



**Universidad de Sevilla**

Programa Oficial de Doctorado en Biología Molecular y Biomedicina

**TESIS DOCTORAL**

**Evolución de las subpoblaciones de monocitos  
circulantes en pacientes con insuficiencia cardíaca que  
mejoran la fracción de eyección**

Autor: Antonio Grande Trillo

Directores: Dr D. José Antonio Ordóñez Fernández

Dr D. José Manuel Sobrino Márquez

*A mi familia. A mi mujer Elisabeth y mis hijos Eva, Diego y Martín, quienes dan sentido a todo y me hacen crecer, son los pilares de mi felicidad. A mi madre, mi hermano y mi abuela, fanes incondicionales de mi trabajo que esperan grandes cosas de mí sobre las que uno espera estar a la altura. Y a mi abuelo, que en paz descansa, mi modelo y de quien aspiro a parecerme como persona, ojalá llegue a conseguirlo.*

## **Agradecimientos**

Me gustaría agradecer a todos los que han hecho posible este trabajo de una u otra forma.

A mis directores Antonio Ordóñez y Manolo Sobrino, y a mi tutor Gonzalo Barón. Gracias Antonio por tu inagotable ilusión, has sido faro y guía de este trabajo y sé que sin ti no lo habría conseguido, es una suerte que te guste enseñar a personas como yo que estamos muy lejos de lo que has llegado a conseguir. Gracias Manolo porque sin tu ayuda ni si quiera hoy me estaría dedicando a la insuficiencia cardíaca y porque siempre has visto en mí a un compañero. Gracias Gonzalo porque siempre has confiado en mi trabajo dándome un apoyo incondicional.

A mis compañeros de la unidad de insuficiencia cardíaca que han colaborado estrechamente en el trabajo: mi director Manolo Sobrino; mi compañero y amigo Diego Rangel, sin el que ahora mismo no podría entender la insuficiencia cardíaca y con quien formo la definición perfecta de equipo; mi amiga Iris Esteve, por suerte el destino nos puso juntos y siempre ha creído en mí; y Antonio Aranda, siempre trabajando con una alegría contagiosa.

Al grupo de trabajo de Fisiopatología Cardiovascular del Instituto de Biomedicina de Sevilla, pilar imprescindible de esta Tesis. Agradecer su capacidad de facilitar el trabajo conjunto y en especial a Elisa Bevilacqua y Raquel del Toro, no sólo por su enorme ayuda con la recogida de muestras y su labor del procesado de las mismas, sino por su ayuda constructiva en este trabajo y su amabilidad y paciencia cuando un cardiólogo les preguntaba cosas, seguramente absurdas, sobre citómetros y células.

A los compañeros Antonio Ortiz y Eva Cantero que realizaron los estudios de ecocardiografía de los pacientes que se han incluido en este trabajo, siempre con una car amable.

A mis compañeros de Cardiología del Hospital Universitario Virgen del Rocío, quienes no sólo me han ayudado a reclutar los pacientes de este estudio buscándome y confiando en mí, como siguen haciendo, cada vez que ingresa un paciente con insuficiencia cardíaca, sino que además hacen que cada día en el trabajo sea ameno y divertido.

A la cardiología, que me ha apasionado haciendo que disfrute de mi trabajo y además me ha dado grandes amigos.

# ÍNDICE

1. Introducción
  - 1.1 Las enfermedades cardiovasculares
  - 1.2 Insuficiencia cardíaca
    - 1.2.1 Epidemiología
    - 1.2.2 Definición y etapas
    - 1.2.3 Fisiopatología
    - 1.2.4 Historia natural
    - 1.2.5 Tratamiento actual
  - 1.3 La inflamación en la insuficiencia cardíaca
    - 1.3.1 Efectos de la inflamación en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca
  - 1.4 Los monocitos, sus subpoblaciones y el papel en la insuficiencia cardíaca.
    - 1.4.1 Clasificaciones de los subtipos de monocitos.
    - 1.4.2 El papel de los monocitos en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca
    - 1.4.3 Las subpoblaciones de monocitos en la insuficiencia cardíaca.
  - 1.5 Remodelado inverso en pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida.
    - 1.5.1 Pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada
    - 1.5.2 ¿Miocardio recuperado o mejorado?
    - 1.5.3 Marcadores pronósticos de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada....

## 2. Objetivos

- 2.1 Hipótesis de trabajo
- 2.2 Objetivos primarios
- 2.3 Objetivos secundarios

## 3. Materiales y métodos

- 3.1 Diseño y población de estudio
  - 3.1.1 Cálculo del tamaño muestral
- 3.2 Protocolo del estudio
- 3.3 Definición de variables basales
- 3.4 Ecocardiografía transtorácica
- 3.5 Muestra sanguínea para calcular subpoblaciones de monocitos.
- 3.6 Análisis de los datos

## 4. Resultados

- 4.1 Diagrama de flujo de la población
- 4.2 Factores relacionados con la mejoría de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo
  - 4.2.1 Relación con las características basales
  - 4.2.2 Relación con los parámetros analíticos basales
  - 4.2.3 Relación con los parámetros basales de la evaluación cardiológica
  - 4.2.4 Relación con la etiología de la disfunción sistólica del ventrículo
  - 4.2.5 Relación con los tratamientos pronóstico de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida.

- 4.3 Evolución de variables antropométricas, analíticas y ecocardiográficas en pacientes que mejoran la función sistólica del ventrículo izquierdo
- 4.4 Relación entre las subpoblaciones de monocitos y la mejoría de fracción de eyección
  - 4.4.1 Distribución de las subpoblaciones de monocitos a nivel basal y relación con la mejoría de fracción de eyección
  - 4.4.2 Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos
  - 4.4.3 Distribución de las subpoblaciones de monocitos a los 6 meses
  - 4.4.4 Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos a los 6 meses de seguimiento
  - 4.4.5 Cambios en las subpoblaciones de monocitos con el tratamiento
- 4.5 Predicción de mejoría de la fracción de eyección
- 4.6 Diferencias en las subpoblaciones de monocitos respecto a una cohorte de voluntarios sanos
  - 4.6.1 Diferencias en la subpoblaciones de monocitos entre los pacientes con insuficiencia cardíaca de debut en la muestra basal y los voluntarios sanos.
  - 4.6.2 Diferencias en la subpoblaciones de monocitos entre los pacientes que han mejorado la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y los voluntarios sanos.
- 4.7 Evolución de los pacientes con fracción de eyección mejorada en función de las subpoblaciones de monocitos
  - 4.7.1 Ratio entre monocitos intermedios y monocitos como predictor de recaída de la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo

## 5. Discusión

### 5.1 Predictores clínicos de mejoría de función sistólica

5.1.1 Cambios clínicos del subgrupo que mejora la fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

### 5.2 El papel pronóstico de las subpoblaciones de monocitos en la insuficiencia cardíaca

5.2.1 Subpoblaciones de monocitos circulantes como predictor de mejoría de función sistólica

5.2.2 Cambios en las subpoblaciones de monocitos durante el seguimiento

### 5.3 Comparación de las subpoblaciones de monocitos circulantes con una cohorte de controles sanos

5.3.1 Comparación entre controles sanos y pacientes que debutan con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección deprimida

5.3.2 Comparación entre controles sanos y los pacientes que han alcanzado insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.

### 5.4 Evolución de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.

5.4.1 Predicción de pacientes que volverán a deteriorar la función sistólica.

## 6. Conclusiones

## 7. Anexo 1. Documentos de Comité de Ética

## 8. Bibliografía

## **Abreviaturas**

ECG: Electrocardiograma

HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.

ICFEp: Insuficiencia Cardíaca con fracción de eyección preservada.

ICFEr: Insuficiencia Cardíaca con fracción de eyección reducida.

i-SGLT2: Inhibidores del co-transportador sodio-glucosa 2

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

IL: Interleuquina.

Ratio MI/MNC: Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos.

SRAA: Sistema renina-angiotensina-aldosterona.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

TRC: Terapia de resincronización cardíaca

# **1. INTRODUCCIÓN**

## 1.1.- Las enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares continúan siendo actualmente la primera causa de muerte en nuestro país provocando en torno a un 24% de los fallecimientos, por delante del cáncer (1). Atendiendo a patologías concretas de hecho, la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular son, exceptuando la covid-19, la primera y segunda causa de muerte respectivamente, por delante del cáncer de bronquios y pulmón.

Si bien es cierto que en los últimos años existe una tendencia descendente del infarto agudo de miocardio y los accidentes cerebrovasculares, la incidencia de la hipertensión arterial o la diabetes mellitus están en aumento.

Por tanto, las enfermedades cardiovasculares siguen provocando actualmente una morbimortalidad altísima en países occidentales que condiciona, además de ésta, un gran coste sanitario dedicado a atender la patología aguda y las secuelas que conllevan. Esto las ha convertido, y sigue por tanto vigente, en un foco prioritario de investigación en nuestro entorno.

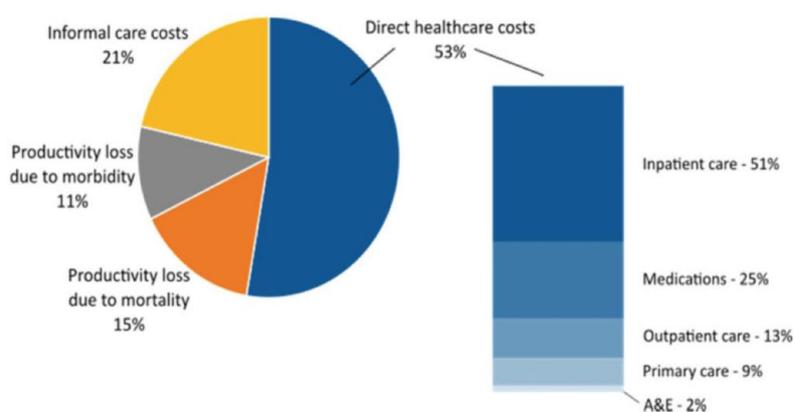


Figura 1. Costes de las enfermedades cardiovasculares directos e indirectos. Extraído de: Timmis et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. Eur Heart J 2019; 0: 1-74.

## 1.2. Insuficiencia cardíaca

### 1.2.1. Epidemiología

La insuficiencia cardíaca es un problema de salud pública por su coste sanitario y social. Se estima que los países occidentales destinan en torno a un 2 % del gasto sanitario total en insuficiencia cardíaca, la mayoría en los ingresos hospitalarios, y actualmente la insuficiencia cardíaca es la sexta causa de muerte en España según el Instituto Nacional de Estadística (1).

#### Defunciones según las causas de muerte más frecuentes. Año 2020

Valores absolutos y variación porcentual

	Total	Hombres	Mujeres	Variación total 2020/2019	Variación hombres 2020/2019	Variación mujeres 2020/2019
Total enfermedades	493.776	249.664	244.112	17,9%	17,4%	18,5%
Covid-19 virus identificado	60.358	32.498	27.860	..	..	..
Enfermedades isquémicas del corazón	29.654	18.123	11.531	1,4%	2,3%	-0,1%
Enfermedades cerebrovasculares	25.817	11.264	14.553	0,4%	1,6%	-0,5%
Cáncer de bronquios y pulmón	21.893	16.599	5.294	-0,4%	-1,9%	4,4%
Demencia	20.822	6.622	14.200	-5,9%	-10,4%	-3,6%
Insuficiencia cardíaca	19.358	7.597	11.761	1,7%	2,8%	0,9%
Enfermedad de Alzheimer	15.571	4.515	11.056	6,4%	3,9%	7,4%
Covid-19 sospechoso	14.481	6.419	8.062	..	..	..
Enfermedad hipertensiva	14.271	4.694	9.577	20,4%	22,5%	19,4%
Enf. crónicas de las vías respiratorias inferiores	12.734	9.044	3.690	-7,8%	-8,7%	-5,4%
Diabetes mellitus	11.297	5.084	6.213	17,1%	17,4%	16,9%
Cáncer de colon	11.131	6.394	4.737	-3,6%	-5,4%	-1,1%
Neumonía	8.768	4.704	4.064	-6,6%	-2,7%	-10,6%
Cáncer de páncreas	7.427	3.824	3.603	1,6%	3,4%	-0,3%
Insuficiencia renal	7.351	3.342	4.009	1,7%	0,2%	3,0%

Figura 2. Causas más frecuentes de defunciones en España en el año 2020 y variaciones respecto a años previos. Extraídos de: Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la Causa de Muerte - Año 2020. Disponible en: [https://www.ine.es/prensa/edcm\\_2020.pdf](https://www.ine.es/prensa/edcm_2020.pdf)

La prevalencia de insuficiencia cardíaca supera en los estudios españoles el 5 % y se incrementa de forma drástica con la edad superando el 16 % en mayores de 75 años (3), lo cual explica que el envejecimiento de la población y la menor mortalidad de las patologías que conducen a la insuficiencia cardíaca, como la cardiopatía isquémica, estén conduciendo a un aumento progresivo de los ingresos hospitalarios por insuficiencia cardíaca en nuestro medio como resaltan los informes del registro RECALCAR (4).

La insuficiencia cardíaca supone actualmente la causa más frecuente de ingresos en mayores de 65 años y supone entre en 1 y 3 % de todos los ingresos hospitalarios de los países desarrollados (5), siendo precisamente los ingresos donde se destina la mayor parte del gasto sanitario de la atención a la insuficiencia cardíaca. Además, de los pacientes que ingresan por una descompensación de insuficiencia cardíaca, en torno a uno de cada cuatro presentan un reingreso en el primer mes tras el alta (6).

### **1.2.2. Definición y etapas**

La insuficiencia cardíaca se define como un síndrome clínico caracterizado por síntomas típicos (Disnea, hinchazón de tobillos y cansancio) que puede acompañarse de signos (Ingurgitación yugular, crepitantes pulmonares o edemas periféricos) causado por una anomalía cardíaca estructural y/o funcional que conduce a una reducción del gasto cardíaco y/o elevación de las presiones intracavitarias en reposo o durante el ejercicio (7).

Otras enfermedades cardiovasculares como la cardiopatía isquémica, miocardiopatías o la hipertensión arterial por ejemplo, pueden ocasionar alteraciones estructurales que deriven en el desarrollo de insuficiencia cardíaca que, por tanto, es una vía común a todas ellas. Por ello, las guías americanas de insuficiencia cardíaca (8) definen cuatro fases de la enfermedad:

- Etapa A: En riesgo para desarrollar insuficiencia cardíaca pero sin alteración estructural cardíaca o síntomas de insuficiencia cardíaca (Por ejemplo un paciente con hipertensión arterial)

- Etapa B: Con alteración estructural cardíaca pero sin signos ni síntomas de insuficiencia cardíaca (Por ejemplo un paciente con cardiopatía hipertensiva pero aún asintomático)
- Etapa C: Que tiene o ha tenido síntomas de insuficiencia cardíaca
- Etapa D: Insuficiencia cardíaca refractaria que requiere de intervenciones especializadas.

De la clasificación anterior cabe destacar el concepto del contínuum de la insuficiencia cardíaca, que es una enfermedad crónica y progresiva que comienza cuando el paciente presenta patologías que la predisponen y en la que el desarrollo de síntomas supone un cambio relevante en la historia de la enfermedad.

Además, es importante reseñar que debemos explicar otra clasificación fundamental que se produce en relación con la función sistólica del ventrículo izquierdo, ya que las entidades que se derivan de esta clasificación si bien pueden parecer lo mismo tienen una fisiopatología diferente y, sobre todo, responden de forma diferente a los tratamientos por lo que es básica para el manejo clínico y la identificación de poblaciones en los estudios. Así, en función de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), las vigentes guías europeas de insuficiencia cardíaca definen los siguientes fenotipos:

- FEVI menor o igual al 40%: insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (ICFEr)
- FEVI entre el 41 y el 49%: insuficiencia cardíaca con fracción de eyección ligeramente reducida.
- FEVI igual o mayor al 50%: insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (ICFEp)

### 1.2.3. Fisiopatología

La insuficiencia cardíaca comienza con un suceso que daña el músculo cardíaco, bien de forma brusca como un infarto agudo de miocardio o bien de forma gradual o insidiosa como una sobrecarga mantenida de presión o volumen. Por causas aún no aclaradas los pacientes permanecen asintomáticos un tiempo indeterminado en el que mecanismos compensadores modulan la función del ventrículo izquierdo dentro de unos límites fisiológicos/homeostáticos, pero a medida que los pacientes comienzan con síntomas de insuficiencia cardíaca la activación mantenida del sistema neurohormonal provoca una serie de cambios en el corazón a los que se les llama en su conjunto remodelado (9).

