y, por lo tanto, la expresión de estos genes podría utilizarse como biomarcador para detectar daño cardíaco incluso cuando este daño no tiene expresión clínica. Un resultado

interesante fue el hecho de que se encontró una correlación inversa significativa entre la expresión génica de GRK3 en la FMLC y el VTDVDi de los pacientes con IP. Este hallazgo, junto con la expresión génica de GRK3 disminuida en el grupo de pacientes con IP frente al grupo control, puede agregar más información a resultados previos que apoyan un papel protector de GRK3 expresado en corazón humano o en linfocitos en el sistema cardiovascular<sup>112,116</sup>.

#### **4. Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FML en los pacientes con indicación de RVP vs. sin indicación de RVP**

De los 35 pacientes incluidos en el estudio, 20 pacientes con IP severa presentaban indicación de RVP en el momento de la inclusión y fueron intervenidos de RVP en el seguimiento, siguiendo las indicaciones de las guías de práctica clínica por presencia de síntomas, aparición de arritmias y/o datos de dilatación y disfunción del VD. Teniendo en cuenta la presencia de disnea en el momento de la inclusión y la disminución de la capacidad de ejercicio en el seguimiento, un 70 % de los pacientes presentaban alguna sintomatología por la que se indicó la intervención. Estos resultados son similares a los descritos en series clásicas donde el porcentaje de pacientes con sintomatología están en torno a 70%<sup>72,73</sup>, aunque algo mayor que en series más recientes donde se describe disnea en 56% de la población intervenida<sup>76</sup>. Los pacientes intervenidos presentan un VTDVDi medio de  $165,9 \pm 22,0$  ml/m<sup>2</sup>. Si nos centramos en este parámetro, la indicación de cirugía se realiza de forma más conservadora, comparada con otros estudios donde el VTDVDi medio de los pacientes intervenidos está en torno a 155 ml/m<sup>2</sup><sup>76,150</sup>.

Con respecto a las características clínicas de los pacientes intervenidos, son un subgrupo de mayor edad y que presentan como CC de base la TF en mayor proporción que los pacientes no intervenidos. Un porcentaje importante de pacientes se encontraba asintomático en el momento de la inclusión, pero sí mostraba mayor afectación por diversos parámetros como mayor duración del QRS, mayor progresión en los volúmenes de VD y menor FEVD. Sin embargo, no se observan niveles diferentes en la expresión de GRK2 y AR- $\beta$ 2. Este hallazgo puede significar que la alteración observada en la expresión de estos biomarcadores en los pacientes con IP grave preceda a datos de daño miocárdico evidente como la aparición de síntomas, disminución de la capacidad de ejercicio o disfunción/dilatación progresiva del VD, criterios actuales para la indicación de RVP. Por lo que no se han observado diferencias en la expresión de GRK2 y AR- $\beta$ 2 según los pacientes tengan o no indicación de RVP.

#### **5. Análisis de la expresión génica de AR y GRK en la FMLC en el subgrupo de pacientes con IP grave intervenidos de RVP tras cirugía**

Tras el RVP los cambios observados respecto a la situación clínica, electrocardiográfica y a los parámetros de evaluación de VD son similares a otros estudios que evalúan la respuesta al RVP<sup>18</sup>, presentando una mejoría en la clase funcional de la NYHA y una disminución de los volúmenes de VD, pero sin cambios en la FEVD.

Con respecto a los biomarcadores analizados en la FMLC, el subgrupo de pacientes con IP intervenidos presenta niveles inferiores de

GRK2 y AR- $\beta$ 2 con respecto al grupo control. Tras el RVP, la expresión de estas moléculas cambia y se asemeja a la de los controles sanos, lo que indica una reversibilidad de la situación patológica involucrada en estos cambios, como ocurrió en pacientes con IC después del trasplante<sup>133</sup>. Teniendo en cuenta que la menor expresión de GRK2 y AR- $\beta$ 2 en los pacientes con IP puede estar en relación con la respuesta inflamatoria secundaria al daño cardíaco que presenta, la corrección de la valvulopatía que provoca esta situación hace revertir esta respuesta y con ello, se produce la normalización en los niveles de expresión de estos biomarcadores.

Otro de los hallazgos interesantes es que la expresión reducida de GRK2 y AR- $\beta$ 2 no solo se encontró en pacientes con indicación de RVP sino también en los pacientes sin indicación de RVP en comparación con el grupo control de voluntarios sanos. Por tanto, la disminución en los niveles de ARNm de GRK2 y AR- $\beta$ 2 en FMLC podría preceder a los datos clínicos que se manejan en la actualidad para la indicación de cirugía y podría alertar sobre un daño miocárdico secundario a la respuesta inflamatoria que puede ocurrir en la IC, que se manifiesta con una expresión disminuida de ARNm de GRK2 y AR- $\beta$ 2, sin que otros parámetros clínicos lo evidencien. De hecho, se ha estudiado el remodelado del VD a medio-largo plazo en pacientes intervenidos<sup>138</sup>, describiendo que, inicialmente sí se observa una reducción de los volúmenes de VD con una ligera disminución de la FEVD, pero a los 10 años de evolución hay un deterioro gradual, de tal modo que los volúmenes vuelven a aumentar y la FEVD disminuye. Aunque esta evolución puede estar parcialmente justificada por la disfunción que sufren las prótesis implantadas, se ha visto que este remodelado adverso ocurre a pesar de que la disfunción de la prótesis no sea significativa, lo que hace pensar que estos ventrículos son vulnerables a pequeños cambios hemodinámicos y que

podría deberse a que el remodelado ventricular ya estuviera evolucionado previamente al RVP. En este sentido hay autores que abogan por ser más agresivos en la indicación de la intervención puesto que se ha descrito que existe una mejoría en los datos de consumo de oxígeno y una tendencia a mejorar la función del VD en los pacientes intervenidos a edades más tempranas<sup>151</sup>, probablemente porque habría un menor remodelado del VD. Pero como se ha comentado, aunque la mortalidad de la intervención es baja, el porcentaje de pacientes que presentan complicaciones (disfunción, endocarditis...) relacionadas con la prótesis implantada es significativo<sup>69</sup> y hasta el momento no se ha demostrado que la intervención mejore el pronóstico de los pacientes<sup>18,79,152</sup>. Incluso, comparando los pacientes intervenidos siguiendo los criterios habituales con aquellos intervenidos más precozmente se observa que estos últimos presentan más complicaciones<sup>152</sup>.

En la línea de un abordaje más precoz se ha avanzado con la aparición de las prótesis percutáneas y, en este sentido, algunos expertos sostienen que todos los pacientes con IP severa asintomáticos deben someterse a RVP percutáneo antes del desarrollo de la dilatación o disfunción del VD<sup>151</sup>. Aunque el implante de prótesis pulmonar percutáneo está muy limitado en los pacientes con tracto de salida del VD nativo por criterios de tamaño del TSVD, este enfoque agresivo de intervención temprana debe contemplar otras complicaciones que conlleva el implante de estas prótesis como el riesgo de endocarditis infecciosa y la degeneración de estas válvulas<sup>153</sup>. De todos modos, es necesario demostrar que el RVP precoz percutáneo evita reintervenciones y tiene un impacto en los resultados clínicos y pronósticos<sup>14</sup>. En este sentido, pensamos que es muy

importante encontrar otras herramientas que nos ayuden a incrementar el conocimiento sobre la fisiopatología y diagnóstico de la disfunción ventricular derecha en estos pacientes. Los biomarcadores se presentan como una opción muy interesante que podría aportar esa información necesaria.