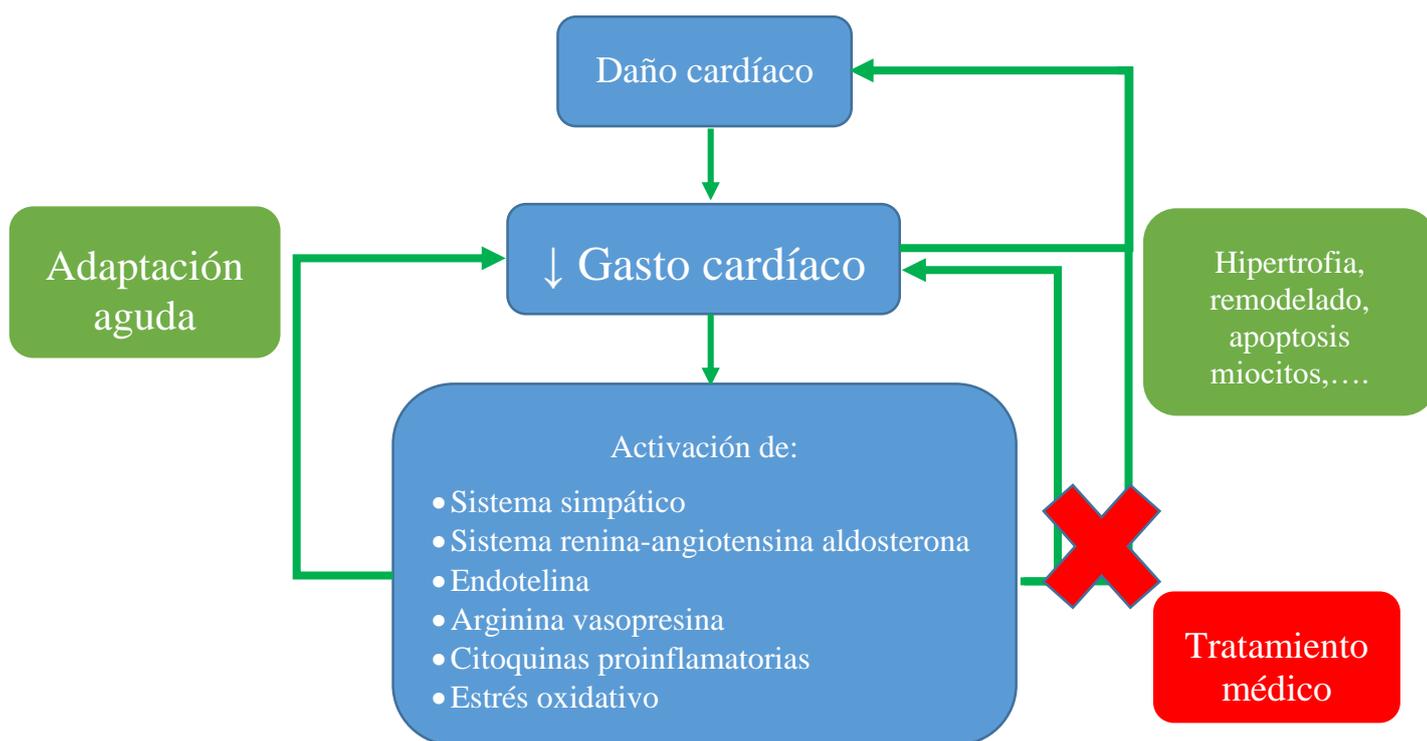


Figura 3. Fisiopatología de la activación neurohormonal en la insuficiencia cardíaca. Adaptada de Braunwald et al. *J Am Coll Cardiol* 2013; 1:1-20.

La reducción, en definitiva, del gasto cardíaco activa el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y el sistema simpático favorecen la retención de sodio

y agua, vasoconstricción arterial periférica y un aumento de la contractilidad cardíaca y frecuencia cardíaca. Todos estos estímulos, encaminados a la mejora del gasto cardíaco conllevan, sin embargo, un empeoramiento de la insuficiencia cardíaca.

Por otro lado, el remodelado del ventrículo izquierdo, promovido por la activación neurohormonal y otros factores, hace progresar la enfermedad produciéndose cambios a nivel celular tanto en los miocitos como en la matriz extracelular que perpetúan la insuficiencia cardíaca.

#### **1.2.4. Historia natural**

Tras un tiempo indeterminado desde la lesión del miocardio producida por cualquiera de las enfermedades cardiovasculares o un agente externo como un virus o un tóxico, se inicia de forma más o menos abrupta la aparición de clínica de insuficiencia cardíaca, necesitando en muchos casos su ingreso hospitalario. A raíz de este evento se ponen en marcha tratamientos farmacológicos con demostrado efecto pronóstico en el caso de la ICFEr así como el control de la comorbilidad cardíaca que de por sí contribuye a perpetuar más la insuficiencia cardíaca (cardiopatía isquémica, fibrilación auricular,...) así como la aparición de comorbilidades extracardíacas (ferropenia, desnutrición,...). Con el inicio del tratamiento correcto, se consigue en muchas ocasiones una mejoría significativa que se mantienen durante un tiempo muy variable entre pacientes, período durante el que se continúa con el tratamiento de la insuficiencia cardíaca y donde existe pese a la mejoría clínica riesgo de muerte súbita.

Posteriormente se produce un deterioro progresivo con merma muy importante de la calidad de vida, muy condicionado por las descompensaciones que repercuten, de forma muy negativa, en la evolución de la insuficiencia cardíaca y que van haciendo aumentar la carga terapéutica (intensificación del tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad, dispositivos cardíacos, intervencionismo...). Todo ello conlleva un pronóstico a 5-10 años desfavorable en muchas ocasiones con importantes tasas de mortalidad.

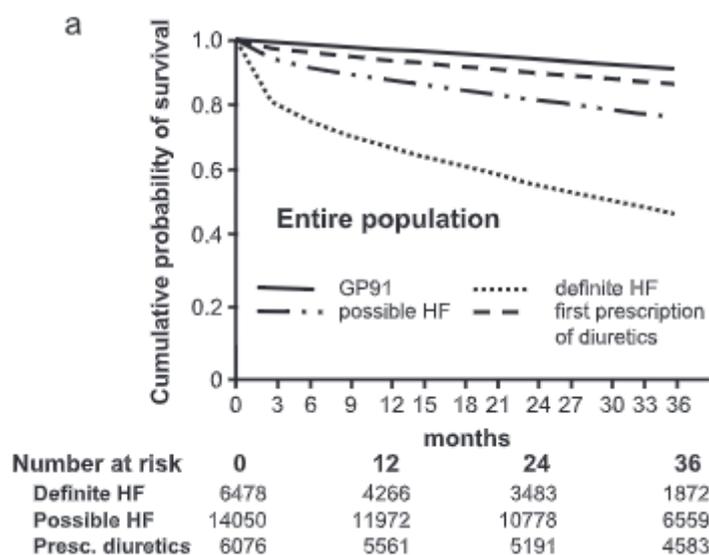


Figura 4. Extraído de F de Giuli et al; Eur Heart Fail 2005; 7:295-302). Supervivencia en insuficiencia cardíaca establecida frente a la población general (GP91), pacientes con posible insuficiencia cardíaca y pacientes a los que se les prescribe diuréticos sin insuficiencia cardíaca.

Y es que pese a todos los esfuerzos terapéuticos la enfermedad continua su evolución y finalmente, cuando las descompensaciones se hacen muy frecuentes y aparecen sintomatología de perfil anterógrado o de fallo de bomba, se produce una transición a la última etapa de la enfermedad, denominada insuficiencia cardíaca avanzada o terminal (Estadío D), en la que se suele reducir el tratamiento convencional y se produce un aumento de cuidados enfocados al bienestar del paciente o para aumentar

su calidad de vida excepto en aquellos que se pueden beneficiar del trasplante cardíaco o implante de dispositivos de asistencia ventricular (10).

### **1.2.5. Tratamiento actual**

El tratamiento farmacológico de la ICFEr está en relación íntima, como es lógico, con su fisiopatología, de forma que las dianas terapéuticas fundamentales son el sistema simpático y el SRAA.

Por ello, además del tratamiento con diuréticos en caso de síntomas congestivos y con el fin de aliviar síntomas, el tratamiento de la insuficiencia cardíaca se basa en la administración de betabloqueantes para frenar la activación simpática, así como la combinación con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (o antagonistas del receptor de la angiotensina II) y antagonistas del receptor mineralocorticoide para disminuir la actividad del SRAA (7). Además, en los últimos años se ha añadido como tratamiento farmacológico el sacubitril, que favorece la acción de los péptidos natriuréticos, vasodilatadores y antifibróticos, al evitar su degradación mediante la inhibición de la neprilisina. Así, una combinación de sacubitril y valsartan demostró una reducción de la mortalidad por cualquier causa comparado con el enalapril en el estudio PARADIGM-HF publicado en 2014 por McMurray y colaboradores (11). Esta combinación farmacológica, precisamente, ha demostrado un impacto muy acusado en el remodelado ventricular, provocando un aumento de la FEVI y una reducción de los volúmenes telediastólico y telesistólico del ventrículo izquierdo (12).

Finalmente, los pilares del tratamiento farmacológico del paciente con ICFEr se han completado muy recientemente con los inhibidores del co-transportador sodio-

glucosa 2 (i-SGLT2). Si bien el mecanismo de acción de los i-SGLT2 no está relacionado directamente con el bloqueo neurohormonal como el resto de moléculas empleadas en la ICFEr, tanto el estudio DAPA-HF publicado en 2019 (13) como el EMPEROR-Reduced publicado en 2020 (14) como el estudio pusieron de manifiesto que la adición de dapagliflozina o empagliflozina, respectivamente, al paciente con ICFEr conllevaba una reducción de la mortalidad cardiovascular u hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca. Si bien su mecanismo de acción principal, por el cual comenzaron a utilizarse en la diabetes mellitus, es como su nombre indica bloquear a nivel del túbulo proximal el co-transportador sodio-glucosa 2 produciendo así glucosuria, su utilidad en la ICFEr, no bien aclarada aún, parece producirse por una mejoría del metabolismo a nivel del miocito e importantes beneficios de protección renal (15).

Paralelamente al tratamiento farmacológico se dispone, además, de dispositivos con beneficios ampliamente demostrados en insuficiencia cardíaca como la terapia de resincronización cardíaca (TRC) o los desfibriladores automáticos implantables. Además, en los últimos años se está incorporando un arsenal de intervencionismos que tienen como diana los pacientes con ICFEr(16).

Por último, cuando el paciente evoluciona adversamente pese a todas estas terapias, pasa a la fase de insuficiencia cardíaca avanzada. En este punto de la historia natural de la enfermedad, cobran mucha relevancia los cuidados paliativos salvo que podamos ofrecer una alternativa como el trasplante cardíaco. Sin embargo, el trasplante cardíaco es un recurso muy limitado, pese a cifras de record en nuestro país respecto a los de nuestro entorno, y para beneficiarse del mismo existen numerosas contraindicaciones. En este escenario y dado que la prevalencia de la insuficiencia cardíaca está en aumento, recientemente está en auge el empleo de dispositivos de asistencia ventricular para

pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada. Este tipo de dispositivos, como su nombre indica, asisten al ventrículo izquierdo bombeando flujo de forma continua desde el ventrículo izquierdo a la aorta ascendente, y su uso, si bien sus resultados aún no han alcanzado al trasplante cardíaco, conlleva una mejoría pronóstica y de calidad de vida en el paciente con insuficiencia cardíaca avanzada. Se pueden emplear tanto como terapia puente para pacientes que no podrían esperar el trasplante por su extrema gravedad, así como puente a candidatura si el paciente tiene una contraindicación reversible que se espera subsanar durante el tiempo que estará con la asistencia ventricular, o bien como terapia destino en pacientes con contraindicaciones al trasplante no reversibles.

### 1.3. La inflamación en la insuficiencia cardíaca

Es ampliamente conocido que en el infarto agudo de miocardio la isquemia, buscando un proceso regenerativo que sustituya las células muertas por una cicatriz que ayude a mantener la integridad cardíaca, activa el sistema inmune promoviendo un infiltrado de neutrófilos, monocitos y macrófagos en el área infartada (17). Pero, de hecho, el estrés mecánico crónico al que se somete el miocardio en una miocardiopatía, una estenosis aórtica o la hipertensión arterial, por ejemplo, también provoca un infiltrado de leucocitos en el miocardio y la expresión de citoquinas proinflamatorias.

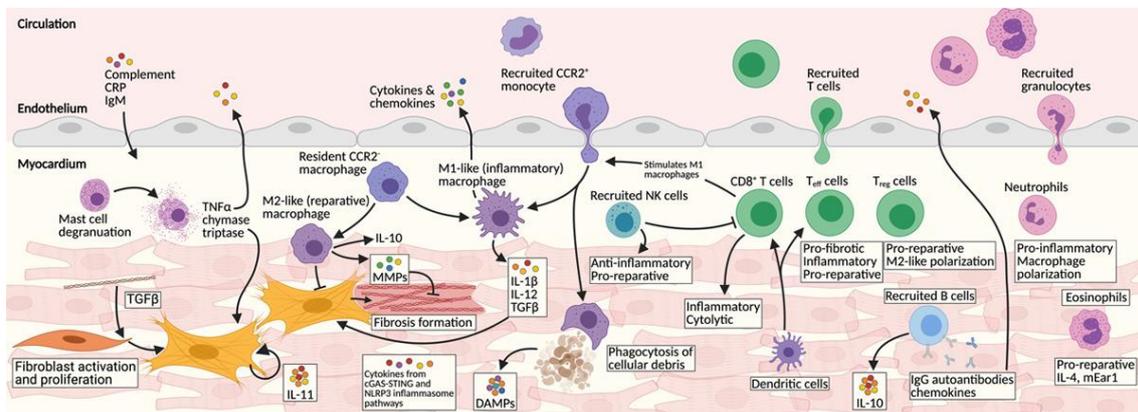


Figura 5. Activación del sistema inmune tras un daño cardíaco. Extraído de Rurik et al. *Immune Cells and Immunotherapy for Cardiac Injury and Repair. Circulation Research* 2021; 128 (11): 1766-79.

Por tanto, en la insuficiencia cardíaca se produce una sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias (18,19) gracias precisamente a la colaboración de los miocitos con el sistema inmune como respuesta al daño cardíaco. Aunque su principal función sería reparar el miocardio lesionado, su expresión durante períodos prolongados o en concentraciones elevadas produce efectos perjudiciales en los propios miocitos cardíacos y la matriz extracelular miocárdica, contribuyendo al avance de la enfermedad al estimular a los fibroblastos(20).

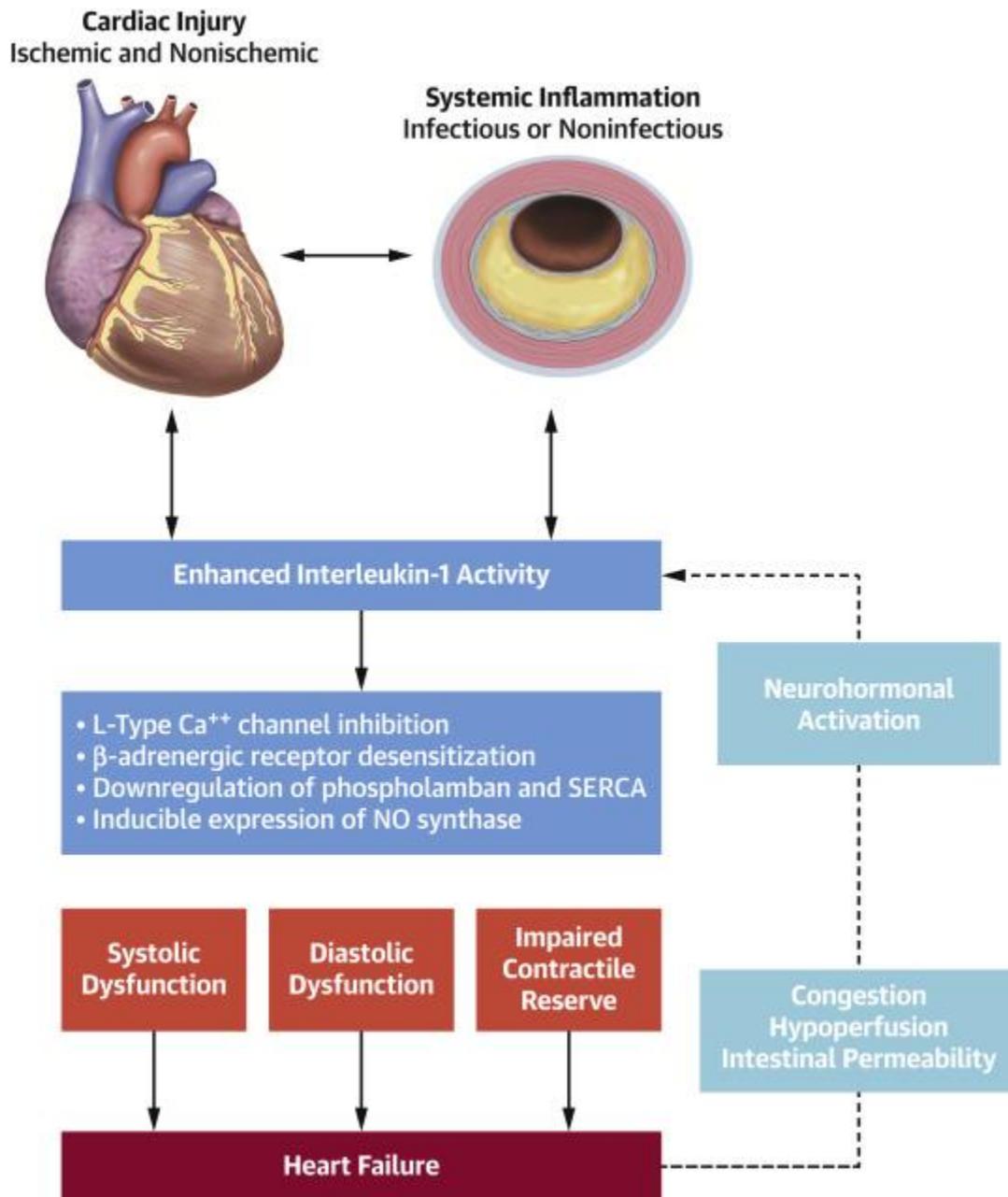


Figura 6. La activación de la IL-1 contribuye en la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca y además, la propia insuficiencia cardíaca acaba favoreciendo esta activación de la IL-1 en un círculo vicioso. Tomado de: Murphy et al. *Inflammation in Heart Failure*. JACC 2020; 75 (11).

En los últimos años se han producido numerosos avances en la comprensión de cómo la inflamación contribuye a la patogénesis y la progresión de la insuficiencia cardíaca (19) y son numerosos los estudios que han documentado la asociación entre diversas medidas de inflamación con la severidad o pronóstico de la insuficiencia

cardíaca. Sin embargo, y pese a estos avances, han fracasado los intentos por avanzar en tratamientos antiinflamatorios que mejoren el pronóstico de la insuficiencia cardíaca, lo cual posiblemente se deba a la complejísima relación que estamos desgranando.