En la actualidad, no hay estudios que analicen estos biomarcadores en cardiopatía derecha y los realizados en pacientes con CC son escasos. Se ha publicado un trabajo que muestra la alteración en la expresión de GRK2 y AR en miocitos auriculares de pacientes con CC intervenidos con bypass cardiopulmonar<sup>154</sup>, que relaciona estos hallazgos con la vulnerabilidad que presenta el miocardio a las concentraciones de catecolaminas en este contexto y el daño miocárdico que esto puede producir. Aunque interesantes, los resultados de este estudio no son comparables a los mostrados en el presente trabajo puesto que la población de estudio se encuentra en situación estable y la extracción post-RVP se realiza un año después de la cirugía.



## **VII. LIMITACIONES**

---



---

El tamaño muestral del estudio es pequeño y, por lo tanto, el poder estadístico es limitado. Los trabajos publicados en pacientes con CC presentan un tamaño muestral bajo en comparación con trabajos referidos a patologías cardiacas adquiridas, y únicamente trabajos multicéntricos reúnen un número mayor de pacientes<sup>77</sup>. En nuestro estudio, aunque la IP es una complicación frecuente dentro de los pacientes con CC, el número absoluto de pacientes es bajo. Sin embargo, hay que considerar que se trata de un estudio prospectivo unicéntrico por lo que el número de pacientes incluidos se considera representativo y es similar al publicado en otros estudios unicéntricos sobre esta patología<sup>74,80,138</sup>.

Se trata de un estudio observacional y no consecutivo puesto que la inclusión de pacientes estuvo limitada a la disponibilidad del personal y de las técnicas de laboratorio, de ahí que se haya precisado de un tiempo de inclusión de tres años y medio para obtener un tamaño muestral adecuado. Por otro lado, no todas las muestras obtenidas fueron inicialmente procesadas debido a la baja calidad de estas.

El grupo de pacientes incluidos en el estudio no es homogéneo puesto que presentan IP secundaria a distintas cardiopatías de base, TF y EP, aunque no se observan diferencias en la expresión de AR y GRK en relación con la CC de base.

Otra limitación que puede considerarse es que los pacientes con IC avanzada no son comparables con los pacientes con IP grave porque representan una población con importante daño cardiaco y con afectación del VI, mientras que los pacientes con IP presentan afectación del VD. Pero el objetivo del estudio es estudiar si las alteraciones moleculares que

aparecen en pacientes con IC también están presentes en pacientes con IP grave, por eso se ha seleccionado a esta población.

Otro punto limitante es que en este trabajo no se ha realizado la determinación de los niveles de proteína de GRK2 y AR- $\beta$ 2. Los eventos celulares postranscripcionales pueden modular la traducción de las proteínas, por lo que hubiera sido interesante ver que los cambios en la expresión de los genes se correlacionan con los cambios en los niveles de proteínas, aunque los anticuerpos disponibles para la determinación de los receptores AR- $\beta$ 2 no son lo suficientemente fiables<sup>155</sup>.

La expresión génica de biomarcadores que se analiza en los pacientes intervenidos de RVP antes de la cirugía se determinó en el momento de la inclusión del estudio y no inmediatamente antes de la cirugía. Se desconoce cómo evolucionan estos marcadores con el tiempo, pero, en cualquier caso, dado que los pacientes ya presentaban indicación de cirugía en el momento de la inclusión no es esperable una normalización de la expresión de estas moléculas, por lo que los hallazgos se consideran igualmente interesantes.

## **VIII. CONCLUSIONES**

---



1. La expresión génica de GRK2 y AR- $\beta$ 2 se encuentra disminuida en los pacientes con IP grave y con IC avanzada respecto al grupo control.
2. No existen diferencias en la expresión génica de AR- $\beta$  y GRK en los pacientes con IP grave al compararlos por su clase funcional, volúmenes o función del VD.
3. El grupo de pacientes con IP grave con indicación de RVP en el momento de la inclusión no presentan diferencias en la expresión de AR- $\beta$  y GRK en comparación con los pacientes con IP grave sin indicación.
4. En el grupo de pacientes con IP grave intervenidos de RVP en el seguimiento los niveles de expresión génica de GRK2 están disminuidos en el momento de la inclusión en el estudio y aumentan tras la intervención a niveles similares a los del grupo control.



## **IX. FUTURAS INVESTIGACIONES**

---



En este trabajo se ha analizado la expresión génica de ARNm, pero no se ha determinado la expresión de la proteína debido a la cantidad limitada de material en las muestras. Esta limitación podría abordarse en un trabajo futuro mediante el uso de citometría de flujo para detectar la expresión en las diferentes poblaciones de células mononucleares.

La determinación de GRK y AR- $\beta$  se ha realizado únicamente una vez y desconocemos cómo evoluciona en el tiempo. Esto también abre una posible línea de investigación porque puede ser interesante no conocer un valor de forma puntual de estos biomarcadores, sino su evolución en el tiempo.

Además, el hecho de que tras el RVP un porcentaje importante de pacientes presenten disfunción de la prótesis implantada hace pensar que nuevas determinaciones de biomarcadores cuando se detecte la disfunción del homoinjerto o la bioprótesis podrían ser útiles. Por este motivo, sería interesante un futuro estudio multicéntrico con seguimiento prolongado después de la intervención de RVP, que incluya mediciones periódicas de los niveles de GRK2 y/o AR- $\beta$ 2 en FMLC, para obtener datos de la evolución de la expresión génica de estos marcadores tanto en pacientes en los que disfunciona la prótesis como en los que no.

A la luz de la relación inversa entre la expresión de GRK3 y el VTDVDi, su estudio tanto en corazón como en linfocitos y su relación con el daño cardíaco podría ser un tema interesante para futuras investigaciones.

Por otro lado, aunque es conocido que existen cambios de expresión génica en los AR y sus GRK reguladoras en diferentes enfermedades

cardiovasculares, el presente estudio expone por primera vez una expresión génica del AR- $\beta$ 2 y GRK2 similar en pacientes con IP e IC avanzada, sería necesario realizar estudios multicéntricos para conseguir un tamaño muestral mayor y obtener información pronóstica de estos hallazgos.

## **X. BIBLIOGRAFÍA**

---



1. Gatzoulis M, Webb G. Adults with congenital heart disease: a growing population. En: Gatzoulis M, Webb G, Daubeney P. *Diagnosis and Management of Adult Congenital Heart Disease*. 2<sup>a</sup> ed. Philadelphia. Elsevier Ltd.; 2011. p. 2–4.
2. Van Der Bom T, Bouma BJ, Meijboom FJ, Zwinderman AH, Mulder BJM. The prevalence of adult congenital heart disease, results from a systematic review and evidence based calculation. *Am Heart J*. 2012;164(4):568–75.
3. Pfitzer C, Helm PC, Ferentzi H, Rosenthal LM, Bauer UMM, Berger F, et al. Changing prevalence of severe congenital heart disease: results from the national register for congenital heart defects in Germany. *Congenit Heart Dis*. 2017;12(6):787–93.
4. Warnes CA, Libberthson R, Danielson GK, Dore A, Harris L, Hoffman JI, et al. Task force 1: the changing profile of congenital heart disease in adult life. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(5):1170–5.
5. Baumgartner H, Bonhoeffer P, De Groot NMS, De Haan F, Deanfield JE, Galie N, et al. ESC Guidelines for the management of grown-up congenital heart disease (new version 2010). *Eur Heart J*. 2010;31(23):2915–57.
6. Bhatt AB, Foster E, Kuehl K, Alpert J, Brabeck S, Crumb S, et al. Congenital heart disease in the older adult: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131(21):1884–1931.
7. Stout K, Daniels C, Aboulhosn J, Bozkurt B, Broberg C, Colman J, et al. 2018 AHA/ACC Guideline for the management of adults with congenital heart disease a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2019;139(14):e698–e800.