### **1.3.1. Efectos de la inflamación en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca**

En la insuficiencia cardíaca se produce una compleja relación entre el corazón y el sistema inmune que incluye tanto a componentes del sistema inmune innato, como adquirido y que en esta relación hace partícipe a otros órganos, como el bazo o el tejido adiposo. Los efectos finales de esta interrelación que explica la mediación del sistema inmune en la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca son:

- Inflamación del endotelio de la circulación coronaria microvascular. La inflamación endotelial conlleva, por un lado, a una reducción de la capacidad del endotelio para producir óxido nítrico lo cual reduce, a su vez, la actividad de la proteína quinasa G y lleva a una mayor rigidez de los cardiomiocitos. Además se expresan una serie de moléculas de adhesión en el endotelio que activan los monocitos circulantes, lo cual supone un desencadenante muy importante de desarrollo de fibrosis miocárdica.
- Activación del sistema inmune innato. Como hemos anticipado, situaciones de estrés para el miocardio, como la isquemia, activan receptores de reconocimiento de patrones asociados al daño a través de receptores de linfocitos T, activando una serie de mediadores como el

factor de necrosis tumoral (TNF) alfa o la interleuquina (IL) 6. Si bien son mecanismos con un afán preventivo para el miocardio con el fin de promover, por ejemplo, estrategias como la neorevascularización, la activación del SRAA y el sistema simpático perpetúan la activación de estos receptores atrayendo células inflamatorias y participando en el remodelado adverso.

- Activación del sistema inmune adquirido mediante respuesta humoral. Se ha documentado que la existencia de anticuerpos frente a los receptores adrenérgicos  $\beta_1$ , fundamentales para el inotropismo cardíaco, es inferior al 1 % en la población general y, sin embargo, estos anticuerpos han sido detectados hasta en el 60 % de pacientes con miocardiopatía dilatada no isquémica e incluso en más del 90 % de los portadores de asistencias ventriculares (21).

## **1.4. Los monocitos, sus subpoblaciones y el papel en la insuficiencia cardíaca.**

Los monocitos son una clase de células del sistema inmune, originarias mayoritariamente de la médula ósea, encargadas de monitorizar y detectar cambios en la homeostasis celular. Esta población celular es plástica y heterogénea pudiendo cambiar su fenotipo funcional dependiendo de estímulos. Los monocitos y los macrófagos poseen amplias capacidades inmunomoduladoras, inflamatorias y reparadoras de tejidos y participan activamente en la enfermedades cardiovasculares.

Numerosos estudios clínicos han revelado una alta prevalencia de monocitosis en enfermedades cardiovasculares. El conteo de monocitos en pacientes tras un infarto agudo de miocardio es mayor que en pacientes con una enfermedad coronaria estable. Además, la existencia de monocitosis periférica ha sido asociada con una pérdida de función sistólica del ventrículo izquierdo. El proceso inflamatorio que se produce durante la lesión cardíaca libera de la médula ósea distintas poblaciones de monocitos que circulan en sangre periférica y que específicamente colonizan territorios lesionados del miocardio. Estas células producen citoquinas inflamatorias y contribuyen a la inflamación local y sistémica (22,23).

### **1.4.1. Clasificaciones de los subtipos de monocitos.**

Los monocitos humanos se caracterizan por expresar distintos niveles de dos marcadores de membrana, el CD14 (receptor de lipopolisacáridos) y el CD16 (receptor de baja afinidad de IgG). Según la expresión de estos marcadores de membrana, los

monocitos humanos se clasifican en monocitos clásicos ( $CD14^{++} CD16^{-}$ ), intermedios ( $CD14^{+} CD16^{+}$ ) y no clásicos ( $CD14^{+} CD16^{++}$ ).

Se pueden distinguir estas subpoblaciones caracterizando así la distribución de los monocitos circulantes mediante citometría de flujo (figura 7). Por tanto, mediante esta técnica podríamos también conocer y definir la distribución en pacientes con insuficiencia cardíaca.

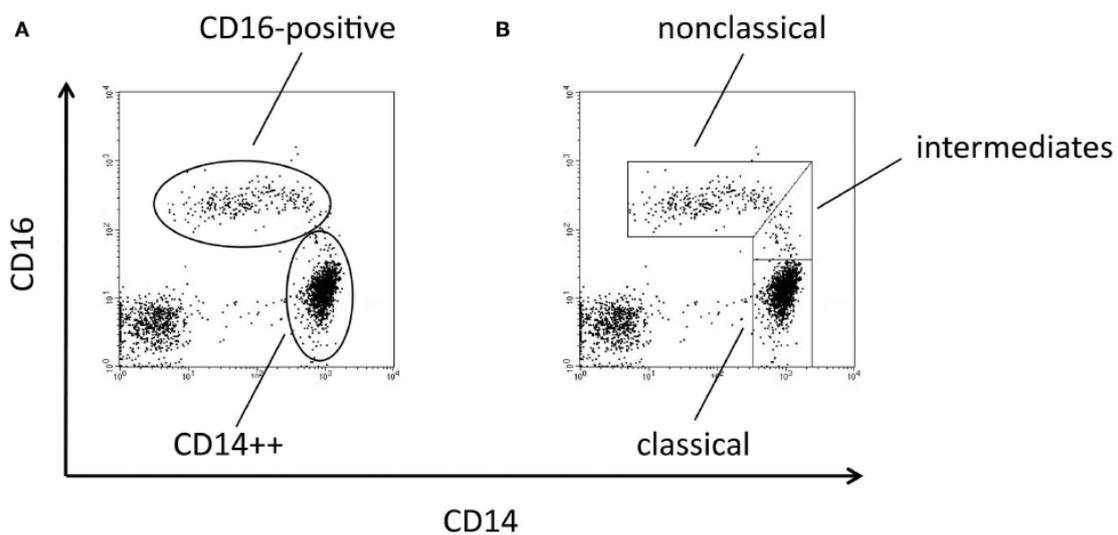


Figura 7. Disección por citometría de flujo de los monocitos humanos. Se distinguen tres tipos celulares distintos,  $CD14^{++} CD16^{-}$ , (monocitos clásicos)  $CD14^{+} CD16^{+}$  (monocitos intermedios) y  $CD14^{+} CD16^{++}$  (monocitos no clásicos).

Los monocitos clásicos ( $CD14^{++}CD16^{-}$ ) emigran a la circulación sanguínea desde la médula ósea gracias al receptor CCR2 (CC-chemokine receptor 2) y tienen una alta capacidad antimicrobiana debido a su poder fagocítico secretando especies de oxígeno reactivo e IL-10 tras su estimulación por lipopolisacáridos. Por otro lado, los monocitos intermedios y no clásicos secretan citoquinas inflamatorias como el  $TNF\alpha$  y IL-1 $\beta$ , que aumentan la inflamación. En situaciones inflamatorias, los monocitos clásicos, intermedios y no clásicos invaden los tejidos gracias a la interacción de receptores en la membrana de estas células con quimioquinas inflamatorias secretadas en zonas de lesión.

Entonces los monocitos maduran a macrófagos tipo M1-like o M2-like en los tejidos y presentan el antígeno desencadenando la activación de linfocitos T (Figura 8).

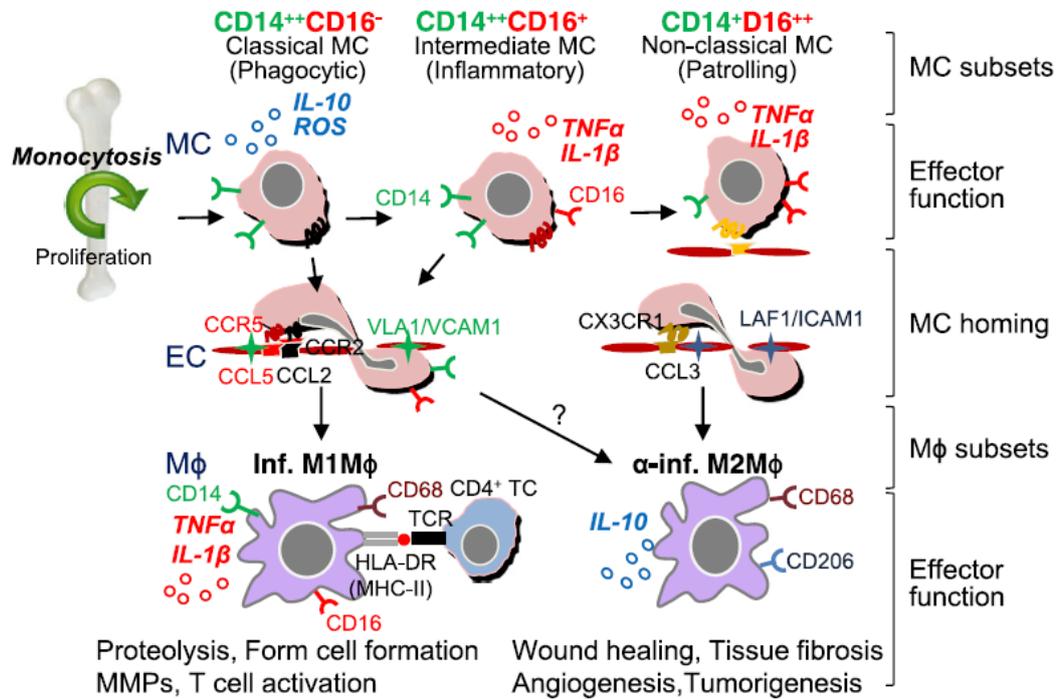


Figura 8. Clasificación de monocitos humanos y su diferenciación a macrófagos. Funciones de los distintos subgrupos. TC: linfocito T1; MC: monocito; Mφ: macrófago; EC: células endoteliales; inf: inflamatoria; α-inf: anti-inflamatoria; TCR: receptor de linfocito T; HLA-DR: Antígeno DR del complejo mayor de histocompatibilidad II. Extraído de: Yang J et al. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res* 2014; 2(1):1.

Es fundamental la diferenciación final ya que los macrófagos M1-like son responsables de una mayor producción de citoquinas y activación de los linfocitos T, siendo por ello responsables de la proteólisis, mientras que los macrófagos M2-like son anti-inflamatorios o reparados estimulando la angiogénesis, aunque también participan de forma sostenida en la fibrosis. Como se puede apreciar en la figura 8, dentro de estos subtipos, los monocitos intermedios son los considerados más proinflamatorios ya que acaban derivando en macrófagos M1-like.

#### **1.4.2. El papel de los monocitos en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca**

Como ya se ha expresado previamente la inflamación endotelial conlleva a la expresión de determinadas moléculas de adhesión que atraen a los monocitos circulantes, los cuales migran en gran medida también desde el bazo favoreciendo la inflamación local en el corazón, movilización en la que la angiotensina II juega un papel relevante (24). De hecho, en un modelo de ratón de infarto se documentó cómo el uso de inhibidores de la angiotensina reduce la movilización de monocitos desde el bazo y esto a su vez reduce el tamaño del área infartada (25).

Y en este escenario la atracción de monocitos circulantes proinflamatorios polariza el balance hacia macrófagos con el fenotipo M1-like sobre todo en las primeras fases tras el daño miocárdico, segregando numerosas citoquinas proinflamatorias como ya hemos visto (21). Esta cascada, de hecho, ha sido atenuada en un modelo animal en el que se infundía angiotensina II y previamente los monocitos circulantes habían sido depleccionados mediante la infusión de clodronato liposomal, consiguiéndose con ello un balance hacia macrófagos M2-like y una reducción así del 70% de la formación de colágeno y fibrosis (26).

#### **1.4.3. Las subpoblaciones de monocitos en la insuficiencia cardíaca.**

Existen algunos estudios que han abordado las diferencias entre las subpoblaciones de monocitos en pacientes con insuficiencia cardíaca. Así, respecto a voluntarios sanos existen dos estudios comparativos en los que en uno se documentó en

los pacientes con insuficiencia cardíaca un expansión de la subpoblación de monocitos intermedios (27) y en el otro una reducción de los monocitos clásicos con un aumento de los monocitos no clásicos, acompañándose además de un aumento de los niveles de citoquinas proinflamatorias, documentándose una relación inversa entre los niveles de monocitos no clásicos y el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (28). Incluso en una cohorte de pacientes ambulatorios con insuficiencia cardíaca crónica el número de monocitos intermedios ha sido relacionado independientemente de la FEVI o la clase funcional con la mortalidad por cualquier causa (29).

En definitiva, estos estudios ponen de manifiesto, por tanto, cómo en la insuficiencia cardíaca se producen cambios en las subpoblaciones de monocitos circulantes con una pérdida de protagonismo de los monocitos clásicos en lugar de los monocitos intermedios y no clásicos que participan más activamente en la inflamación.

## **1.5. Remodelado inverso en pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida.**

El remodelado cardíaco se define como un grupo de cambios moleculares, celulares e intersticiales que se manifiestan clínicamente como un cambio en la masa, geometría y función del corazón debido a un daño (30). Así, en la propia génesis de la ICFer, un daño cardíaco bien agudo o bien larvado, a través de la activación mantenida del sistema simpático y del SRAA provoca unos cambios a nivel cardíaco que pretenden, inicialmente, servir de mecanismos compensadores pero que producen de forma patológica una serie de cambios en la masa, tamaño y función del ventrículo izquierdo que como hemos visto se denomina remodelado.

Llegados a esta fase, la implementación de los tratamientos comentados que antagonizan la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca, además de otras herramientas como la TRC o nuevos fármacos dirigidos a otras dianas terapéuticas, consiguen en un número importante de pacientes lo que se conoce como remodelado inverso en el que las cámaras cardíacas vuelven a su tamaño previo y el ventrículo izquierdo vuelve a tener una FEVI normal (31).

Este subgrupo de pacientes que remodelan inversamente ha sido y sigue siendo reseñado en las guías de insuficiencia cardíaca como un hueco en la evidencia clínica que sigue por cubrir de forma sólida. Quizás haya contribuido en ello que durante muchos años ni si quiera ha existido una terminología o definición universal de forma que los diferentes estudios realizados en esta cohorte emplean términos como FEVI mejorada o recuperada usando, además, no sólo distintos umbrales de FEVI sino que algunos añadían

un determinado diámetro o volumen del ventrículo izquierdo o niveles de péptidos natriuréticos.

Muy recientemente por ello las sociedades de insuficiencia cardíaca europeas, americanas y japonesa han llegado al consenso de definir, al nivel de las ampliamente utilizadas ICFEr e ICFEp, la insuficiencia cardíaca con FEVI mejorada (HFimpEF), definida en este consenso como pacientes con insuficiencia cardíaca sintomática con una FEVI al inicio igual o menor al 40% que experimentan un aumento igual o mayor al 10% desde la FEVI basal con una segunda medida de FEVI superior al 40% (32).

### **1.5.1 Pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada**

Como hemos avanzado, un subgrupo de pacientes con ICFEr experimentarán una mejoría de la FEVI que, según el estudio y los criterios empleados para definir esa mejoría, oscila entre en 18-52% (33). Pese a las limitaciones por la diferente definición que se ha hecho de esta entidad en cada estudio antes de surgir el término HFimpEF, se ha puesto de relieve en meta-análisis cómo es muy clara la mejoría pronóstica que esta entidad tiene respecto a los pacientes que continúan con FEVI persistentemente reducida pese a la implantación del tratamiento médico.

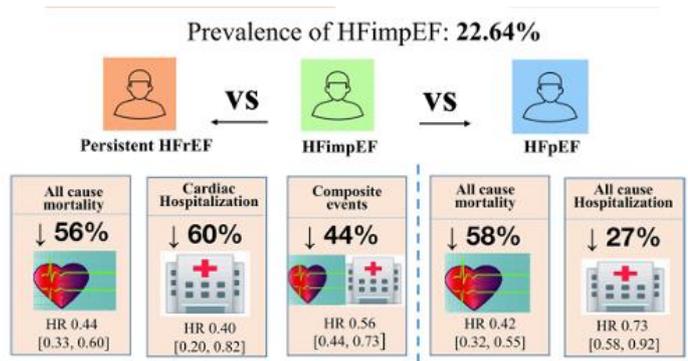


Figura 9. Comparación del pronóstico de pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada respecto a los pacientes con fracción de eyección persistentemente reducida (izquierda) o insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (derecha). Adaptado y extraído de He et al. Prevalence and Prognosis of HFimpEF Developed From Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Systematic Review and Meta-Analysis *Front Cardiovasc Med* 2021; 25 (8)...

Así, el hecho de que se produzca una mejoría en la función sistólica de los pacientes con ICFer se asocia a una reducción no solo de las hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca, como es de esperar, sino también de la mortalidad por cualquier causa.

### 1.5.2. ¿Miocardio recuperado o mejorado?

La nueva definición de HFimpEF traslada el término que venía usándose de forma más frecuente, que era “recuperado”, al término “mejorado”. Como hemos visto, el pronóstico de este subgrupo de pacientes es radicalmente mejor pero aún así no están exentos de eventos clínicos y un estudio español de muchos años de seguimientos puso claramente de manifiesto cómo la tendencia más frecuente de estos pacientes es volver a experimentar un nuevo descenso de la FEVI en el futuro (34).

Y es que el término “recuperado” queda definido en el diccionario de la Real Academia Española como “Volver a tomar o adquirir lo que antes se tenía”, por lo que en

el caso que nos atañe, recuperar sería no sólo conseguir un remodelado inverso que nos permita elevar sustancialmente la FEVI sino volver a normalizar todos los cambios que se han producido en el corazón con el desarrollo de la insuficiencia cardíaca, cambios muy amplios que incluyen, entre otros, cambios en la matriz extracelular, pérdidas y alteraciones del citoesqueleto del miocito, desensibilización a los estímulos  $\beta$ -adrenérgicos, alteración del acoplamiento excitación-contracción, alteraciones del metabolismo del miocito y activación sostenida del sistemas simpático, el SRAA y el sistema inmune (31)(35). Esta idea queda muy bien reflejada en la siguiente figura.

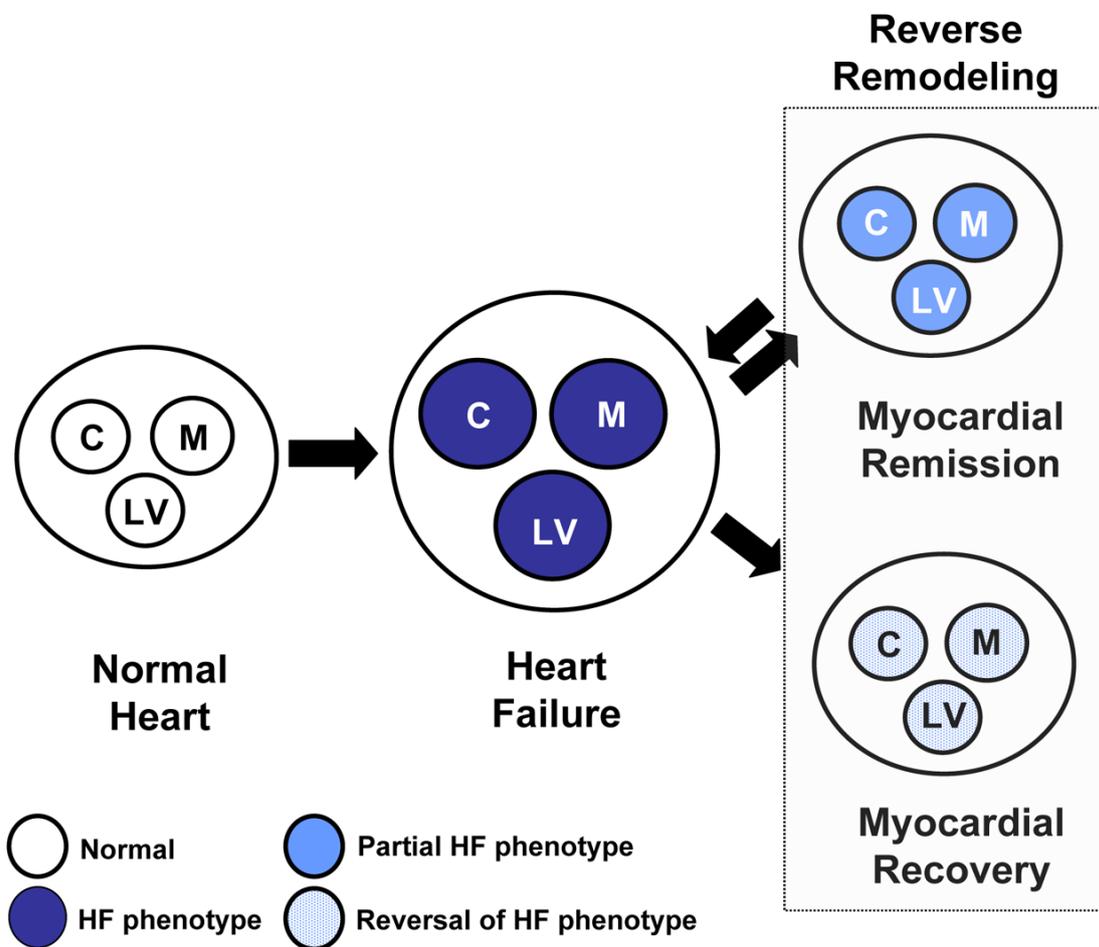


Figura 10. Cuando se producen cambios en el corazón tras el desarrollo de insuficiencia cardíaca, con el tratamiento podríamos conseguir: 1) Remisión o mejoría, que dado que no se acompaña de una normalización de todos los cambios producidos en la insuficiencia cardíaca es una situación desde la que se puede volver a la propia insuficiencia cardíaca o; 2) Recuperación con normalización de los cambios y mecanismos que provocaron la insuficiencia cardíaca, entidad desde la que no se retorna a tener insuficiencia cardíaca. C: Miocito cardíaco; M: Miocardio incluyendo matriz extracelular; LV: geometría del ventrículo izquierdo. Tomado de: Mann DL et al. Myocardial Recovery and The Failing Heart : Myth , Magic or Molecular Target? J Am Coll Cardiol. 2012;60(24).

De hecho un grupo de expertos del *Journal of American College of Cardiology* que pretendió sentar unas bases en el manejo de estos pacientes plantea la necesidad de mantener de forma indefinida todas las terapias tanto farmacológicas como no farmacológicas que se hayan implementado en estos pacientes, al menos hasta que las bases biológicas y la evolución clínico-epidemiológica de estos pacientes sean bien conocidas (36).

### **1.5.3. Marcadores pronósticos de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.**

Si bien hemos desgranado y son ampliamente conocidos abundantes predictores de remodelado inverso con el tratamiento de la ICFeR, no se conocen en detalle marcadores que nos permitan identificar aquellos pacientes con HFimpEF que van a volver a recaer a la ICFeR en un futuro cercano. Esto hace que existan pocas recomendaciones en las guías de práctica clínica acerca del seguimiento de estos pacientes, algo que sólo aborda algún documento de revisión con recomendaciones de expertos (36).

Respecto a la evolución futura de los pacientes con HFimpEF, un estudio español puso de manifiesto el diferente comportamiento de las distintas etiologías que causan la ICFeR (34). Así, los pacientes que mostraron mejor perfil fueron aquellos pacientes con miocardiopatía dilatada enólica que mejoran la función sistólica, siendo esta mejoría sostenida en el tiempo en una proporción mayoritaria. Los pacientes con miocardiopatía valvular y miocardiopatía dilatada por tóxicos diferentes al alcohol tuvieron un

comportamiento muy heterogéneo con el paso del tiempo, reflejando la propia disparidad de la enfermedad valvular en el primer caso y, probablemente, de la variedad de tóxicos que puede haber detrás de esta causa en el segundo caso. Y por el contrario, la evolución del resto de causas analizadas en este estudio (miocardiopatía hipertensiva en fase dilatada y miocardiopatía dilatada idiopática) fue negativa con el paso de los años evolucionado en la mayoría.

En lo que respecta a otras herramientas que nos ayuden a predecir esta recaída, sólo encontramos un estudio en el que se evaluó la utilidad del strain longitudinal global en una cohorte con ICFeR que había mejorado la FEVI hasta más del 50% como predictor de evolución futura de la FEVI (37). En esta serie, el strain longitudinal global se correlacionaba con la evolución de la FEVI y, además, un strain longitudinal global anormal mostró una sensibilidad del 88% para predecir un descenso de FEVI de más del 5%.

Más allá no existen otros estudios que nos ayuden en el seguimiento de este perfil de pacientes. Muchas recomendaciones van dirigidas hacia la búsqueda de cardiopatía subyacente y, por tanto, ausencia de curación real de la enfermedad con datos como persistencia de un bloqueo de rama en el ECG, fibrosis en la resonancia cardíaca, elevación persistente de biomarcadores o una mutación genética como causante de la miocardiopatía. Sin embargo, no existen estudios específicos que hayan demostrado que estos subgrupos tienen peor evolución

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## 2.1. Hipótesis de trabajo

La hipótesis del trabajo surge de las siguientes reflexiones.

1. Como hemos puesto de manifiesto previamente, en la insuficiencia cardíaca se activa el sistema inmune en respuesta a un daño, influyendo este hecho, por tanto, en su fisiopatología.

2. Los monocitos juegan un papel fundamental en la cascada inflamatoria que se produce ante un daño del miocardio.

3. Existen diversas subpoblaciones de monocitos que condicionan, según el subtipo, una polarización de los macrófagos que invaden el tejido hacia M1-like, proinflamatorios y activadores de linfocitos T, o M2-like, reparadores y estimuladores de la angiogénesis.

4. Por tanto, el mayor o menor peso de las subpoblaciones de monocitos regulará la respuesta inmune en el miocardio contribuyendo a delimitar por tanto el grado de fibrosis miocárdica que se acabará produciendo.

5. La mayor producción de fibrosis miocárdica se relaciona claramente con un remodelado adverso del ventrículo izquierdo y la pérdida de miocitos.

6. Por tanto, hipotetizamos que las diferencias de subpoblaciones monocitarias circulantes al debut del paciente con ICFeR pueden tener un papel predictor del remodelado con el tratamiento médico, existiendo una menor probabilidad de mejoría de FEVI cuanto mayor es la polarización hacia poblaciones proinflamatorias.

## **2.2 Objetivos primarios**

- Calcular el valor predictivo de los niveles y distribución de subpoblaciones de monocitos en relación a la mejoría de la fracción de eyección en pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida.
- Comparar los niveles de subpoblaciones de monocitos circulantes tras 6 meses de tratamiento óptimo de insuficiencia cardíaca en aquellos pacientes que han mejorado la fracción de eyección del ventrículo izquierdo respecto a los pacientes que no la han mejorado.

## 2.2 Objetivos secundarios

- Valorar cómo afecta el tratamiento neurohormonal de la insuficiencia cardíaca a las subpoblaciones de monocitos circulantes tanto en aquellos que han mejorado la fracción de eyección como en los que no.
- Evaluar las diferencias de subpoblaciones de monocitos circulantes entre individuos sanos y aquéllos que a los 6 meses habían mejorado la fracción de eyección.
- Examinar la relación entre las distribuciones de subpoblaciones de monocitos en aquellos pacientes que una vez han mejorado su fracción de eyección vuelven a presentar un deterioro de la función sistólica en el seguimiento o mantienen la fracción de eyección mejorada.

# **2. MATERIALES Y MÉTODO**

### **3.1. Diseño y población de estudio**

Estudio prospectivo, observacional y unicéntrico en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica.

Se incluyen en el estudio pacientes mayores de edad y con capacidad para firmar el consentimiento informado que padezcan de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida y sintomática, estadio C de la clasificación americana, que ingresen por debut de insuficiencia cardíaca.

Además, se establecen los siguientes criterios de exclusión:

- Que el motivo del ingreso haya sido un síndrome coronario agudo.
- Cardiopatías congénitas del adulto
- Valvulopatía con indicación actual de intervencionismo

Paralelamente se seleccionará una muestra pequeña de individuos sanos, sin cardiopatía, y una muestra de pacientes con disfunción ventricular izquierda asintomática como grupos control.

Respecto a los criterios de exclusión, consideramos excluir: los pacientes cuyo ingreso lo precipita un síndrome coronario agudo dado que el síndrome coronario agudo per se provoca una cascada inflamatoria e influye en las subpoblaciones de monocitos (38); en cuanto a los pacientes con cardiopatías congénitas del adulto suponen una población muy heterogénea y particular que sería subsidiaria, por tanto, de un estudio específico y que, en consecuencia, no consideramos incluir con nuestra muestra; y respecto a los pacientes con valvulopatías, se trata nuevamente de un subgrupo con

fisiopatología particular y en el que además la reparación de la valvulopatía cambia el curso de la misma, pudiendo tener un impacto en la función sistólica y el pronóstico.

### **3.1.1. Cálculo de tamaño muestral**

En base a estudios previos que documentan diferencias de mortalidad en insuficiencia cardíaca según el número absoluto de monocitos intermedios (29) hemos empleado la calculadora de tamaño muestral del Instituto Municipal de Investigación Médica de Barcelona (Disponible en: <https://www.imim.es/ofertadeserveis/software-public/granmo/>) donde hemos asumido un riesgo alfa de 0.05, una potencia o riesgo beta de 0,20, con un contraste unilateral, asumiendo que un tercio de los pacientes recuperarán fracción de eyección según otras series (39) y con una desviación estándar de 47 y una diferencia mínima a detectar de 50 según el artículo comentado inicialmente. Siguiendo estos cálculos precisamos un total de 30 pacientes de los que 7 se estiman que recuperarán fracción de eyección y 23 no.

## 3.2 Protocolo de estudio

Todos los pacientes proceden del área de cardiología del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla. Tras el consentimiento informado del paciente se procede a realizar a la inclusión en el estudio:

- Historia clínica completa para completar variables de antecedentes tanto personales como familiares de cardiopatía.
- Exploración incluyendo signos de insuficiencia cardíaca, tensión arterial, frecuencia cardíaca y peso.
- Ecocardiografía transtorácica realizada por la Unidad de imagen cardíaca del centro.
- Extracción sanguínea para la realización de una analítica que incluye:
  - o Hemograma completo
  - o Bioquímica con perfil renal, hepático, lipídico y tiroideo.
  - o NT-proBNP
  - o Metabolismo del hierro
- Extracción de muestra sanguínea con fines de investigación que será procesada en el Instituto de Biomedicina de Sevilla para la caracterización de las poblaciones de monocitos

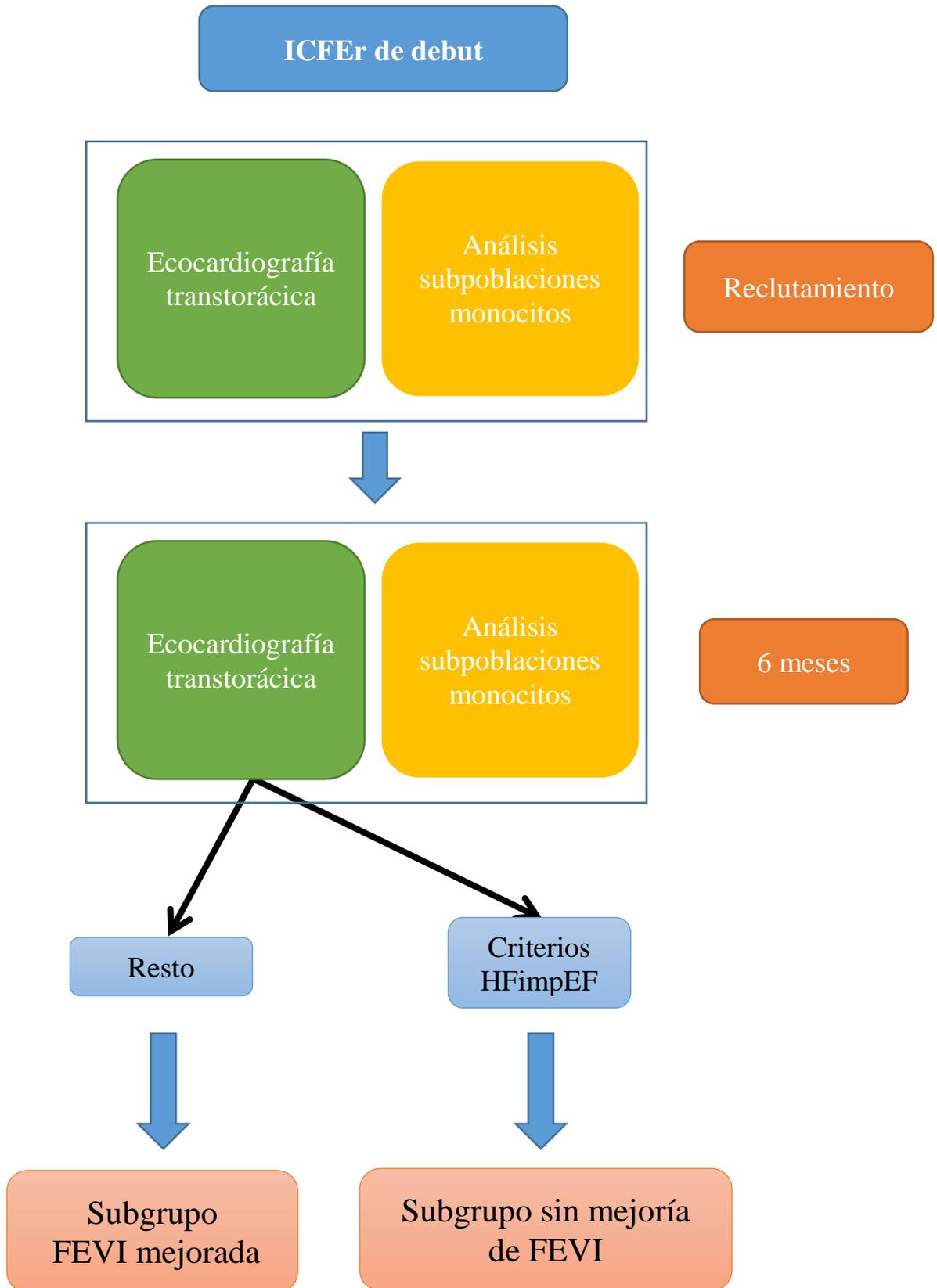
En el ingreso por debut de insuficiencia cardíaca, tanto la ecocardiografía como las muestras sanguíneas se extraerán en las 48h previas al alta, cuando el paciente ya está compensado de su insuficiencia cardíaca.

Tras la inclusión, el seguimiento del paciente se hará en las consultas de la unidad de insuficiencia cardíaca recibiendo el tratamiento médico óptimo según las vigentes guías europeas y últimos posicionamientos de la Sociedad Europea de Cardiología (40).

A los 6 meses de la inclusión del paciente se programa la segunda visita, en este caso acudiendo siempre el paciente de forma ambulatoria y realizándose en el mismo día la visita médica, la ecocardiografía transtorácica por la unidad de imagen del centro y la extracción sanguínea.

Una vez finalizado el seguimiento los pacientes se clasificaron en aquellos que cumplieron criterios de insuficiencia cardíaca con FEVI mejorada (HFimpEF), definido en el documento de consenso de varias sociedades de Insuficiencia Cardíaca (32), según el cual la HFimpEF se define como insuficiencia cardíaca sintomática con una FEVI basal menor o igual al 40% con un aumento de FEVI de, al menos, el 10% con una segunda medida de FEVI mayor del 40%.