8. Baumgartner H, De Backer J, Babu-Narayan S V, Budts W, Chessa M, Diller G-P, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of adult congenital heart disease. *Eur Heart J*. 2020;1–83.
9. Wu MH, Lu CW, Chen HC, Kao FY, Huang SK. Adult congenital heart disease in a nationwide population 2000-2014: epidemiological trends, arrhythmia, and standardized mortality ratio. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(4):1–10.
10. Haddad F, Hunt SA, Rosenthal DN, Murphy DJ. Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. *Circulation*. 2008;117(11):1436–48.
11. Bashore TM. Adult congenital heart disease: Right ventricular outflow tract lesions. *Circulation*. 2007;115(14):1933–47.
12. Galian-gay L, Gordon B, Ramo J, Sureda C, Miranda B, Marti G, et al. Determinants of long-term outcome of repaired pulmonary valve stenosis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2020;73(2):131-138.
13. Valente AM, Cook S, Festa P, Ko HH, Krishnamurthy R, Taylor AM, et al. Multimodality imaging guidelines for patients with repaired Tetralogy of fallot: A report from the American society of echocardiography: developed in collaboration with the Society for cardiovascular magnetic resonance and the Society for pediatric radiol. *J Am Soc Echocardiogr*. 2014;27(2):111–41.
14. Torres-Alba F de, Kaleschke G, Baumgartner H. Impacto del implante percutáneo de válvula pulmonar en cuanto al momento de reintervenir por disfunción del tracto de salida del ventrículo derecho. *Rev Esp Cardiol*. 2018;71(10):838–46.
15. Vida VL, Guariento A, Castaldi B, Sambugaro M, Padalino MA, Milanese O, et al. Evolving strategies for preserving the pulmonary valve

- during early repair of tetralogy of Fallot: mid-term results. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(2):687–96.
16. Boni L, García E, Aguilar JM, Nuila LM, Melo M. Tetralogy of Fallot repair: surgical approach to RVOTO. *J Pediatr Cardiol Card Surg.* 2017;1(1):3741.
  17. Bouzas B, Kilner PJ, Gatzoulis MA. Pulmonary regurgitation: not a benign lesion. *Eur Heart J.* 2005;26(5):433–9.
  18. Ferraz Cavalcanti PE, Sá MPBO, Santos CA, Esmeraldo IM, Escobar RR De, Menezes AM De, et al. Pulmonary valve replacement after operative repair of Tetralogy of Fallot: meta-analysis and meta-regression of 3,118 patients from 48 studies. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(23):2227–43.
  19. Gregg D, Foster E. Pulmonary insufficiency is the nexus of late complications in tetralogy of fallot. *Curr Cardiol Rep.* 2007;9(4):315–22.
  20. Burchill LJ, Wald RM, Harris L, Colman JM, Silversides CK. Pulmonary valve replacement in adults with repaired Tetralogy of Fallot. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2011;14(1):92–7.
  21. Bokma JP, Winter MM, Oosterhof T, Vliegen HW, Van Dijk AP, Hazekamp MG, et al. Severe tricuspid regurgitation is predictive for adverse events in tetralogy of Fallot. *Heart.* 2015;101(10):794–9.
  22. Lee W, Yoo SJ, Roche SL, Kantor P, Van Arsdell G, Park EA, et al. Determinants and functional impact of restrictive physiology after repair of tetralogy of Fallot: new insights from magnetic resonance imaging. *Int J Cardiol.* 2013;167(4):1347–53.
  23. Geva T, Sandweiss BM, Gauvreau K, Lock JE, Powell AJ. Factors associated with impaired clinical status in long-term survivors of tetralogy of Fallot repair evaluated by magnetic resonance imaging. *J*

- Am Coll Cardiol.* 2004;43(6):1068–74.
24. Davlouros PA, Kilner PJ, Hornung TS, Li W, Francis JM, Moon JCC, et al. Right ventricular function in adults with repaired tetralogy of Fallot assessed with cardiovascular magnetic resonance imaging: detrimental role of right ventricular outflow aneurysms or akinesia and adverse right-to-left ventricular interaction. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(11):2044–52.
  25. Ghai A, Silversides C, Harris L, Webb GD, Siu SC, Therrien J. Left ventricular dysfunction is a risk factor for sudden cardiac death in adults late after repair of tetralogy of Fallot. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(9):1675–80.
  26. Diller GP, Dimopoulos K, Okonko D, Li W, Babu-Narayan SV, Broberg CS, et al. Exercise intolerance in adult congenital heart disease: comparative severity, correlates, and prognostic implication. *Circulation.* 2005;112(6):828–35.
  27. Müller J, Hager A, Diller GP, Derrick G, Buys R, Dubowy KO, et al. Peak oxygen uptake, ventilatory efficiency and QRS-duration predict event free survival in patients late after surgical repair of tetralogy of Fallot. *Int J Cardiol.* 2015;196:158–64.
  28. Gatzoulis MA, Balaji S, Webber SA, Siu SC, Hokanson JS, Poile C, et al. Risk factors for arrhythmia and sudden cardiac death late after repair of tetralogy of Fallot: a multicentre study. *Lancet.* 2000;356(9234):975–81.
  29. Villafañe J, Feinstein JA, Jenkins KJ, Vincent RN, Walsh EP, Dubin AM, et al. Hot topics in tetralogy of fallot. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(23):2155–66.
  30. Gatzoulis MA, Till JA, Somerville J, Redington AN. Mechanoelectrical interaction in tetralogy of Fallot. QRS prolongation relates to right

- ventricular size and predicts malignant ventricular arrhythmias and sudden death. *Circulation*. 1995;92(2):231–7.
31. Alonso P, Andres A, Rueda J, Buendia F, Igual B, Rodriguez M, et al. Value of the electrocardiogram as a predictor of right ventricular dysfunction in patients with chronic right ventricular volume overload. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2015;68(5):390–7.
  32. Valente AM, Gauvreau K, Assenza GE, Babu-Narayan S V, Schreier J, Gatzoulis MA, et al. Contemporary predictors of death and sustained ventricular tachycardia in patients with repaired tetralogy of Fallot enrolled in the INDICATOR cohort. *Heart*. 2014;100(3):247–53.
  33. Gatzoulis MA, Till JA, Redington AN. Depolarization-repolarization inhomogeneity after repair of tetralogy of Fallot. The substrate for malignant ventricular tachycardia? *Circulation*. 1997;95(2):401–4.
  34. Diller GP, Dimopoulos K, Okonko D, Uebing A, Broberg CS, Babu-Narayan S, et al. Heart rate response during exercise predicts survival in adults with congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(6):1250–6.
  35. Khairy P, Van Hare GF, Balaji S, Berul CI, Cecchin F, Cohen MI, et al. PACES/HRS Expert consensus statement on the recognition and management of arrhythmias in adult congenital heart disease: Executive summary: developed in partnership between the Pediatric and Congenital Electrophysiology Society (PACES) and the Heart Rhythm. *Heart Rhythm*. 2014;11(10):e81–101.
  36. Hernández-Madrid A, Paul T, Abrams D, Aziz PF, Blom NA, Chen J, et al. Arrhythmias in congenital heart disease: a position paper of the European Heart Rhythm Association (EHRA), Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), and the European Society of Cardiology (ESC) Working Group on Grown-up