## Esquema del protocolo del estudio



### 3.3. Definición de variables basales

A nivel basal se recogió la edad del paciente a su inclusión en el estudio, variables antropométricas y constantes vitales y presencia de comorbilidades previas. Entre ellas queremos destacar la definición de las siguientes variables:

- Alcohol. Se definió que existía un consumo de alcohol cuando el paciente reconocía un consumo superior a 3 unidades de bebida estándar al día.
- Tabaquismo. Se catalogaba como tabaquismo en esta variable dicotómica a aquellos que fumaban activamente a la inclusión en el estudio o afirmaban haber cesado el consumo en los 6 meses previos.
- Insuficiencia Renal. Se definió la presencia de insuficiencia renal como tener un filtrado glomerular menor a 60ml/min calculado por la fórmula CDK-EPI (41).
- Cardiopatía isquémica crónica. Se definió la presencia de cardiopatía isquémica en aquellos pacientes con antecedentes de un síndrome coronario agudo o la presencia de lesiones coronarias en una coronariografía.
- Ratio entre neutrófilos y linfocitos. Variable analítica que resulta de dividir el conteo absoluto de neutrófilos entre el conteo absoluto de linfocitos (42).
- Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos (Ratio MI/MNC). Variable que resulta de dividir el conteo absoluto de monocitos intermedios entre el conteo absoluto de monocitos no clásicos.

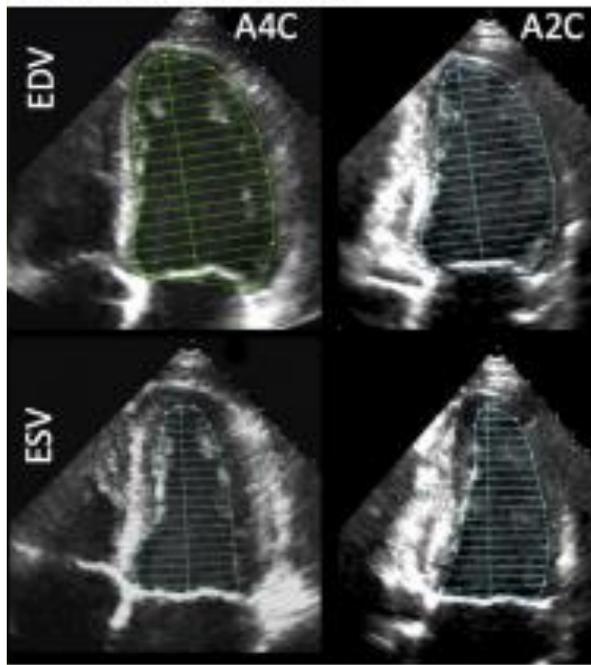
### 3.4. Ecocardiografía transtorácica

Como se ha comentado anteriormente, tanto a la inclusión como en la visita de seguimiento de los 6 meses se realiza una ecocardiografía transtorácica llevada a cabo por la unidad de imagen del servicio de Cardiología. Los estudios se realizaron todos en un ecógrafo Philips ie33.

Para la valoración de la función sistólica del ventrículo izquierdo se ha calculado la fracción de eyección mediante la técnica modificada de Simpson biplano o método biplano de sumación de discos, siguiendo así las recomendaciones de las guías americanas de ecocardiografía (43) que lo establece como el parámetro a utilizar. Según este método la fracción de eyección se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$FE = (\text{Volumen telediastólico} - \text{Volumen telesistólico}) / \text{Volumen telediastólico}$$

Para ello se emplean imágenes apicales de 4 cámaras (donde aparecen la cara septal y lateral del ventrículo izquierdo) y de 2 cámaras (donde aparecen las caras inferior y anterior), trazándose el borde endocárdico o interfaz sangre-tejido en ambos planos en telesístole y telediástole. Con estos trazos el software divide el ventrículo izquierdo en discos asumiendo la forma geométrica del ventrículo izquierdo con los dos planos obtenidos que se asumen perpendiculares, de manera que los volúmenes se calculan con la suma de los volúmenes de los discos formados. Se considera para ello la telediástole como la imagen posterior al cierre de la válvula mitral o aquella imagen del ciclo cardíaco en la que el volumen del ventrículo es el mayor, y para la telesístole se emplea la imagen posterior al cierre de la válvula aórtica o aquella en la que el volumen del ventrículo es el menor. Podemos apreciar el cálculo del método en la figura 11 (43).



*Figura 11. Representación de la medición de fracción de eyección mediante técnica de Simpson biplano. Extraído de Lang 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. J Am Soc Echocardiogr 2015;28(1):1-39.e14.*

Ciertamente existen estudios que recomiendan el cálculo de la fracción de eyección por método tridimensional, pero para favorecer la reproducibilidad de nuestro estudio y aplicación clínica por su disponibilidad hemos optado por la técnica biplano, la más extendida en la práctica clínica (43).

Para cada caso, con el objeto de minimizar los errores de medición intraexplorador e interexploradores, todos los estudios fueron realizados por el mismo operador y los valores definitivos surgieron del promedio de 3 determinaciones realizadas cada una de ellas tomadas de cortes ecográficos semejantes, captados sucesivamente.

### 3.5. Muestra sanguínea para calcular subpoblaciones de monocitos.

La primera muestra sanguínea se extraía por la enfermería de la planta de Cardiología a primera hora de la mañana en las 48 horas previas al alta hospitalaria coincidiendo con una analítica asistencial. Posteriormente se colocaba en el frigorífico de la Unidad de Trasplante Cardíaco y se avisaba a las personas referentes del proyecto del grupo de cardiovascular del Instituto de Biomedicina de Sevilla para su recogida y posterior procesado en el mismo día de su extracción. Nuevamente a los 6 meses se realizaba un proceso similar durante la consulta de revisión.

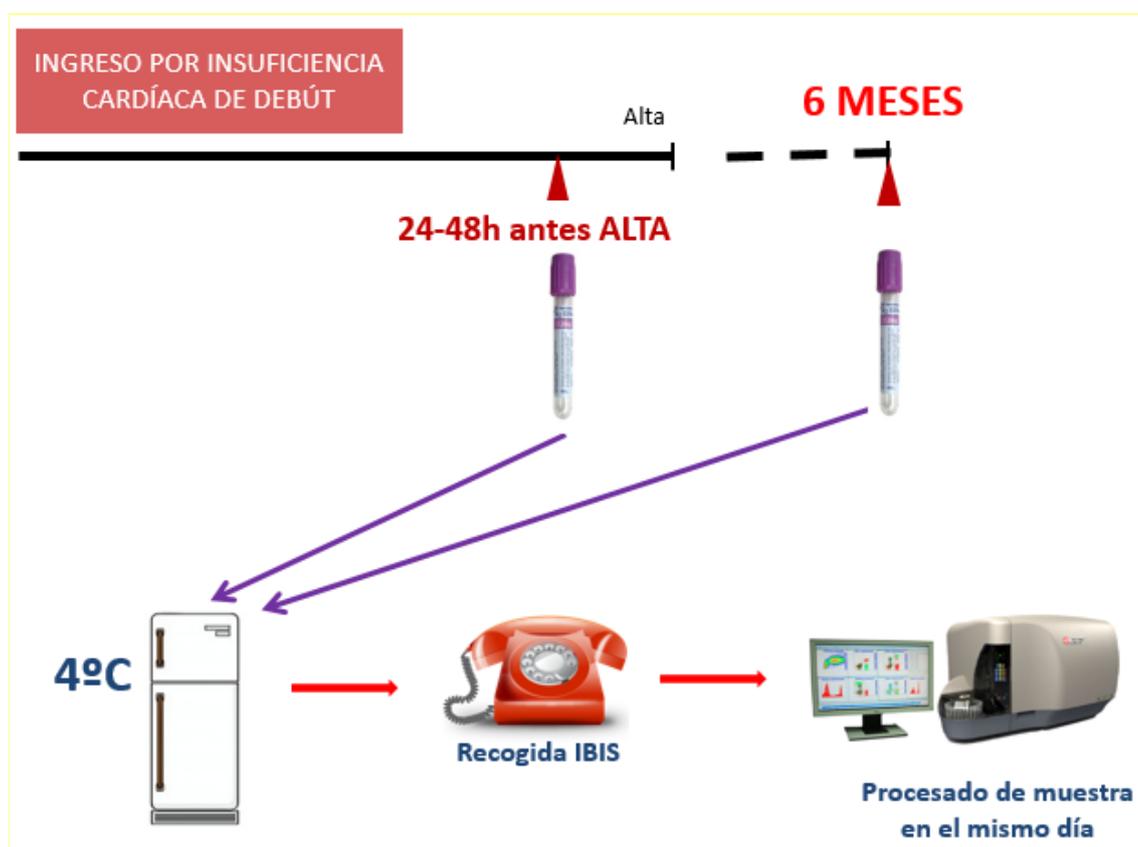


Figura 12. Representación del procesado de muestras del estudio. La muestra una vez extraída se almacenaba en frigorífico a 4°C y se contactaba con el personal del Instituto de Biomedicina de Sevilla, que recogían la muestra y la procesaban en el mismo día de su extracción.

La muestra se recogía en un tubo de 4ml de EDTA.

### **3.5.1 Citometría de flujo de las poblaciones inflamatorias.**

La citometría de flujo es una técnica de biología celular encaminada a cuantificar el porcentaje de células vivas de una muestra. Analiza el tamaño, la forma y el marcaje. Las células son incubadas con anticuerpos contra las proteínas de membrana que se pretende identificar. Los anticuerpos están unidos a moléculas fluorescentes que son detectadas a través de un láser. Para ello, las células se hacen pasar a través de láseres de determinadas longitudes de onda y se van clasificando en función de la presencia o ausencia de los marcadores en la membrana celular así como por su tamaño y complejidad

Las células extraídas de la sangre de los pacientes es incubada con los anticuerpos anti-CD11b (marcador de la serie mieloide), anti-CD14 y anti-CD16 (monocitos y macrófagos), anti-CD66b (marcador de neutrófilos y eosinófilos) y posteriormente se lisan los eritrocitos. En ambos casos, mezclamos la muestra de sangre con su cantidad correspondiente de tampón de lisis (entre 2-4 ml de una solución 1x del BD FACS LysingSolution 10X Concentrate en el caso de muestras humanas, 500 µl-1ml de una solución 1x de Red BloodCellsLysis Buffer para ratón). Se espera 10 minutos a temperatura ambiente para dejar que se produzcan las roturas celulares y se frenan las mismas con tampón PBS antes de que se comiencen a afectar al resto de células. Posteriormente se centrifugan las muestras y se retira el sobrenadante.

En cuanto al marcaje de las distintas poblaciones inflamatorias se utiliza para detectar y separar poblaciones de monocitos y neutrófilos, buffer PBS y anticuerpos que dependen del origen de las células.

Una vez añadidos las mezclas de anticuerpos a las muestras, se incuban de 30 a 45 minutos en oscuridad (para evitar el deterioro de los fluoróforos de los anticuerpos) y a 4°C en el caso de las muestras de ratón, temperatura ambiente para el caso de las muestras de humano. Por último, y antes de pasar las muestras por el citómetro, se resuspenden estas en 500 µl de una disolución 1:1000 de DAPI (marcador de viabilidad celular). Las muestras de sangre se analizaron en el citómetro de flujo para cuantificar (BD FACSCanto II, figura 13) y para separar las distintas poblaciones de células inflamatorias, las muestras se aislaron con el BD FACS Aria Fusión, un citómetro cuya tecnología permite separar y recuperar hasta 4 tipos celulares distintos.

Para el análisis de los datos de citometría se ha utilizado el software BD FACS DIVA™.



*Figura 13. Citómetro de flujo BD FACSCanto II.*

### 3.6. Análisis de los datos

Todos los datos anteriores fueron recogidos en una base de datos de IBM SPSS Statistics v.24 con el que posteriormente también se realizó el análisis estadístico. Para la realización de gráficas se usó el programa GraphPadPrism 7.

Para la descripción de las variables cualitativas o categóricas se han empleado medidas de frecuencia. Las variables cuantitativas han sido sometidas al test de Kolmogorov-Smirnov para determinar si siguen una distribución normal y, según estos resultados, se han expresado empleando la media y la desviación típica si siguen una distribución normal y podemos verlas reflejada siguiendo el formato “ $x \pm \sigma$ ” (media  $\pm$  desviación típica) o en caso de no seguir la distribución normal empleando la mediana y el rango intercuartílico siguiendo el formato “mediana (Q1-Q3)”.

Para valorar las diferencias entre variables cualitativas dicotómicas se empleó el test de chi-cuadrado. Si las variables cualitativas eran politómicas se empleó por el contrario la regresión logística binaria.

Respecto a la comparación de distribuciones entre variables cuantitativas, se usó el test de la T de Student para muestras independientes si la variable cuantitativa a analizar seguía una distribución normal, o prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney si no seguía una distribución normal.

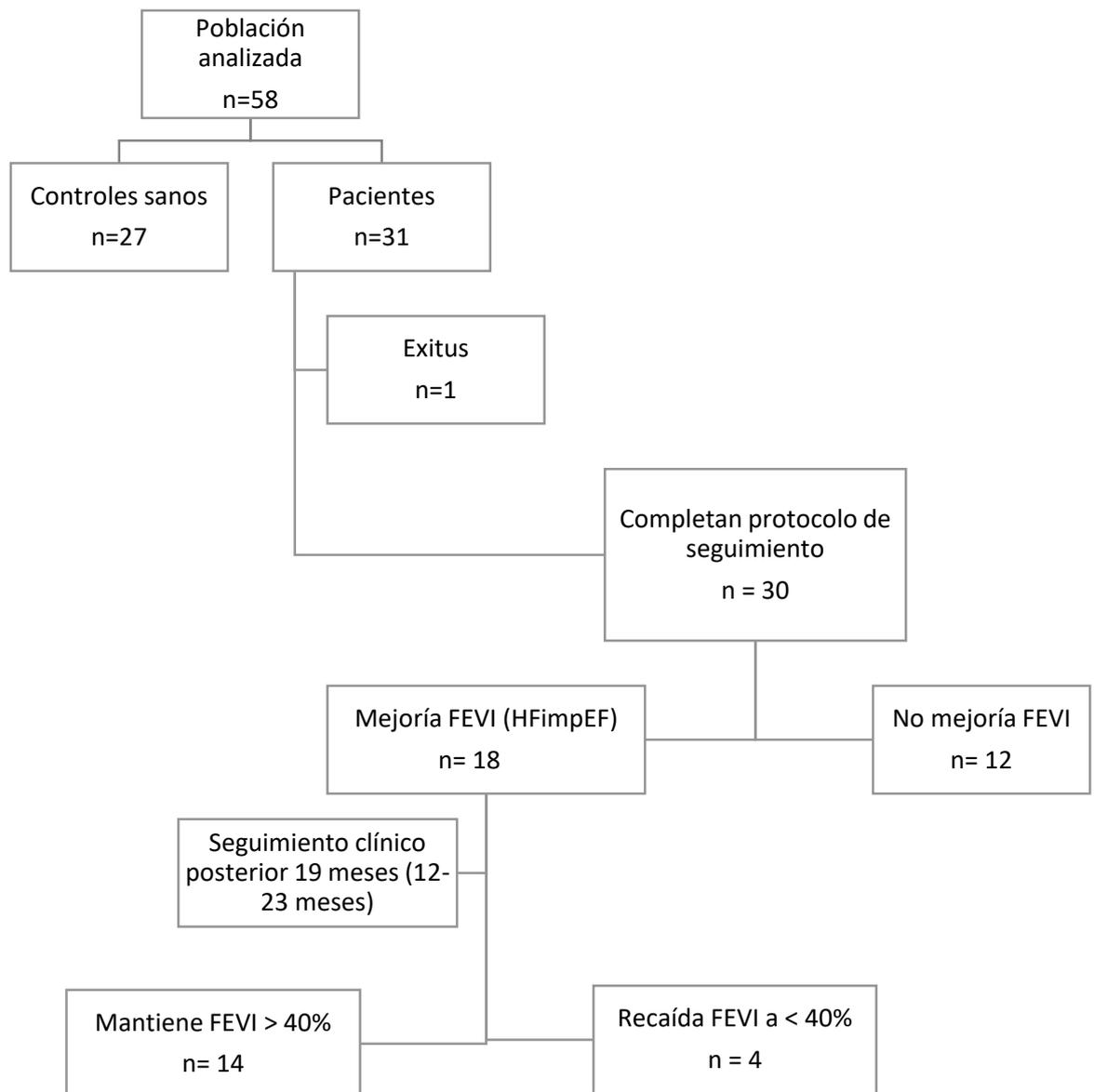
Se estableció un nivel de significación de 0,05.

Por último, con el fin de valorar la capacidad de la Ratio MI/MNC como potencial test diagnóstico que ayude a predecir la evolución de la FEVI se empleó el análisis de la curva ROC.

# **4. RESULTADOS**

## 4.1. Diagrama de flujo de la población

En el siguiente diagrama de flujo podemos apreciar el tamaño muestral, la distribución de la misma entre controles sanos y pacientes con insuficiencia cardíaca y el número de ellos que completan seguimiento, así como cuántos de éstos cumplen criterios de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.



## 4.2. Factores relacionados con la mejoría de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo

Con el tratamiento de la insuficiencia cardíaca se consiguió una mejoría de la FEVI en la muestra de una mediana del 15% (Q1-Q3: 7-22%), pasando de una FEVI basal al inicio del estudio mediana del 33% (Q1-Q3: 27-36%) a una FEVI a los 6 meses de seguimiento mediana del 47% (Q1-Q3: 40-51%).

Esto permitió alcanzar el umbral definido de HFimpEF a 18 de los 30 pacientes que completaron el seguimiento (60%) con hasta 13 pacientes (43%) que incluso superaron el umbral de FEVI del 50%.