- Congenit. *Europace*. 2018;20(11):1719–20.
37. Mah DY, Alexander ME, Cecchin F, Walsh EP, Triedman JK. The electroanatomic mechanisms of atrial tachycardia in patients with tetralogy of fallot and double outlet right ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22(9):1013–7.
  38. Dallaire F, Wald RM, Marelli A. The role of cardiopulmonary exercise testing for decision making in patients with repaired Tetralogy of Fallot. *Pediatr Cardiol*. 2017;38(6):1097–105.
  39. Babu-Narayan S V, Diller G-P, Gheta RR, Bastin AJ, Karonis T, Li W, et al. Clinical outcomes of surgical pulmonary valve replacement after repair of Tetralogy of Fallot and Potential prognostic value of preoperative cardiopulmonary exercise testing clinical perspective. *Circulation*. 2014;129(1):18–27.
  40. Zoghbi WA, Adams D, Bonow RO, Enriquez-Sarano M, Foster E, Grayburn PA, et al. Recommendations for noninvasive evaluation of native valvular regurgitation: a report from the American Society of Echocardiography developed in collaboration with the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance. *J Am Soc Echocardiogr*. 2017;30(4):303–71.
  41. Renella P, Aboulhosn J, Lohan DG, Jonnala P, Finn JP, Satou GM, et al. Two-dimensional and doppler echocardiography reliably predict severe pulmonary regurgitation as quantified by cardiac magnetic resonance. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(8):880–6.
  42. Beurskens NEG, Gorter TM, Pieper PG, Hoendermis ES, Bartelds B, Ebels T, et al. Diagnostic value of doppler echocardiography for identifying hemodynamic significant pulmonary valve regurgitation in Tetralogy of Fallot: comparison with cardiac MRI. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2017;33(11):1723–30.

43. Li W, Davlouros PA, Kilner PJ, Pennell DJ. Doppler-echocardiographic assessment of pulmonary regurgitation in adults with repaired tetralogy of Fallot: Comparison with cardiovascular. *Am Heart J*. 2004;147(1):165-72
44. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American society of echocardiography and the European association of cardiovascular imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(3):233-71.
45. Alghamdi MH, Grosse-Wortmann L, Ahmad N, Mertens L, Friedberg MK. Can simple echocardiographic measures reduce the number of cardiac magnetic resonance imaging studies to diagnose right ventricular enlargement in congenital heart disease? *J Am Soc Echocardiogr*. 2012;25(5):518-23.
46. Lai WW, Gauvreau K, Rivera ES, Saleeb S, Powell AJ, Geva T. Accuracy of guideline recommendations for two-dimensional quantification of the right ventricle by echocardiography. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2008;24(7):691-8.
47. Khoo NS, Young A, Occleshaw C, Cowan B, Zeng ISL, Gentles TL. Assessments of right ventricular volume and function using three-dimensional echocardiography in older children and adults with congenital heart disease: comparison with cardiac magnetic resonance imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2009;22(11):1279-88.
48. Iriart X, Montaudon M, Lafitte S, Chabaneix J, Réant P, Balbach T, et al. Right ventricle three-dimensional echography in corrected tetralogy of fallot: accuracy and variability. *Eur J Echocardiogr*. 2009;10(6):784-92.
49. Shimada YJ, Shiota M, Siegel RJ, Shiota T. Accuracy of right ventricular

- volumes and function determined by three-dimensional echocardiography in comparison with magnetic resonance imaging: a meta-analysis study. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010;23(9):943-53.
50. Grewal J, Majdalany D, Syed I, Pellikka P, Warnes CA. Three-dimensional echocardiographic assessment of right ventricular volume and function in adult patients with congenital heart disease: comparison with magnetic resonance imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010;23(2):127-33.
  51. Selly JB, Iriart X, Roubertie F, Mauriat P, Marek J, Guilhon E, et al. Multivariable assessment of the right ventricle by echocardiography in patients with repaired tetralogy of Fallot undergoing pulmonary valve replacement: A comparative study with magnetic resonance imaging. *Arch Cardiovasc Dis.* 2015;108(1):5-15.
  52. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography. Endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010;23(7):685-713.
  53. Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, Avian A, Heinzl B, Fandl A, et al. Tricuspid annular peak systolic velocity (s') in children and young adults with pulmonary artery hypertension secondary to congenital heart diseases, and in those with repaired tetralogy of fallot: echocardiography and MRI data. *J Am Soc Echocardiogr.* 2012;25(10):1041-9.
  54. Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, Everett AD, Stueger HP, Heinzl B, et al. Tricuspid annular plane systolic excursion and right

- ventricular ejection fraction in pediatric and adolescent patients with tetralogy of Fallot, patients with atrial septal defect, and age-matched normal subjects. *Clin Res Cardiol.* 2011;100(1):67–75.
55. Tamborini G, Muratori M, Brusoni D, Celeste F, Maffessanti F, Caiani EG, et al. Is right ventricular systolic function reduced after cardiac surgery? A two- and three-dimensional echocardiographic study. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10(5):630–4.
56. Sheehan FH, Kilner PJ, Sahn DJ, Vick GW, Stout KK, Ge S, et al. Accuracy of knowledge-based reconstruction for measurement of right ventricular volume and function in patients with Tetralogy of Fallot. *Am J Cardiol.* 2010;105(7):993–9.
57. Solarz DE, Witt SA, Glascock BJ, Jones FD, Khoury PR, Kimball TR. Right ventricular strain rate and strain analysis in patients with repaired tetralogy of Fallot: possible interventricular septal compensation. *J Am Soc Echocardiogr.* 2004;17(4):338–44.
58. Eyskens B, Brown SC, Claus P, Dymarkowski S, Gewillig M, Bogaert J, et al. The influence of pulmonary regurgitation on regional right ventricular function in children after surgical repair of tetralogy of Fallot. *Eur J Echocardiogr.* 2010;11(4):341–5.
59. Petersen SE, Khanji MY, Plein S, Lancellotti P, Bucciarelli-Ducci C. European Association of Cardiovascular Imaging expert consensus paper: a comprehensive review of cardiovascular magnetic resonance normal values of cardiac chamber size and aortic root in adults and recommendations for grading severity. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2019;20(12):1321–31.
60. Gallego P. Papel de la resonancia magnética en la evaluación de las valvulopatías. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64(SUPPL. 2):10–8.
61. Kilner PJ, Geva T, Kaemmerer H, Trindade PT, Schwitter J, Webb GD.

- Recommendations for cardiovascular magnetic resonance in adults with congenital heart disease from the respective working groups of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2010;31(7):794–805.
62. Knauth AL, Gauvreau K, Powell AJ, Landzberg MJ, Walsh EP, Lock JE, et al. Ventricular size and function assessed by cardiac MRI predict major adverse clinical outcomes late after tetralogy of Fallot repair. *Heart*. 2008;94(2):211–6.
63. Matsuo K, Kabasawa M, Asano S, Tateno S, Kawasoe Y, Okajima Y, et al. Surgical treatment for adult congenital heart disease: consideration for indications and procedures. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;66(2):57–64.
64. Dos L, Muñoz-Guijosa C, Mendez AB, Ginel A, Montiel J, Padro JM, et al. Long term outcome of mechanical valve prosthesis in the pulmonary position. *Int J Cardiol*. 2011;150(2):173–6.
65. Alkashkari W, Alsubei A, Hijazi ZM. Transcatheter pulmonary valve replacement: state of the art. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016;87(1):117–28.
66. Kheiwa A, Divanji P, Mahadevan VS. Transcatheter pulmonary valve implantation: will it replace surgical pulmonary valve replacement? *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2018;16(3):197–207.
67. Lurz P, Coats L, Khambadkone S, Nordmeyer J, Boudjemline Y, Schievano S, et al. Percutaneous pulmonary valve implantation: Impact of evolving technology and learning curve on clinical outcome. *Circulation*. 2008;117(15):1964–72.
68. Van Dijck I, Budts W, Cools B, Eyskens B, Boshoff DE, Heying R, et al. Infective endocarditis of a transcatheter pulmonary valve in comparison with surgical implants. *Heart*. 2015;101(10):788–93.
69. Lee C, Kim YM, Lee CH, Kwak JG, Park CS, Song JY, et al. Outcomes of