En los próximos apartados se procede a analizar qué características se relacionaron con la mejoría de la FEVI.

### 4.2.1. Relación con las características basales

Se ha analizado la relación entre las características basales y comorbilidades más relevantes de los pacientes según si mejoraban o no la FEVI en el seguimiento. Los resultados obtenidos se incluyen en la tabla 1.

<u>BASAL</u>	Muestra completa (n=30)	Criterios de HFimpEF		p
		NO (n=12)	SI (n=18)	
Edad (años)	61 ± 10	64 ± 11	58 ± 9	0,11
Sexo (varón)	70%	67%	72%	0,58

Fumador	37%	25%	44%	0,24
Alcohol	20%	8%	28%	0,2
HTA	50%	67%	39%	0,13
Diabetes	40%	42%	39%	0,58
Insuficiencia renal > estadio III	7%	0%	11%	0,35
Neumopatía	13%	8%	17%	0,47
Cardiopatía isquémica	20%	33%	11%	0,15
Fibrilación auricular	20%	33%	11%	0,15
Tratamiento previo con IECA/ARA-II	50%	58%	44%	0,35
Tratamiento previo con betabloqueante	43%	75%	22%	<b>0,006</b>
FC (lpm)	100 ± 28	90 ± 31	105 ± 22	0,12
TAS (mmHg)	130 ± 21	130 ± 17	131 ± 24	0,85
TAD (mmHg)	76 ± 19	76 ± 16	77 ± 21	0,83
Peso (kg)	85 (77 – 100)	82 (70 – 94)	86 (81-120)	0,25
Altura (m)	1,71 (1,59 – 1,77)	1,67 (1,56-1,74)	1,72 (1,58-1,78)	0,49
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31,9 (27,3 – 35,7)	29,9 (27-34,7)	32,6 (28,9-37,4)	0,31

*Tabla 1. Relación entre las características basales de la muestra y la mejoría o no de fracción de eyección en el seguimiento. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada; HTA: hipertensión arterial; IECA: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; FC: frecuencia cardíaca; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; IMC: índice de masa corporal.*

#### 4.2.2. Relación con los parámetros analíticos basales

A continuación hemos analizado la relación entre la mejoría en la fracción de eyección y los parámetros analíticos de la muestra al inicio del seguimiento, resultados que se pueden apreciar en la tabla 2.

<u>BASAL</u>	Muestra completa (n=30)	Criterios de HFimpEF		p
		NO (n=12)	SI (n=18)	
Hemoglobina (g/dl)	13,8 ± 3,5	13,6 ± 2,1	14,1 ± 4,3	0,77
Linfocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	2,06 ± 0,55	2,09 ± 0,65	2,05 ± 0,5	0,87
NLR	2,57 ± 1,05	2,31 ± 0,88	2,66 ± 1,11	0,38
Sodio (mEq/L)	139 ± 3,7	140 ± 3	139 ± 4	0,21
Potasio (mEq/L)	4,4 (3,8 – 4,7)	4,5 (4,4 – 4,8)	4 (3,7 – 4,4)	<b>0,01</b>
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,82 – 1,06)	0,91 (0,82 – 1,04)	0,97 (0,71 – 1,15)	0,95
ALT (U/L)	26 (20-37)	23 (19 – 30)	33 (20-50)	<b>0,09</b>
Bilirrubina total (mg/dL)	0,62 (0,43-1,24)	0,65 (0,5 – 1,46)	0,58 (0,4 – 1,24)	0,81
Criterios ferropenia	52 %	58%	47%	0,41
NT-proBNP (pg/ml)	1452 (546 – 2082)	1312 (536 – 2587)	1364 (526 – 1866)	0,49
Troponina T US (ng/L)	27 (18-38)	21 (17 – 37)	27 (21-40)	0,38

Tabla 2. Relación entre los parámetros analíticos basales de la muestra y la mejoría o no de fracción de eyección en el seguimiento. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada; NLR: ratio entre neutrófilos y linfocitos; ALT: alanina aminotransferasa.

### 4.2.3. Relación con los parámetros basales de la evaluación cardiológica

Por otro lado, en la tabla 3 podemos encontrar las diferencias entre los pacientes que mejoraron su FEVI respecto a los datos derivados del electrocardiograma y el ecocardiograma transtorácico.

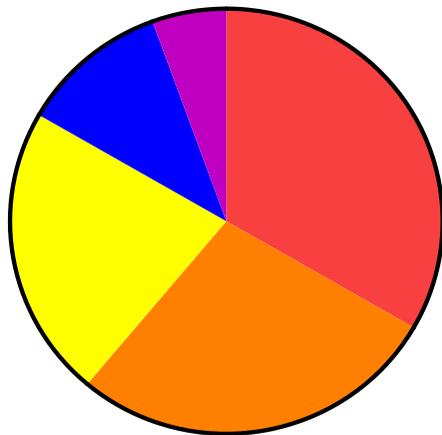
<u>BASAL</u>	Muestra completa (n=30)	Criterios de HFimpEF		p
		NO (n=12)	SI (n=18)	
Ritmo	Sinusal: 63% FA/flutter: 37%	Sinusal: 42% FA/flutter: 58%	Sinusal: 77% FA/flutter: 23%	<b>0,044</b>
Bloqueo de rama	37%	58%	23%	<b>0,044</b>
FEVI basal (%)	33 (27-36)	35 (30-37)	29 (25-36)	0,9
DTDVI (mm)	59 ± 7	57 ± 6	60 ± 7	0,49
Diámetro AI (mm)	44 ± 9	45 ± 12	42 ± 6	0,42
E/e' lateral	11,6 (8,5 – 15,4)	11,7 (10,1 – 14,5)	11,2 (7,6-18,8)	0,92
IM ≥ grado II	27%	33%	22%	0,39
TAPSE (mm)	17 ± 5	15 ± 6	18 ± 4	<b>0,046</b>
Probabilidad alta de HTP	43%	58%	33%	0,16

*Tabla 3. Relación entre los datos electrocardiográficos y ecocardiográficos basales y la mejoría o no de fracción de eyección en el seguimiento. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada; FA: fibrilación auricular; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; DTDVI: diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo; AI: aurícula izquierda; IM: insuficiencia mitral; TAPSE: excursión sistólica del plano del anillo tricuspídeo; HTP: hipertensión pulmonar.*

#### **4.2.4. Relación con la etiología de la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo**

De la muestra completa, la etiología predominante fue la miocardiopatía isquémica en 11 de los 30 pacientes (37%) que completaron el seguimiento. Las distribuciones de las diferentes etiologías en función de si los pacientes, finalmente, recuperaron o no la función sistólica del ventrículo izquierdo, sobre la que sólo se aprecian diferencias en cuanto a la miocardiopatía por tóxicos ( $p = 0,046$ ), que sólo está presente en el subgrupo de pacientes que mejoraron la FEVI, quedan recogidas en las figura 14.

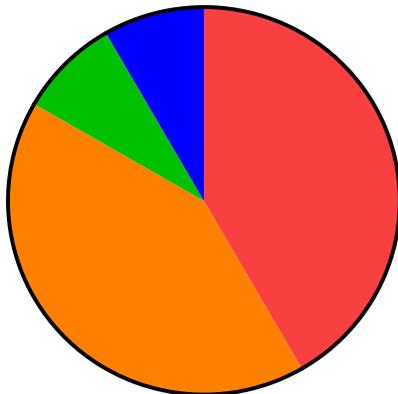
### HFimpEF



- 33.33% Miocardiopatía isquémica
- 27.78% Miocardiopatía dilatada idiopática
- 22.22% Miocardiopatía tóxica
- 11.11% Taquimiocardiopatía
- 5.56% Miocardiopatía familiar

n =18

### No mejoría de FEVI



- 41.67% Miocardiopatía isquémica
- 41.67% Miocardiopatía dilatada idiopática
- 8.33% Miocardiopatía valvular
- 8.33% Taquimiocardiopatía

n =12

Figura 14. Distribución de las etiologías de la miocardiopatía causante de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida. 12A: en el subgrupo de pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada (HFimpEF); 12B en el subgrupo de pacientes con fracción de eyección persistentemente reducida. .

**4.2.5. Relación con los tratamientos pronóstico de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida.**

Los tratamientos de la insuficiencia cardíaca que recibían ambos subgrupos a los 6 meses del seguimiento quedan reflejados en la tabla 4.

<u>6 MESES</u>	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	NO (n=12)	SI (n=18)	
IECA / ARA-II	41%	67%	0,16
ARNI	58%	33%	0,16
Betabloqueante	100%	100%	-
ARM	92%	83%	0,41
i-SGLT2	25%	27%	0,6
Diurético de asa	67%	17%	<b>0,008</b>
TRC	25%	5%	0,16

*Tabla 4. Relación entre los tratamientos recibidos al final del seguimiento y la mejoría de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.; IECA: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; ARM: antagonistas del receptor mineralocorticoideo; i-SGLT2: inhibidores del co-transportador sodio-glucosa 2; TRC: terapia de resincronización cardíaca.*

### 4.3. Evolución de variables antropométricas, analíticas y ecocardiográficas en pacientes que mejoran la función sistólica del ventrículo izquierdo

La mejoría de la función sistólica del ventrículo izquierdo es la variable en el seguimiento de mayor peso pronóstico, pero suele acompañarse de mejoría en otros parámetros, como el remodelado ventricular o biomarcadores de congestión. Es, por ello, que en la tabla 5 se analizan las diferencias encontradas en la visita de seguimiento:

6 MESES	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	NO (n=12)	SI (n=18)	
FC (lpm)	76 ± 17	63 ± 12	<b>0,021</b>
Cambio de peso corporal (kg)	-0,31 ± 6,6	- 7,2 ± 8,3	<b>0,031</b>
IMC	30,5 ± 5,5	31,3 ± 4,2	0,69
NYHA I	33%	83%	<b>0,014</b>
Potasio (mEq/L)	4,8 ± 0,3	4,7 ± 0,5	0,37
Creatinina (mg/dL)	1,01 ± 0,25	0,9 ± 0,27	0,34
Ferropenia	44%	15%	0,15
NT-proBNP	551 (276 – 1566)	208 (63-690)	<b>0,062</b>
Bloqueo de rama	No: 42% Si: 33% TRC: 25%	No 88% Si: 6% TRC: 6%	<b>0,028</b>
DTDVI (mm)	53 ± 10	53 ± 6	0,67
Diámetro AI (mm)	43 ± 9	40 ± 4	0,29
IM ≥ grado II	8%	0%	0,4

TAPSE (mm)	17,± 5	22 ± 4	<b>0,014</b>
Probabilidad alta de HTP	33%	0%	<b>0,018</b>

*Tabla 5. Parámetros de los pacientes a los 6 meses de seguimiento en función de si han mejorado o no su fracción de eyección. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.; FC: frecuencia cardíaca; lpm: latidos por minuto; IMC: índice de masa corporal; DTDVI: diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo; AI: aurícula izquierda; IM: insuficiencia mitral; TAPSE: excursión sistólica del plano del anillo tricuspídeo; HTP: hipertensión pulmonar.*

## 4.4. Relación entre las subpoblaciones de monocitos y la mejoría de fracción de eyección

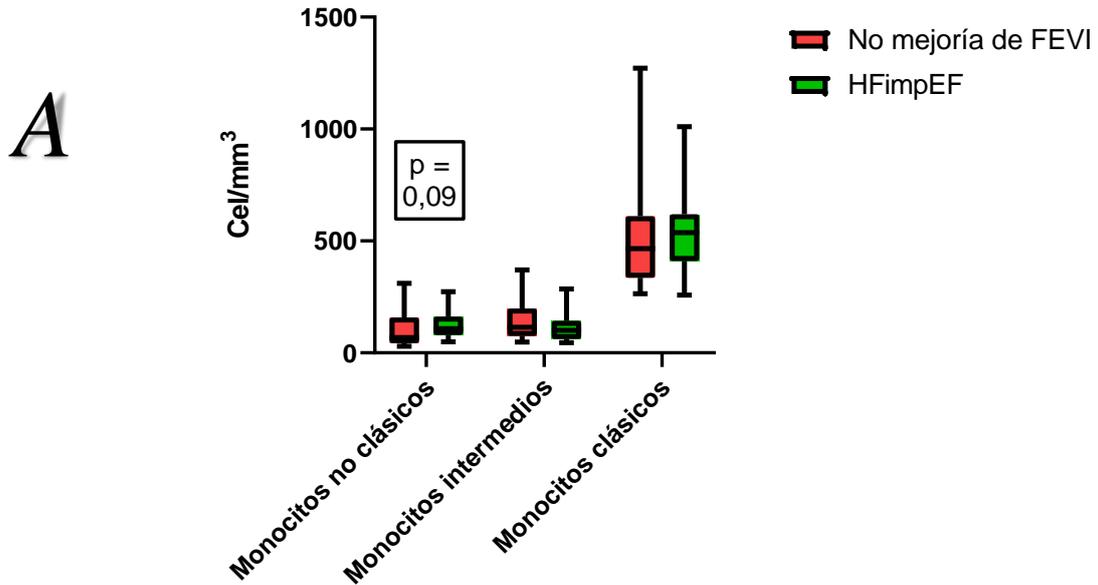
### 4.4.1. Distribución de las subpoblaciones de monocitos a nivel basal y relación con la mejoría de fracción de eyección

Con el fin de analizar el objetivo principal del estudio, en la tabla 6 y la figura 15 se aprecian las distribuciones de las subpoblaciones de monocitos en la muestra sanguínea basal en función de si el paciente finalmente pasó al grupo de insuficiencia cardíaca con FEVI mejorada o no.

<u>BASAL</u>	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	NO (n=12)	SI (n=18)	
Monocitos No clásicos (%)	10,7 (7,1-17,2)	16,1 (12,1-18,9)	<b>p = 0,079</b>
Monocitos Intermedios (%)	18,5 (11,5-21,3)	13,9 (9,1-18,4)	<b>p = 0,079</b>
Monocitos Clásicos (%)	71,5 (59,6-79,1)	69,3 (64,5-76,7)	p = 1
Monocitos totales (cel/mm <sup>3</sup> )	857 (560-1123)	834 (678-970)	p = 0,89
Monocitos No clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	69 (43-158)	109 (80-162)	<b>p = 0,095</b>
Monocitos Intermedios (cel/mm <sup>3</sup> )	114 (75-198)	101 (62-143)	p = 0,49
Monocitos Clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	465 (335-610)	536 (411-619)	p = 0,49

*Tabla 6. Relación entre las subpoblaciones de monocitos a nivel basal y la mejoría posterior de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.*

### Distribución de subpoblaciones de monocitos a nivel basal (cel/mm<sup>3</sup>)



### Distribución de subpoblaciones de monocitos a nivel basal (%)

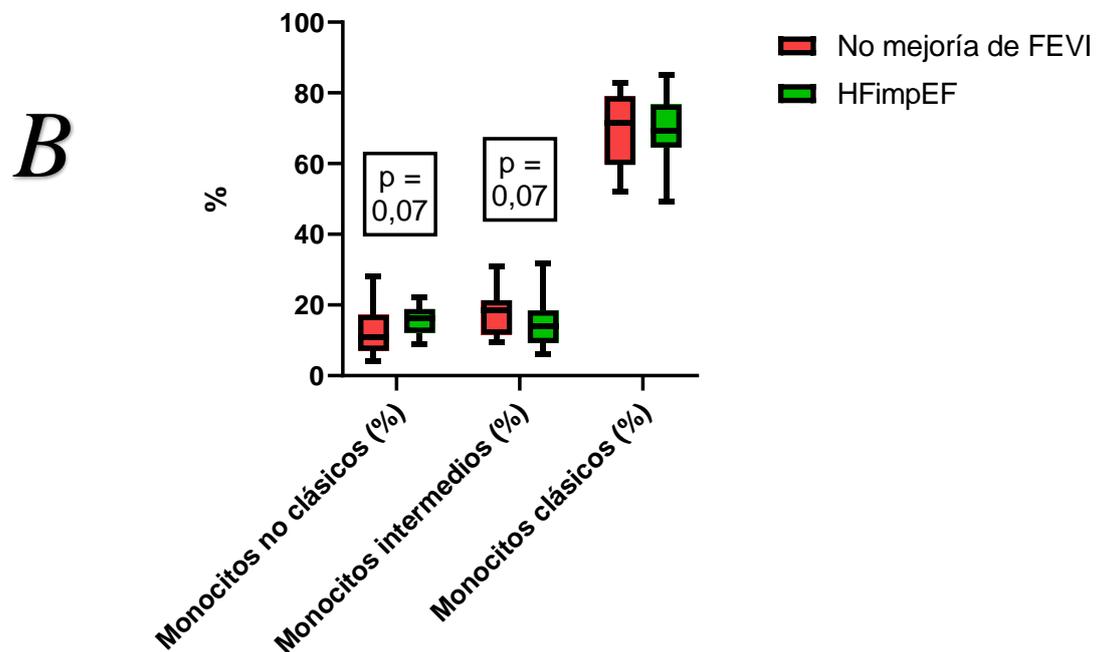


Figura 15. Distribución de las subpoblaciones de monocitos a nivel basal en función de si el paciente finalmente pasó al grupo de insuficiencia cardíaca con FEVI mejorada o no. A: empleando células totales de cada subpoblación; B: empleando porcentaje de cada subpoblación respecto al total de monocitos.

#### 4.4.2. Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos

Dado que en ambos subgrupos existe una proporción similar de monocitos totales aunque se produce en aquellos pacientes que no mejoran la FEVI una tendencia a una mayor expresión de monocitos intermedios en detrimento de los monocitos no clásicos respecto al grupo que alcanza criterios de HFimpEF, hemos analizado las diferencias de la ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos como potencial predictor de mejoría de FEVI. Los resultados se presentan en la tabla 7 y figura 16.