- pulmonary valve replacement in 170 patients with chronic pulmonary regurgitation after relief of right ventricular outflow tract obstruction: Implications for optimal timing of pulmonary valve replacement. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(11):1005–14.
70. Oliver JM, Garcia-Hamilton D, Gonzalez AE, Ruiz-Cantador J, Sanchez-Recalde A, Polo ML, et al. Risk factors for prosthetic pulmonary valve failure in patients with congenital heart disease. *Am J Cardiol.* 2015;116(8):1252–6.
71. Frigiola A, Tsang V, Bull C, Coats L, Khambadkone S, Derrick G, et al. Biventricular response after pulmonary valve replacement for right ventricular outflow tract dysfunction: is age a predictor of outcome? *Circulation.* 2008;118(14 Suppl):182–91.
72. Therrien J, Provost Y, Merchant N, Williams W, Colman J, Webb G. Optimal timing for pulmonary valve replacement in adults after tetralogy of Fallot repair. *Am J Cardiol.* 2005;95(6):779–82.
73. Oosterhof T, Van Straten A, Vliegen HW, Meijboom FJ, Van Dijk APJ, Spijkerboer AM, et al. Preoperative thresholds for pulmonary valve replacement in patients with corrected tetralogy of Fallot using cardiovascular magnetic resonance. *Circulation.* 2007;116(5):545–51.
74. Valsangiacomo ER, Dave HH, Kellenberger CJ, Dodge-Khatami A, Pretre R, Berger F, et al. Remodelling of the right ventricle after early pulmonary valve replacement in children with repaired tetralogy of Fallot: Assessment by cardiovascular magnetic resonance. *Eur Heart J.* 2005;26(24):2721–7.
75. Geva T, Gauvreau K, Powell AJ, Cecchin F, Rhodes J, Geva J, et al. Randomized trial of pulmonary valve replacement with and without right ventricular remodeling surgery. *Circulation.* 2010;122(11

Suppl):S201-8.

76. Heng EL, Gatzoulis MA, Uebing A, Sethia B, Uemura H, Smith GC, et al. Immediate and midterm cardiac remodeling after surgical pulmonary valve replacement in adults with repaired tetralogy of fallot: A prospective cardiovascular magnetic resonance and clinical study. *Circulation*. 2017;136(18):1703–13.
77. Bokma JP, Winter MM, Oosterhof T, Vliegen HW, Van Dijk AP, Hazekamp MG, et al. Preoperative thresholds for mid-to-late haemodynamic and clinical outcomes after pulmonary valve replacement in tetralogy of Fallot. *Eur Heart J*. 2016;37(10):829–35.
78. Gengsakul A, Harris L, Bradley TJ, Webb GD, Williams WG, Siu SC, et al. The impact of pulmonary valve replacement after tetralogy of Fallot repair: a matched comparison. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2007;32(3):462–8.
79. Harrild DM, Berul CI, Cecchin F, Geva T, Gauvreau K, Pigula F, et al. Pulmonary valve replacement in tetralogy of Fallot. Impact on survival and ventricular tachycardia. *Circulation*. 2009;119(3):445–51.
80. Therrien J, Siu SC, Harris L, Dore A, Niwa K, Janousek J, et al. Impact of pulmonary valve replacement on arrhythmia propensity late after repair of tetralogy of Fallot. *Circulation*. 2001;103(20):2489–94.
81. Paolino A, Hussain T, Pavon A, Velasco MN, Uribe S, Ordoñez A, et al. NT-proBNP as marker of ventricular dilatation and pulmonary regurgitation after surgical correction of Tetralogy of Fallot: a MRI validation study. *Pediatr Cardiol*. 2017;38(2):324–31.
82. Westhoff-Bleck M, Kornau F, Haghikia A, Horke A, Bertram H, Treptau J, et al. NT-proBNP indicates left ventricular impairment and adverse clinical outcome in patients with Tetralogy of Fallot and pulmonary

- regurgitation. *Can J Cardiol.* 2016;32(10):1247.e29-1247.e36.
83. Koch AME, Zink S, Glöckler M, Seeliger T, Dittrich S. Plasma levels of B-type natriuretic peptide in patients with tetralogy of Fallot after surgical repair. *Int J Cardiol.* 2010;143(2):130–4.
84. Cetin I, Tokel K, Varan B, Orün UA, Gökdemir M, Cindik N, et al. Evaluation of right ventricular functions and B-type natriuretic peptide levels by cardiopulmonary exercise test in patients with pulmonary regurgitation after repair of tetralogy of Fallot. *J Card Surg.* 2008;23:493–8.
85. Festa P, Ait-Ali L, Prontera C, De Marchi D, Fontana M, Emdin M, et al. Amino-terminal fragment of pro-brain natriuretic hormone identifies functional impairment and right ventricular overload in operated tetralogy of fallot patients. *Pediatr Cardiol.* 2007;28(5):339–45.
86. Eindhoven JA, Van den Bosch AE, Jansen PR, Boersma E, Roos-Hesselink JW. The usefulness of Brain Natriuretic Peptide in complex congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(21):2140–9.
87. Lai CTM, Chan KW, Wong SJ, Chow PC, Cheung YF. Circulating levels of biomarkers of collagen synthesis and ventricular function and dyssynchrony in adolescents and young adults after repair of tetralogy of Fallot. *Am Heart J.* 2011;162(3):467–73.
88. Rengo G, Pagano G, Filardi PP, Femminella GD, Parisi V, Cannavo A, et al. Prognostic value of lymphocyte G Protein-Coupled Receptor Kinase-2 protein levels in patients with heart failure. *Circ Res.* 2016;118(7):1116–24.
89. Guimarães S, Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol Rev.* 2001 Jun 1;53(2):319-356.
90. Baker AJ. Adrenergic signaling in heart failure: a balance of toxic and protective effects. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(6):1139–50.

91. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3(9):639–50.
92. Lohse MJ, Engelhardt S, Eschenhagen T. What is the role of  $\beta$ -adrenergic signaling in heart failure? *Circ Res.* 2003;93(10):896–906.
93. Rybin VO, Xu X, Lisanti MP, Steinberg SF. Differential targeting of  $\beta$ -adrenergic receptor subtypes and adenylyl cyclase to cardiomyocyte caveolae: A mechanism to functionally regulate the cAMP signaling pathway. *J Biol Chem.* 2000;275(52):41447–57.
94. Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG, et al. Subtype-specific  $\beta$ -adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci.* 2004;25(7):358–65.
95. Julie A. Pitcher, Neil J. Freedman and RJL. G protein-coupled receptor kinases. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:653.
96. Evans BA, Sato M, Sarwar M, Hutchinson DS, Summers RJ. Ligand-directed signalling at beta-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* 2010 Mar;159(5):1022–38.
97. Penela P, Ribas C, Sánchez-Madrid F, Mayor F. G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) as a multifunctional signaling hub. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(22):4423–46.
98. Penela P. Chapter three - Ubiquitination and protein turnover of G-Protein-Coupled Receptor Kinases in GPCR signaling and cellular regulation. En: Shenoy S. Progress in molecular biology and translational science. Ubiquitination and transmembrane Signaling. London: Elsevier Inc.; 2016. p. 85–140.
99. Port JD, Bristow MR. Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(5):887–905.

100. Engelhardt S, Böhm M, Erdmann E, Lohse MJ. Analysis of beta-adrenergic receptor mRNA levels in human ventricular biopsy specimens by quantitative polymerase chain reactions: progressive reduction of beta1-adrenergic receptor mRNA in heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27(1):146–54.
101. Lee S, Schwinger RHG, Brixius K. Genetically changed mice with chronic deficiency or overexpression of the  $\beta$ -adrenoceptors - What can we learn for the therapy of heart failure? *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2008;455(5):767–74.
102. Satwani S, Dec GW, Narula J. Beta-adrenergic blockers in heart failure: review of mechanisms of action and clinical outcomes. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2004;9(4):243-55.
103. Dorn GW, Tepe NM, Lorenz JN, Koch WJ, Liggett SB. Low and high level transgenic expression of beta2-adrenergic receptors differentially affect cardiac hypertrophy and function in galphaq-overexpressing mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(11):6400–5.
104. Schwarz B, Percy E, Gao XM, Dart AM, Richardt G, Du XJ. Altered calcium transient and development of hypertrophy in  $\beta$ 2-adrenoceptor overexpressing mice with and without pressure overload. *Eur J Heart Fail*. 2003;5(2):131–6.
105. Grisanti LA, Schumacher SM, Tilley DG, Koch WJ. Designer Approaches for G Protein-Coupled Receptor Modulation for Cardiovascular Disease. *JACC Basic Transl Sci*. 2018;3(4):550-562.
106. Iaccarino G, Barbato E, Cipolletta E, De Amicis V, Margulies KB, Leosco D, et al. Elevated myocardial and lymphocyte GRK2 expression and activity in human heart failure. *Eur Heart J*. 2005;26(17):1752–8.
107. Dzimiri N, Muiya P, Andres E, Al-Halees Z. Differential functional expression of human myocardial G protein receptor kinases in left

- ventricular cardiac diseases. *Eur J Pharmacol*. 2004;489(3):167–77.
108. Cho MC, Rapacciuolo A, Koch WJ, Kobayashi Y, Jones LR, Rockman HA. Defective  $\beta$ -adrenergic receptor signaling precedes the development of dilated cardiomyopathy in transgenic mice with calsequestrin overexpression. *J Biol Chem*. 1999;274(32):22251–6.
109. Leineweber K, Rohe P, Beilfu A, Wolf C, Sporkmann H, Bruck H, et al. G-protein-coupled receptor kinase activity in human heart failure: effects of beta-adrenoceptor blockade. *Cardiovasc Res*. 2005;66(3):512-9
110. Penela P, Nogués L, Mayor F. Role of G protein-coupled receptor kinases in cell migration. *Curr Opin Cell Biol*. 2014;27(1):10–7.
111. Vinge LE, Øie E, Andersson Y, Grøgaard HK, Andersen G, Attramadal H. Myocardial distribution and regulation of GRK and beta-arrestin isoforms in congestive heart failure in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281(6):H2490-9.
112. Montó F, Oliver E, Vicente D, Rueda J, Agüero J, Almenar L, et al. Different expression of adrenoceptors and GRKs in the human myocardium depends on heart failure ethiology and correlates to clinical variables. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2012;303(3):H368–76.
113. Liggett SB, Cresci S, Kelly RJ, Syed FM, Matkovich SJ, Hahn HS, et al. A GRK5 polymorphism that inhibits betaadrenergic receptor signaling is protective in heart failure. *Nat Med*. 2008;14: 510– 517.
114. Brodde O-E, Bruck H, Leineweber K. Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance. *J Pharmacol Sci*. 2006;100(5):323–37.
115. Ungerer M, Böhm M, Elce JS, Erdmann E LM. Altered expression of  $\beta$ -adrenergic receptor kinase and  $\beta$ 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation*. 1993;87(2):454–63.

116. Oliver E, Rovira E, Montó F, Valldecabres C, Julve R, Muedra V, et al. Beta-adrenoceptor and GRK3 expression in human lymphocytes is related to blood pressure and urinary albumin excretion. *J Hypertens.* 2010;28(6):1281–9.
117. Vinge LE, von Lueder TG, Aasum E, Qvigstad E, Gravning JA, How OJ, et al. Cardiac-restricted expression of the carboxyl-terminal fragment of GRK3 uncovers distinct functions of GRK3 in regulation of cardiac contractility and growth: GRK3 controls cardiac alpha1-adrenergic receptor responsiveness. *J Biol Chem.* 2008;283: 10601–10610.
118. Arnett DK, Devereux RB, Kitzman D, Oberman A, Hopkins P, Atwood L, et al. Linkage of left ventricular contractility to chromosome 11 in humans: The HyperGEN Study. *Hypertension.* 2001;38: 767–772.
119. Penela P, Murga C, Ribas C, Tutor AS, Peregrín S, Mayor F. Mechanisms of regulation of G protein-coupled receptor kinases (GRKs) and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2006;69(1):46–56.
120. Sato PY, Chuprun JK, Schwartz M, Koch WJ. The evolving impact of G Protein-coupled receptor kinases in cardiac health and disease. *Physiol Rev.* 2015;95(2):377–404.
121. Agüero J, Almenar L, Montó F, Oliver E, Sánchez-Lázaro I, Vicente D, et al. Myocardial G protein receptor-coupled kinase expression correlates with functional parameters and clinical severity in advanced heart failure. *J Card Fail.* 2012;18(1):53–61.
122. Oyama N, Urasawa K, Kaneta S, Sakai H, Saito T, Takagi C, et al. Chronic beta-adrenergic receptor stimulation enhances the expression of G-Protein coupled receptor kinases, GRK2 and GRK5, in both the heart and peripheral lymphocytes. *Circ J.* 2005;69:987–90.

123. Brodde OE, Kretsch R, Ikezono K, Zerkowski HR, Reidemeister JC. Human  $\beta$ -adrenoceptors: relation of myocardial and lymphocyte  $\beta$ -adrenoceptor density. *Science*. 1986;231(4745):1584–5.
124. Hata JA, Williams ML, Schroder JN, Lima B, Keys JR, Blaxall BC, et al. Lymphocyte Levels of GRK2 ( $\beta$ ARK1) mirror changes in the LVAD-supported failing human heart: lower GRK2 associated with improved  $\beta$ -adrenergic signaling after mechanical unloading. *J Card Fail*. 2006;12(5):360–8.
125. Michel MC, Beckeringh JJ, Ikezono K, Kretsch R, Brodde OE. Lymphocyte beta 2-adrenoceptors mirror precisely beta2-adrenoceptor, but poorly beta1-adrenoceptor changes in the human heart. *J Hypertens Suppl*. 1986;4(6):S215-8.
126. Sanders VM, Straub RH. Norepinephrine, the  $\beta$ -adrenergic receptor, and immunity. *Brain Behav Immun*. 2002;16(4):290–332.
127. Premont RT, Gainetdinov RR. Physiological roles of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Annu Rev Physiol*. 2007;69(1):511–34.
128. Kin NW. It takes nerve to tell T and B cells what to do. *J Leukoc Biol*. 2006;79(6):1093–104.
129. Yu XY, Lin SG, Wang XM, Liu Y, Zhang B, Lin QX, et al. Evidence for coexistence of three  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in human peripheral lymphocytes. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81(5):654–8.
130. Aarons RD, Nies AS, Gal J, Hegstrand LR, Molinoff PB. Elevation of  $\beta$ -adrenergic receptor density in human lymphocytes after propranolol administration. *J Clin Invest*. 1980;65(5):949–52.
131. Gros R, Benovic JL, Tan CM, Feldman RD. G-protein-coupled receptor kinase activity is increased in hypertension. *J Clin Invest*. 1997;99(9):2087–93.