<u>BASAL</u>	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	NO (n=12)	SI (n=18)	
Ratio monocitos intermedios / monocitos no clásicos	1,45 (0,93-2,1)	0,81 (0,6 -1,17)	<b>p = 0,012</b>

*Tabla 7. Relación entre el cociente entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos con la mejoría posterior de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.*

## Ratio entre Monocitos intermedios / No clásicos a nivel basal

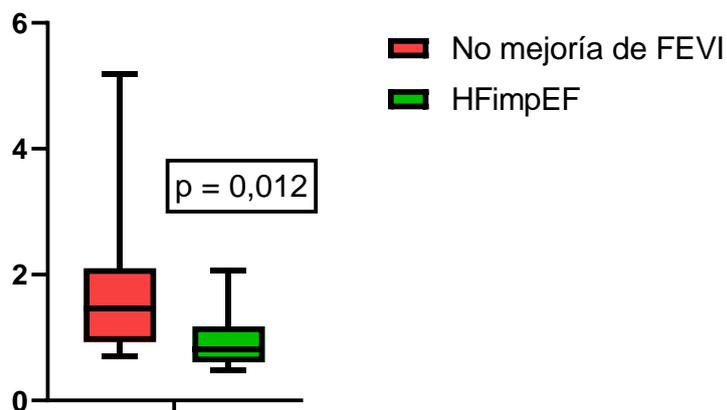


Figura 16. Diferencias en la ratio monocitos intermedios con monocitos no clásicos monocitos a nivel basal en función de si el paciente finalmente pasó al grupo de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección del ventrículo izquierdo mejorada o no.

### 4.4.3. Distribución de las subpoblaciones de monocitos a los 6 meses

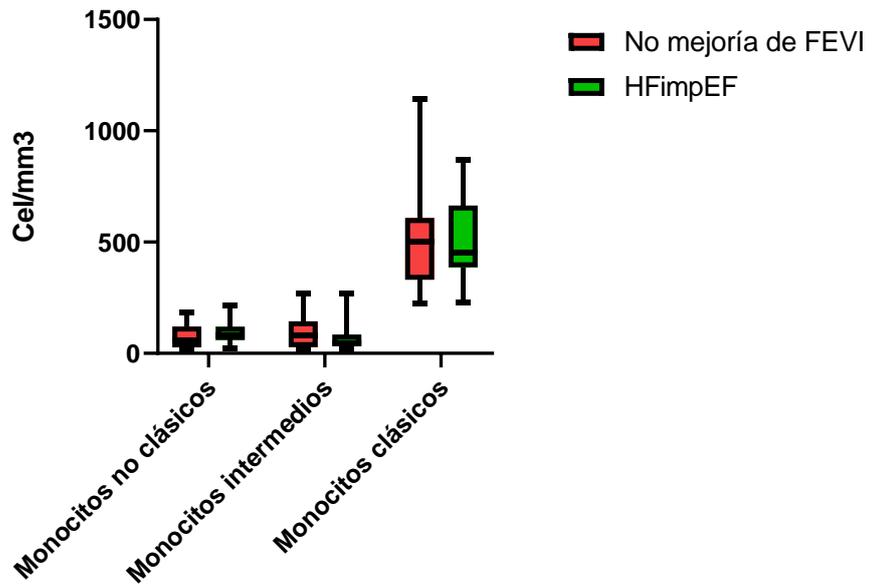
Por otro lado, analizamos las subpoblaciones de los monocitos a los 6 meses de seguimiento, donde ya un grupo de la muestra ha mejorado la fracción de eyección, con el fin de apreciar si aquéllos que han mejorado su fracción de eyección presentan una distribución diferente de las subpoblaciones de monocitos. Se obtuvieron los datos que se muestran en la tabla 8 y figura 17.

6 MESES	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	NO (n=12)	SI (n=18)	
Monocitos No clásicos (%)	9,5 (7,9-14,4)	13,2 (9,4-18,6)	p = 0,124
Monocitos Intermedios (%)	11,2 (7,4-17,7)	6,7 (4,9-10,5)	<b>p = 0,072</b>
Monocitos Clásicos (%)	79,4 (70,8-83,8)	79,8 (73,7-82,5)	p = 0,95

Monocitos totales (cel/mm <sup>3</sup> )	872 (680-1404)	775 (626-1026)	p = 0,31
Monocitos No clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	61 (27-121)	82 (60-119)	p = 0,25
Monocitos Intermedios (cel/mm <sup>3</sup> )	79 (28-144)	48 (32-84)	p = 0,23
Monocitos Clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	500 (331-668)	452 (387-664)	p = 0,76

*Tabla 8. Diferencias entre las subpoblaciones de monocitos a los 6 meses de seguimiento en función de si han mejorado o no la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. HFimpEF: Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.*

**Distribución de subpoblaciones de monocitos a los 6 meses (cel/mm3)**



**Distribución de subpoblaciones de monocitos a los 6 meses (%)**

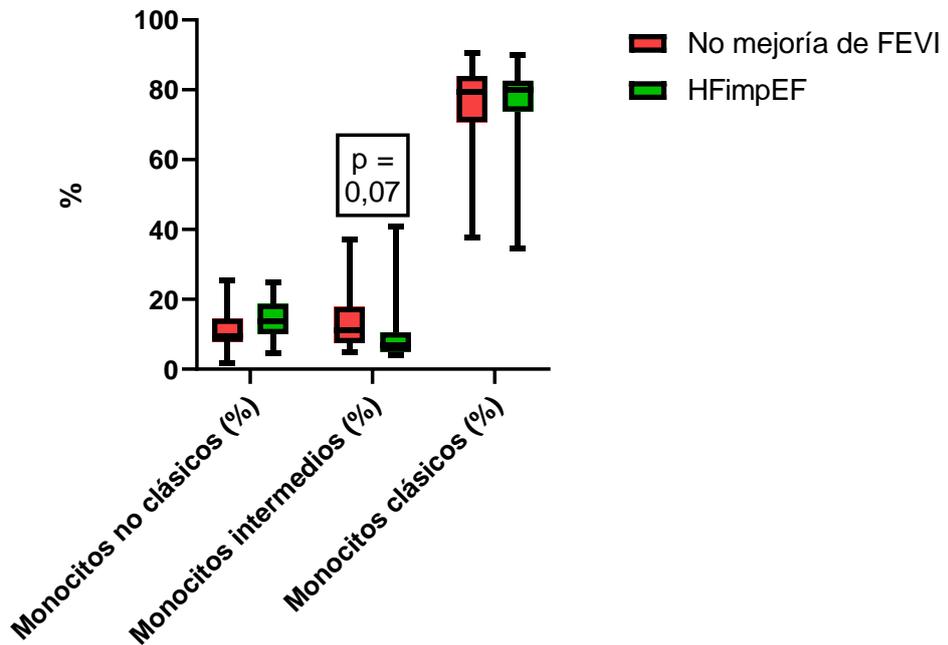


Figura 17. Distribución de las subpoblaciones de monocitos a los 6 meses de seguimiento en función de si el paciente cumple criterios de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección del ventrículo izquierdo mejorada o no. A: empleando células totales; B: empleando porcentaje de cada subpoblación respecto al total de monocitos.

#### 4.4.4. Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos a los 6 meses de seguimiento

Continuando con el análisis, hemos procedido a valorar las diferencias entre los pacientes que han mejorado o no la FEVI y la ratio de monocitos intermedios con monocitos no clásicos a los 6 meses de seguimiento, una vez esta mejoría se ha producido o no. La tabla 9 incluye estos resultados.

<u>6 MESES</u>	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	<b>NO (n=12)</b>	<b>SI (n=18)</b>	
Ratio monocitos intermedios / monocitos no clásicos	1,17 (0,86-1,52)	0,58 (0,37 -1,08)	<b>p = 0,012</b>

*Tabla 9. Diferencias en el cociente de monocitos intermedios y monocitos no clásicos entre los pacientes que han mejorado la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y los que no la han mejorado.*

#### 4.4.5. Cambios en las subpoblaciones de monocitos con el tratamiento

Una vez documentadas las distribuciones de subpoblaciones de monocitos tanto a nivel basal como a los 6 meses de seguimiento, hemos analizado la evolución de las subpoblaciones de monocitos con el tratamiento médico de bloqueo neurohormonal tanto en la muestra que mejoró fracción de eyección como en la que no lo hizo. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 10.

	Criterios de HFimpEF		Diferencias en la distribución
	<b>NO (n=12)</b>	<b>SI (n=18)</b>	
Cambio Monocitos No clásicos (%)	-1.3 % (-7,2 ; +1,1)	-2,9 % (-7,5 ; +5,9)	0,88
Cambio Monocitos Intermedios (%)	- 4.7% (-8,8 ; - 0,3)	- 5,6% (-8,6 ; -2,4)	0,76
Cambio Monocitos Clásicos (%)	+6 % (+1%; +19%)	+7,4 % (-0,8 ; +16,9)	0,85

*Tabla 10. Evolución de las subpoblaciones de monocitos entre las cifras basales y las cifras en el seguimiento.*

## 4.5. Predicción de mejoría de la fracción de eyección

Sobre la base de los resultados previos, hemos procedido a analizar el valor de la ratio basal entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos como posible test diagnóstico que ayude a predecir qué pacientes no van a mejorar la FEVI. Se ha realizado para ello una curva ROC que reflejamos en la figura 18.

Curva ROC. Ratio Monocitos Intermedios / No clásicos como predictor de no mejoría de FEVI

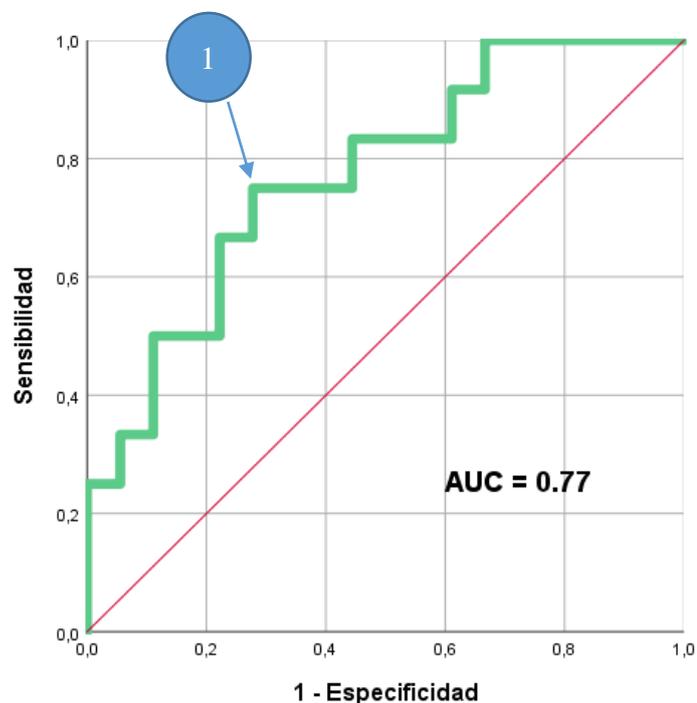


Figura 18. Curva ROC de la ratio entre monocitos intermedios con monocitos no clásicos a nivel basal como prueba para predecir si el paciente en el seguimiento no alcanzará criterios de mejoría de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. AUC: área bajo la curva.

Respecto a la curva ROC, se obtuvo un área bajo la curva de 0,77 (IC 95%: 0,6 – 0,94). Dentro de esta curva el punto con mayor índice de Youden, que captura el rendimiento de una prueba diagnóstica dicotómica y cuyo mayor punto señala el que

ofrece una mayor sensibilidad y especificidad conjunta, fue una ratio de MI/MNC de 1,08 que mostró respecto a la posibilidad de no alcanzar HFimpEF una sensibilidad del 75% y una especificidad del 72%.

## 4.6. Diferencias en las subpoblaciones de monocitos respecto a una cohorte de voluntarios sanos

De cara a esta comparativa disponemos de una cohorte de 27 controles sanos con una edad mediana de 42 años (Q1-Q3: 30-45 años), el 69% de ellos varones, no fumadores y sin antecedentes de diabetes o enfermedades cardiovasculares.

### 4.6.1. Diferencias en la subpoblaciones de monocitos entre los pacientes con insuficiencia cardíaca de debut en la muestra basal y los voluntarios sanos.

Comparamos en la tabla 11 y la figura 19, las cifras de monocitos de los controles sanos con la muestra basal de los pacientes en la que, por tanto, acaban de debutar con ICFeR.

<u>BASAL</u>	<b>Debut con ICFeR (n=31)</b>	<b>Voluntarios sanos (n=27)</b>	p
Monocitos No clásicos (%)	12,8 (10 – 18,9)	10,7 (7 - 15,1)	<b>&lt; 0,065</b>
Monocitos Intermedios (%)	15,4 (10,6 – 19,7)	6,3 (4,8 – 10,3)	<b>&lt; 0,001</b>
Monocitos Clásicos (%)	71,3 (64,4 – 77,3)	82,3 (76,6 – 85,9)	<b>&lt; 0,001</b>
Monocitos totales (cel/mm <sup>3</sup> )	842 (660 – 1000)	613 (453 – 892)	<b>0,003</b>
Monocitos No clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	91 (66 – 159)	54 (35 – 105)	<b>&lt; 0,002</b>
Monocitos Intermedios (cel/mm <sup>3</sup> )	102 (73 – 152)	34 (22 – 64)	<b>&lt; 0,001</b>

Monocitos Clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	536 (375 – 622)	423 (334 – 628)	0,13
Ratio MI / MNC	1,06 (0,72 – 1,6)	0,61 (0,41 – 0,95)	<b>0,003</b>

Tabla 11. Comparación de las subpoblaciones de monocitos entre los controles sanos y la muestra completa de pacientes que debutaron con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (ICFER). Ratio MI/MNC: ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos.

### Subpoblaciones de monocitos (%) en voluntarios sanos y pacientes con ICFER

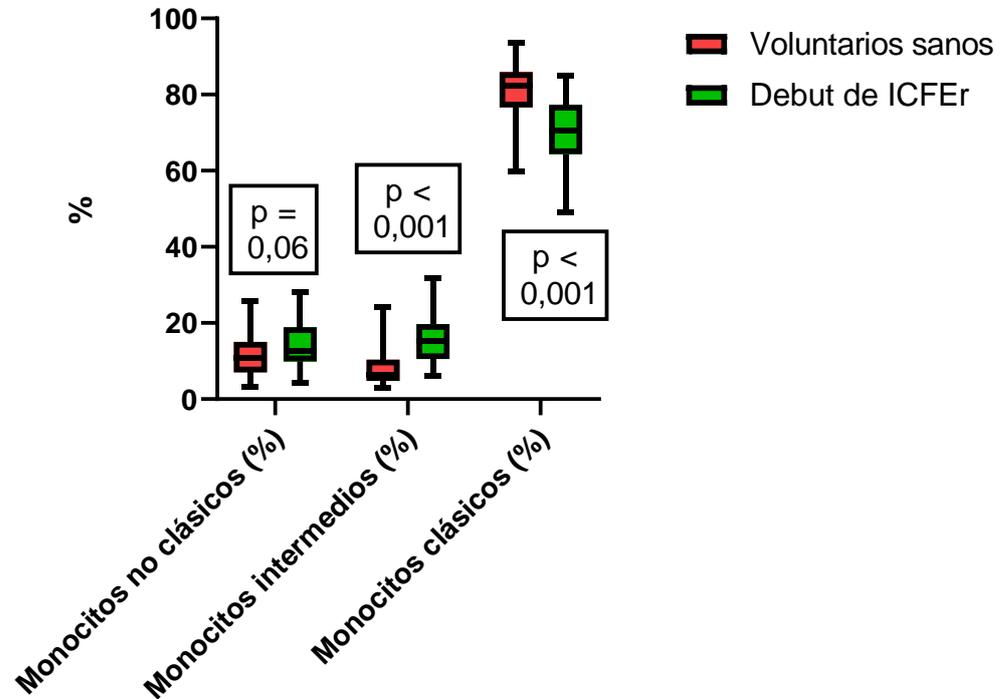


Figura 19. Comparación de las subpoblaciones de monocitos expresadas en porcentaje respecto a los monocitos totales entre los controles sanos y la muestra completa de pacientes que debutaron con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (ICFER).

**4.6.2. Diferencias en la subpoblaciones de monocitos entre los pacientes que han mejorado la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y los voluntarios sanos.**

Analizamos en la tabla 12 y figura 20 la comparación entre las subpoblaciones de monocitos a los 6 meses de seguimiento de aquellos pacientes que han mejorado su fracción de eyección y que, por tanto, en este punto del seguimiento todos tienen una fracción de eyección al menos del 40% con un grupo de voluntarios sanos.