132. Dzimiri N, Basco C, Moorji A, Afrane B, Al-halees Z. Signalling in patients with left ventricular volume overload disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29(3):181-8
133. Montó F, Oliver E, Vicente D, Buendía F, Rueda J, Agüero J, et al.  $\beta$ 2- and  $\beta$ 1-adrenoceptor expression exhibits a common regulatory pattern with GRK2 and GRK5 in human and animal models of cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015;66(5):478-86.
134. Tripodi D, Lyons S DD. Separation of peripheral leukocytes by Ficoll density gradient centrifugation. *Transplantation*. 1971;11(5):487-8.
135. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium extraction. *Anal Biochem*. 1987;162:156-9.
136. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
137. Geva T, Mulder B, Gauvreau K, Babu-Narayan SV, Wald RM, Hickey K, et al. Preoperative predictors of death and sustained ventricular tachycardia after pulmonary valve replacement in patients with repaired Tetralogy of Fallot enrolled in the INDICATOR cohort. *Circulation*. 2018;138(19):2106-2115.
138. Hallbergson A, Gauvreau K, Powell AJ, Geva T. Right ventricular remodeling after pulmonary valve replacement: early gains, late losses. *Ann Thorac Surg*. 2015;99(2):660-6.
139. Vinge LE, Andressen KW, Attramadal T, Andersen GØ, Ahmed MS, Peppel K, et al. Substrate specificities of G Protein-Coupled receptor kinase-2 and -3 at cardiac myocyte receptors provide basis for distinct roles in regulation of myocardial function. *Mol Pharmacol*. 2007;72(3):582-91
140. Gao W-Q, Han C-G, Lu X-C, Liu Y-X, Hui H-P, Wang H. GRK 2 level in

- peripheral blood lymphocytes of elderly patients with acute myocardial infarction. *J Geriatr Cardiol*. 2013;10(3):281–5.
141. Sanders VM. The beta2-adrenergic receptor on T and B lymphocytes: Do we understand it yet? *Brain Behav Immun*. 2012;26(2):195–200.
  142. Murray DR, Polizzi SM, Harris T, Wilson N, Michel MC MA. Prolonged isoproterenol treatment alters immunoregulatory cell traffic and function in the rat. *Brain Behav Immun*. 1993;47–62.
  143. Kameda K, Matsunaga T, Abe N, Hanada H, Ishizaka H, Ono H, et al. Correlation of oxidative stress with activity of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery disease. Possible role for left ventricular remodelling. *Eur Heart J*. 2003;24(24):2180–5.
  144. Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, Januzzi JL. Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(11):1324–40.
  145. Paulus WJ, Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: Comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(4):263–71.
  146. Lombardi MS, Kavelaars A, Penela P, Scholtens EJ, Roccio M, Schmidt RE, et al. Oxidative stress decreases G protein-coupled receptor kinase 2 in lymphocytes via a calpain-dependent mechanism. *Mol Pharmacol*. 2002;62(2):379–88.
  147. Marino F, Cosentino M. Adrenergic modulation of immune cells: An update. *Amino Acids*. 2013;45(1):55–71.
  148. Ping P, Anzai T, Gao M, Hammond HK. Adenylyl cyclase and G protein receptor kinase expression during development of heart failure. *Am J Physiol Circ Physiol*. 1997;273(2):H707–17.

149. Iaccarino G, Tomhave ED, Lefkowitz RJ, Koch WJ. Reciprocal in vivo regulation of myocardial G protein-coupled receptor kinase expression by  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation and blockade. *Circulation*. 1998;98(17):1783–9.
150. Quail MA, Frigiola A, Giardini A, Muthurangu V, Hughes M, Lurz P, et al. Impact of pulmonary valve replacement in tetralogy of fallot with pulmonary regurgitation: a comparison of intervention and nonintervention. *Ann Thorac Surg*. 2012;94(5):1619–26.
151. Borik S, Crean A, Horlick E, Osten M, Lee KJ, Chaturvedi R, et al. Percutaneous pulmonary valve implantation: 5 years of follow-up does age influence outcomes? *Circ Cardiovasc Interv*. 2015;8(2):1–11.
152. Bokma JP, Geva T, Sleeper LA, Babu Narayan S V., Wald R, Hickey K, et al. A propensity score-adjusted analysis of clinical outcomes after pulmonary valve replacement in tetralogy of Fallot. *Heart*. 2018;104(9):738–44.
153. Aboulhosn J, Levi DS. Percutaneous pulmonary valve implantation is earlier valve implantation better? *Circ Cardiovasc Interv*. 2015;8(2):e002260.
154. Oliveira MS, Carmona F, Vicente WVA, Manso PH, Mata KM, Celes MR, et al. Increased atrial  $\beta$ -adrenergic receptors and GRK-2 gene expression can play a fundamental role in heart failure after repair of congenital heart disease with cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol*. 2017;38(4):734–45.
155. Michel MC, Wieland T, Tsujimoto G. How reliable are G-protein-coupled receptor antibodies? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2009;379(4):385-8.



## **XI. ANEXOS**

---



# ANEXO I



## HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

<p>Versión de la HIP: Primera</p>	<p>Fecha de la versión: 7/4/2016</p>
<p><b>Investigador Principal:</b>          María Rodríguez Serrano.          Facultativo Especialista de Cardiología. Hospital de Manises.          maria.rodriguez.serrano@gmail.com</p>	
<p><b>CENTRO:</b> Hospital Universitario y Politécnico La Fe</p>	
<p><b>Título del proyecto de investigación:</b>          Determinación de marcadores moleculares en la insuficiencia pulmonar grave de pacientes adultos con cardiopatía congénita. ¿Son útiles para la indicación quirúrgica?</p>	

### 1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico la Fe.

Nuestra intención es tan sólo 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 oportunas.

### 2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar 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:

Se trata de un trabajo de investigación dirigido a pacientes adultos que nacieron con una enfermedad del corazón (cardiopatía congénita) y que tuvieron que ser operados por ese motivo. En relación a esa intervención han desarrollado un problema en una de las válvulas del corazón, concretamente en la válvula pulmonar que no es capaz de cerrarse correctamente (insuficiencia valvular pulmonar).

Los pacientes que padecen esta anomalía son controlados en la consulta de cardiopatías congénitas del adulto porque pueden desarrollar complicaciones a lo largo de la evolución y en muchos casos necesitan nuevas intervenciones quirúrgicas.

El conocimiento científico sobre este problema en concreto no es muy extenso. De hecho existen opiniones diferentes sobre decisiones tan importantes como cuando es el momento idóneo para indicar una nueva cirugía y reemplazar así la válvula pulmonar que no funciona correctamente.

El objetivo de este trabajo es estudiar en profundidad este problema. Para ello se analizarán en el laboratorio muestras de sangre del paciente. De estas muestras se extraerá un tipo de células (linfocitos) en las que se puede medir una serie de moléculas (receptores adrenérgicos y quinasas que modulan la actividad de los receptores) que informan sobre el funcionamiento del corazón. Esta determinación es bastante novedosa y no se realiza de forma habitual.

Los datos de laboratorio de los pacientes incluidos se compararan con los datos de 20 personas voluntarias sanas a los que se realizará las mismas pruebas.

Además de esta analítica, se recogerán y analizarán los datos obtenidos en las ecocardiografías, resonancias magnéticas de corazón y electrocardiogramas que los pacientes se realizan de forma habitual en el seguimiento en la consulta de cardiopatías congénitas del adulto.

La muestra de sangre obtenida no se utilizará para ningún otro propósito y será destruida y eliminada como manda el reglamento de eliminación de restos biológicos.

Una vez el paciente entienda el estudio y dé su consentimiento será incluido en el estudio. Esto no supondrá ninguna visita extraordinaria al hospital más allá de las visitas programadas para la consulta de cardiopatías congénitas del adulto. En la primera visita se realizará la primera extracción de sangre (10 ml).

Si durante la evolución de la enfermedad fuese necesario realizar una operación de corazón para sustituir la válvula pulmonar (que no funciona



correctamente) se realizará una nueva extracción de una muestra sanguínea (10 ml) trascurrido el año tras la intervención.

#### **4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

La participación en el estudio no supone ninguna modificación de tratamiento ni de seguimiento; por lo que los pacientes incluidos no afrontarán ningún peligro adicional para su salud. La única diferencia entre los pacientes incluidos y no incluidos en el estudio, es que a los primeros se les realizarán dos analíticas de sangre (10 ml) que no son estrictamente necesaria en el seguimiento habitual.

Los pacientes incluidos no obtendrán un beneficio directo de los resultados de este estudio. No obstante podrán conocer, si lo desean, los resultados de la analítica realizada.

Los pacientes incluidos colaboraran con el progreso científico en este campo, contribuyendo al beneficio de otros pacientes en su misma situación.

#### **5. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS:**

Como se ha comentado en apartados anteriores, los pacientes incluidos no recibirán ningún tipo de tratamiento por el hecho de estar incluidos en el estudio.

#### **6. Nº DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:**

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con el médico del estudio Dr. JOAQUÍN RUEDA SORIANO en el número de teléfono 963862700-Ext: 440088

#### **7. 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.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, siguiendo un mecanismo de disociación de modo que sólo el médico responsable del



registro (Dña. María Rodríguez Serrano) podrá relacionar dichos datos con Usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

Sólo se tramitarán 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. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio.

#### **8. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:**

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

### MODELO DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

**Título del estudio:** Determinación de marcadores moleculares en la insuficiencia pulmonar grave de pacientes adultos con cardiopatía congénita. ¿Son útiles para la indicación quirúrgica?

Yo, .....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
He podido hacer preguntas sobre el estudio.  
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: MARÍA RODRÍGUEZ SERRANO

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:  
Fecha:

Nombre:  
Fecha:

## ANEXO II



Dña. María Rodríguez Serrano  
Servicio de Cardiología

*Asunto: Autorización Inicio Estudio.*

Valencia, 27 de septiembre de 2016

Adjunto le remito copia de los Informes Científico y Ético de Investigación, en el que se acuerda informar **favorablemente** sobre el Proyecto de Tesis titulado "DETERMINACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES EN LA INSUFICIENCIA PULMONAR GRAVE DE PACIENTES ADULTOS CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA. ¿SON ÚTILES PARA LA INDICACIÓN QUIRÚRGICA?", por usted presentado.

A la vista de los dictámenes emitidos, dicho Proyecto, puede iniciarse y llevarse a cabo.

Atentamente,



José María Millán Salvador  
Director General



Instituto de  
Investigación  
Sanitaria La Fe

Valencia a 27 de septiembre de 2016

El **Dr. Rafael Botella Estrada**, Presidente de la Comisión de Investigación del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe,

**INFORMA:**

Que el Proyecto de Tesis titulado: "DETERMINACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES EN LA INSUFICIENCIA PULMONAR GRAVE DE PACIENTES ADULTOS CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA. ¿SON ÚTILES PARA LA INDICACIÓN QUIRÚRGICA?" siendo los Directores de la Tesis el Dr. Joaquín Rueda Soriano y la Dra. Ana M<sup>a</sup> Osa Sáez, el Tutor del Hospital el Dr. Luis Martínez Dolz, del Servicio / Unidad / Grupo Acreditado de Cardiología del Hospital U. i P. La Fe, y el Doctorando **Dña. María Rodríguez Serrano**, contiene elementos objetivos suficientes en cuanto a la Hipótesis, Planteamientos y Plan de Trabajo que, a juicio de esta Comisión, permiten pronunciarse positivamente en cuanto a su viabilidad.



Rafael Botella Estrada

Presidente de la Comisión de Investigación

Dra. INMACULADA CALVO PENADES (Reumatología Pediátrica)  
Dr. JOSE VICENTE CASTELL RIPOLL (Hepatología Experimental)  
Dra. MARIA JOSE GOMEZ-LECHON MOLINER (Investigadora del Grupo Acreditado en Hepatología Experimental)  
Dr. JOSE LOPEZ ALDEGUER (Enfermedades Infecciosas)  
Dr. JAVIER PEMAN GARCIA (Investigador del Grupo Acreditado multidisciplinar para el estudio de la Infección Grave)  
Dr. ALFREDO PERALES MARIN (Jefe de Servicio - Obstetricia)  
Dra. PILAR SAENZ GONZALEZ (Neonatología)  
Dr. MELCHOR HOYOS GARCIA ()  
Dra. BEGOÑA POLO MIQUEL (Gastroenterología Pediátrica)  
Dr. ISIDRO VITORIA MINANA (Pediatria)  
Dra. EUGENIA PAREJA IBARS (Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático)  
Dr. JAIME SANZ CABALLER (Investigador del Grupo Acreditado en Hematología y Hemoterapia)  
Dra. PILAR SEPULVEDA SANCHIS (Cardiocirculatorio)  
Dra. MARIA LUISA MARTINEZ TRIGUERO (Análisis Clínicos)  
Dra. MARIA TORDERA BAVIERA (Farmacéutica del Hospital)  
Dr. ENRIQUE VIOSCA HERRERO (Jefe de Servicio - Medicina Física y Rehabilitación)  
Dr. EDUARDO GARCIA-GRANERO XIMENEZ (Cirugía General y Digestivo)  
Dr. RAFAEL BOTELLA ESTRADA (Dermatología)  
Dr. OSCAR DIAZ CAMBRONERO (Anestesia y Reanimación)

Lo que firmo en Valencia, a 12 de julio de 2016



Fdo.: Don Serafín Rodríguez Capellán  
Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica



FPNT-CEIB-07 (A)

## DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Don Serafín Rodríguez Capellán, Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **12 de julio de 2016**, el Proyecto de Tesis:

Título: **“DETERMINACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES EN LA INSUFICIENCIA PULMONAR GRAVE DE PACIENTES ADULTOS CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA. ¿SON ÚTILES PARA LA INDICACIÓN QUIRÚRGICA?”**

Nº de registro **2016/0280**

Versión/fecha de la memoria del proyecto: **PROYECTO TESIS/ 08 de julio de 2016**

Versión/fecha de la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado:

**Segunda/ 08 de julio de 2016**

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia, este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Tesis que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, siendo los Directores de la Tesis el **Dr. JOAQUÍN RUEDA SORIANO** y la **Dra. ANA Mª OSA SÁEZ**, del servicio/unidad/grupo de investigación de **CARDIOLOGÍA**, el Tutor del Hospital el/la **Dr./ Dra. LUIS MARTÍNEZ DOLZ** del servicio/unidad/grupo de investigación de **CARDIOLOGÍA**, y el **DOCTORANDO D./ Dña. MARIA RODRIGUEZ SERRANO**.

Miembros del CEIB:

**Presidente:**

Dr. JOAN SALOM SANVALERO (Unidad de Circulación Cerebral Experimental)

**Vicepresidente:**

Dr. JOSE VICENTE CERVERA ZAMORA (Hematología)

**Secretario:**

D. SERAFIN RODRIGUEZ CAPELLAN (Licenciado en derecho-Ajeno profesión sanitaria)

**Miembros:**

Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER (Catedrático Farmacólogo Clínico)

Dr. LUIS ALMENAR BONET (Cardiología)

Dra. ESTHER ZORIO GRIMA (Cardiología)

Dra. BELEN BELTRAN NICLOS (Medicina Digestiva)