	<b>Pacientes que han mejorado FEVI (n=18)</b>	<b>Voluntarios sanos (n=27)</b>	p
Monocitos No clásicos (%)	13,6 (10,1 - 18,7)	10,7 (7 - 15,1)	0,19
Monocitos Intermedios (%)	6,77 (5 - 10,6)	6,3 (4,8 - 10,3)	0,17
Monocitos Clásicos (%)	79,8 (73,9 - 82,6)	82,3 (76,6 - 85,9)	0,62
Monocitos totales (cel/mm <sup>3</sup> )	755 (626 - 1027)	613 (453 - 892)	<b>0,07</b>
Monocitos No clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	82 (60 - 119)	54 (35 - 105)	<b>0,057</b>
Monocitos Intermedios (cel/mm <sup>3</sup> )	48 (32 - 84)	34 (22 - 64)	0,14
Monocitos Clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	452 (387 - 664)	423 (334 - 628)	0,35
Ratio MI / MNC	0,58 (0,37 - 1,08)	0,61 (0,41 - 0,95)	0,63

*Tabla 12. Comparación de las subpoblaciones de monocitos entre los pacientes que habían alcanzado criterios de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada y un grupo de voluntarios sanos. Ratio MI/MNC: ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos.*

## Subpoblaciones de monocitos (cel/mm<sup>3</sup>) en voluntarios sanos y pacientes con HFimpEF

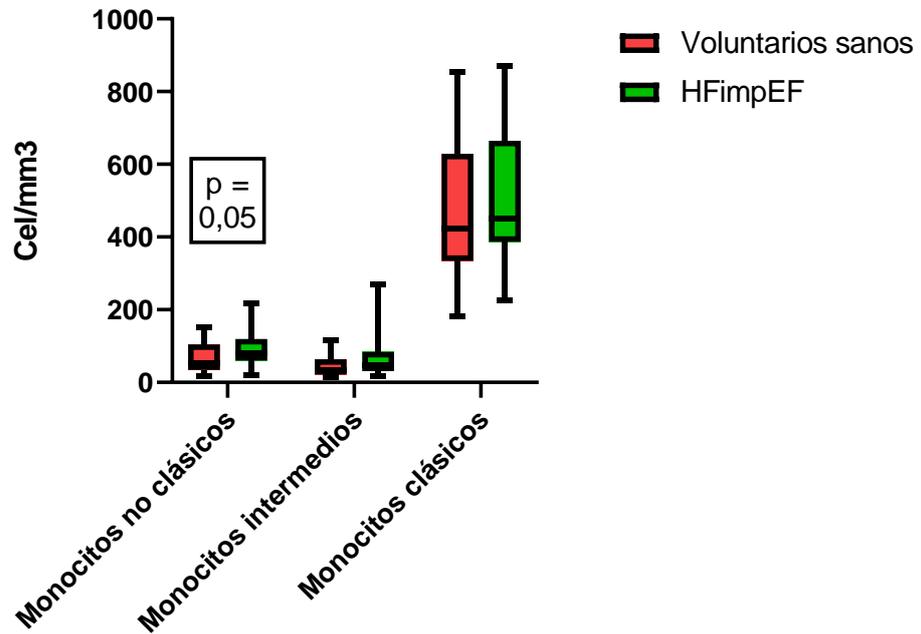


Figura 20. Comparación de las subpoblaciones de monocitos entre los pacientes que habían alcanzado criterios de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada y un grupo de voluntarios sanos.

#### **4.7. Evolución de los pacientes con fracción de eyección mejorada en función de las subpoblaciones de monocitos**

Con idea de valorar si una vez mejorada la FEVI, la evaluación de las subpoblaciones de monocitos puede predecir una recaída del paciente, suponiendo una nueva reducción de la FEVI hasta bajar del 40%, hemos analizado la relación entre las subpoblaciones de monocitos en la muestra recogida a los 6 meses de seguimiento (cuando se han catalogado o no a los pacientes de HFimpEF según los criterios recogidos en los métodos) con la recaída o no de la FEVI tras un seguimiento posterior de 19 meses de mediana (Q1-Q3: 12-23 meses). Los resultados se presentan en la tabla 13. Aquellos que mejoran su FEVI suponen un grupo de conocido mejor pronóstico y prueba de ello es que sólo 4 de los 17 pacientes que habían recuperado FEVI (23%) mostró en el seguimiento posterior una nueva caída de FEVI a valores inferiores al 40%.

6 meses	<b>Mantiene FEVI superior al 40% (n=14)</b>	<b>Recaída de FEVI a menos del 40% (n=4)</b>	p
Monocitos No clásicos (%)	14 (10,7 – 18,7)	9,7 (5,1 – 21,9)	0,44
Monocitos Intermedios (%)	5,9 (5 – 9,4)	11 (5,1 – 34)	0,33
Monocitos Clásicos (%)	79,9 (73,8 – 82,6)	80 (45,6 – 87,3)	1
Monocitos No clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	84 (70 – 120)	59 (37 – 138)	0,28
Monocitos Intermedios (cel/mm <sup>3</sup> )	48 (29 – 64)	66 (36 – 224)	0,44
Monocitos Clásicos (cel/mm <sup>3</sup> )	452 (403 – 664)	425 (257 – 778)	0,65

*Tabla 13. Comparación de las subpoblaciones de monocitos en el análisis de los 6 meses de seguimiento entre aquellos pacientes que posteriormente volverán a presentar una recaída de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) a menos del 40% y los que no.*

#### **4.7.1. Ratio entre monocitos intermedios y monocitos como predictor de recaída de la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo**

Hemos analizado, además, la ratio MI/MNC a los 6 meses de seguimiento en el subgrupo de pacientes que habían mejorado la FEVI entre aquéllos que volvieron a deteriorar la FEVI en el seguimiento posterior frente a los que mantuvieron la FEVI mayor al 40% en todo el seguimiento. Los resultados se muestran en la tabla 14 y la figura 21.

<u>6 meses</u>	Caída de FEVI a < 40%		Diferencias en la distribución
	<b>NO (n=14)</b>	<b>SI (n=4)</b>	
Ratio MI/MNC	0,46 (0,33 – 0,86)	1,17 (0,61 – 2,69)	<b>p = 0,06</b>

*Tabla 14. Comparación de la ratio MI/MNC (Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos) en el análisis de los 6 meses de seguimiento entre aquellos pacientes que posteriormente volverán a presentar una recaída de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) a menos del 40% y los que no.*

## Ratio MI/MNC según si mantiene o no la FEVI > 40%

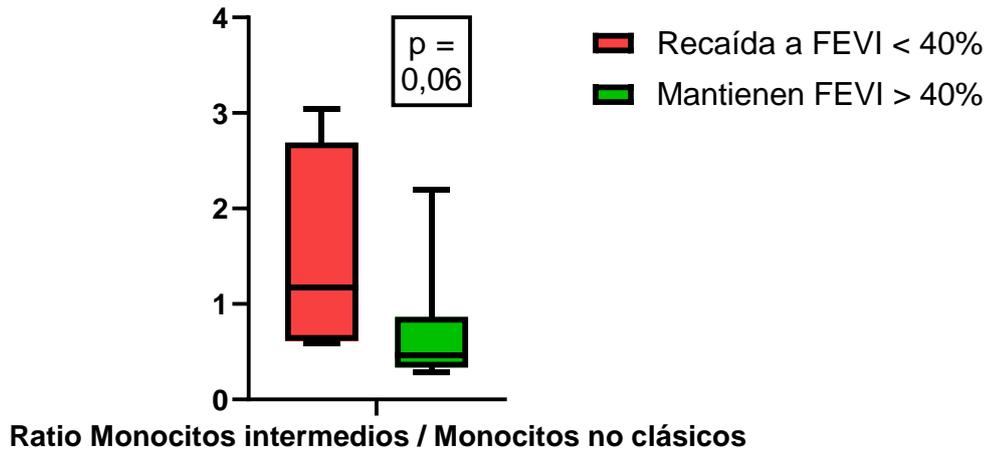


Figura 21. Comparación de la ratio MI/MNC (Ratio entre monocitos intermedios y monocitos no clásicos) en el análisis de los 6 meses de seguimiento entre aquellos pacientes que posteriormente volverán a presentar una recaída de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) a menos del 40% y los que no

Nuevamente, de cara a evaluar la capacidad de la ratio MI/MNC como test diagnóstico que ayude a predecir la recaída de la función sistólica, hemos elaborado una curva ROC (figura 22).

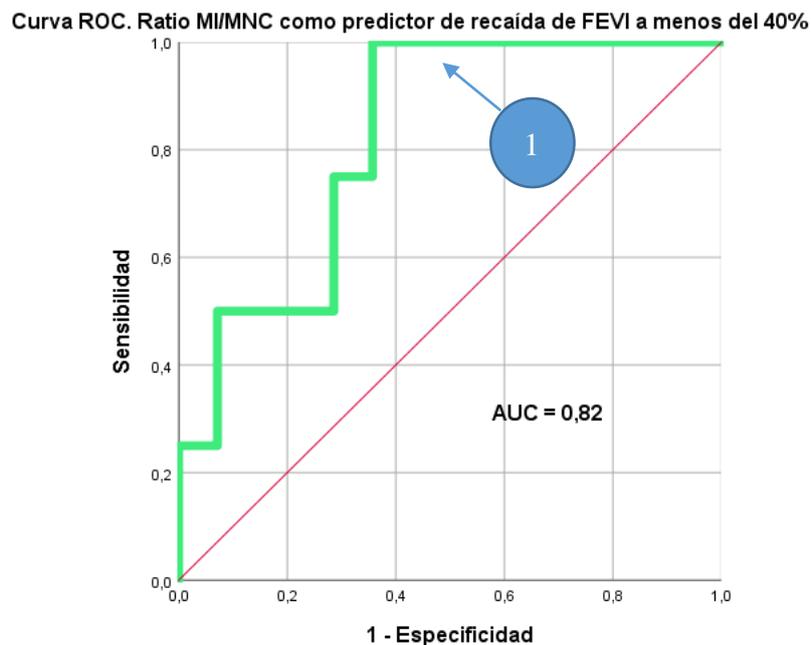


Figura 22. Curva ROC de la ratio entre monocitos intermedios con monocitos no clásicos (ratio MI/MNC) a los 6 meses de seguimiento en el subgrupo que ha mejorado la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) como prueba para predecir si el paciente volverá a experimentar un deterioro de la FEVI a menos del 40%. AUC: área bajo la curva.

De dicha curva ROC se obtuvo un área bajo la curva de 0,82 (IC 95%: 0,61 – 1). Dado que el interés de este test sería no perder el seguimiento de aquéllos que pueden volver a experimentar un descenso de la FEVI, priorizamos un punto con alta sensibilidad como el punto 1, que muestra cómo el 100% de los pacientes que descendieron la FEVI en el seguimiento tenían una ratio MI/MNC superior a 0,58, si bien hasta un 36% de los que mantuvieron una FEVI mejorada se encontraban también por encima de esta cifra.

# **5. DISCUSIÓN**

## **5.1. Predictores clínicos de mejoría de función sistólica**

Los primeros análisis de variables basales antropométricas, comorbilidades, analíticas y de la evaluación cardiológica basal han puesto de manifiesto que recibir tratamiento previamente con betabloqueante, cifras más elevadas de potasio sérico, ritmo basal no sinusal, la presencia de bloqueo de rama en el ECG y que haya una afectación del ventrículo derecho, parecen asociarse a una menor probabilidad de mejoría de la FEVI.

La adición del betabloqueante al tratamiento del paciente con ICFer, además del beneficio pronóstico demostrado, trae consigo un beneficio en cuanto al remodelado ventricular siendo uno de los fármacos que más incrementan la FEVI en este perfil de pacientes (44). Es por ello que aquellos pacientes que ya lo vinieran tomando por otra indicación no se benefician de este remodelado. Además, una de las indicaciones de los mismos es el control de frecuencia de la fibrilación auricular cuya presencia también se asocia con una menor tasa de mejoría de la FEVI, por lo que posiblemente existe un efecto de interacción entre ambas variables.

Los niveles séricos de potasio han sido ya identificados por su parte como un predictor independiente de eventos adversos en los pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (45).

Respecto a la presencia de una taquiarritmia auricular o el bloqueo de rama, ambos traducen con más probabilidad la presencia de una cardiopatía subyacente previa, por lo que tienen un impacto en la menor probabilidad de mejoría de la FEVI.

Por una explicación similar, la presencia de una disfunción del ventrículo derecho se asociaría a un menor remodelado en nuestra serie, ya que la disfunción sistólica del

ventrículo derecho en la miocardiopatía dilatada se asocia a una situación más avanzada de insuficiencia cardíaca y un remodelado miocárdico más pronunciado, siendo un predictor de mortalidad por cualquier causa (46).

Si bien no alcanza significación por el escaso tamaño muestral, destacamos que la distribución de etiologías muestra en el grupo que ha mejorado la FEVI en el seguimiento una menor proporción de miocardiopatía isquémica en pro de otras etiologías como la miocardiopatía dilatada debido a tóxicos, causa con la que todos los pacientes de nuestra serie experimentan una mejoría de FEVI y que además esta sí presenta diferencias estadísticamente significativas.

Por último, respecto al tratamiento farmacológico, si bien no se han encontrado diferencias respecto a los tratamientos considerados pronósticos de la ICFeR, algo que era esperable con este tamaño muestral, sí destaca un gran menor uso del diurético de asa en el grupo que alcanza criterios de HFimpEF, lo cual pone de relieve la mejoría clínica que conlleva aparejada la mejoría de la función sistólica y que facilitan, generalmente, la retirada de los diuréticos de asa.

#### **5.1.1. Cambios clínicos del subgrupo que mejora la fracción de eyección del ventrículo izquierdo.**

Aquellos pacientes que han alcanzado a los 6 meses criterios de HFimpEF muestran, precisamente, características asociadas a esa mejoría clínica como un menor uso de diuréticos de asa.

De esta forma aquellos pacientes que en el seguimiento han mejorado la FEVI muestran diferencias significativas en cuanto a una menor frecuencia cardíaca, una reducción marcada del peso respecto al basal y la mayoría están en clase funcional I de la NYHA con niveles más bajos de péptidos natriuréticos.

Por último, consideramos que merece destacar en especial el hecho que exista un mayor porcentaje de pacientes con TRC en el grupo que no mejoran la FEVI cuando, precisamente, es un tratamiento con un impacto muy positivo en el remodelado cardíaco (47). Consideramos que la explicación a este hecho la ofrece el tiempo de seguimiento, ya que esta terapia se indica, justamente, cuando no existe respuesta farmacológica en cuanto a mejoría de FEVI tras al menos 3 meses de tratamiento óptimo por lo que muy posiblemente el implante de la TRC se ha producido cercano al corte de seguimiento del estudio y justamente en aquellos con peor respuesta al tratamiento farmacológico, hechos ambos que nos hacen documentar estos hallazgos.

## **5.2. El papel pronóstico de las subpoblaciones de monocitos en la insuficiencia cardíaca**

El papel pronóstico de las subpoblaciones de monocitos circulantes en la insuficiencia cardíaca ha sido ya evaluado previamente. Así, Elchinova y colaboradores (29) analizaron el valor pronóstico de las subpoblaciones de monocitos en una cohorte ambulatoria con insuficiencia cardíaca crónica. En dicho estudio se documentó que un mayor número absoluto de monocitos intermedios y una menor proporción de monocitos no clásicos en esta cohorte se asociaron a una mayor mortalidad en el seguimiento. Empleando, por otro lado, un objetivo combinado de muerte por cualquier causa u hospitalización por insuficiencia cardíaca volvieron a poner de manifiesto cómo un mayor número de monocitos intermedios (OR 1.18; IC 95% 1.01-1.38) se relacionaba con estos eventos adversos e inversamente ocurría con el porcentaje de monocitos clásicos (OR 0.95; IC 95% 0.91-0.99).

Estos hallazgos, aunque se trata de una cohorte de diferentes características y los objetivos sean de eventos clínicos adversos, en esencia son similares a los encontrados en nuestro trabajo donde las cifras de monocitos intermedios se relacionan con una menor probabilidad de mejorar la FEVI y, por tanto, peor evolución clínica.

En la comparación hay que señalar, además, que si bien nuestro trabajo comporta un pequeño tamaño muestral, se trata de una muestra muy homogénea de pacientes que debutaron con ICFer en los que dicha muestra se recoge en un punto concreto de la historia natural de la patología, mientras que el estudio de Elchinova y colaboradores (29) se incluye una mezcla heterogénea de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica entre los que hay no sólo pacientes con FEVI reducida, sino también preservada, que es una

entidad con características y manejo clínico muy diferente. De hecho, incluso llama la atención que incluyeron un 6% de la muestra en clase funcional I de la NYHA. Además, como hemos especificado, no existe un punto concreto de la historia natural de la insuficiencia cardíaca en la que se incluyan los pacientes, por lo que puede haber desde pacientes que han debutado recientemente como otros en una fase más avanzada.

### **5.2.1 Subpoblaciones de monocitos circulantes como predictor de mejoría de función sistólica**

Cuando un paciente debuta con ICFEr, la evolución puede ser muy dispar. De hecho, si el debut se produce precisando el paciente un ingreso hospitalario, lo cual desgraciadamente se produce con frecuencia, un porcentaje que no es bajo de este subgrupo fallecerá en el ingreso. De los pacientes que son dados de alta tras debutar con ICFEr, si bien el tratamiento inicial es común, la respuesta al mismo es heterogénea de forma que, como hemos visto en nuestro estudio, un subgrupo de pacientes mejorará la FEVI con el tratamiento farmacológico y otro subgrupo, sin embargo, no presentará esta mejoría o incluso sufrirá una progresión del deterioro de la función sistólica.

Conocer si el paciente que debuta con ICFEr pertenecerá a uno u otro grupo tendría un gran interés clínico por varias razones. Por un lado, se le podría ofrecer al paciente una información mucho más precisa de su pronóstico, ya que cambia radicalmente según si se produce un remodelado favorable del ventrículo izquierdo o no. Por otro lado, conocer qué pacientes tendrán una evaluación más desfavorable nos permitirá hacer un seguimiento más estrecho de este subgrupo de mayor riesgo. Y por último, si bien la intensidad del tratamiento médico debiera ser la mayor posible en todos

los pacientes, sí que existen otras terapias que precisan esperar a ver la evolución de la FEVI antes de decidir su puesta en marcha, como es la TRC o los desfibriladores automáticos implantables, que están indicados una vez persiste una reducción sostenida de la FEVI pese a, al menos, 3 meses de tratamiento médico óptimo.

Dada esta relevancia son muchos los estudios realizados buscando predictores que nos ayuden a definir la evolución que tendrá un paciente que debuta con ICFer, teniendo en cuenta que hasta 2021, cuando se define la entidad de HFimpEF por parte de varias sociedades científicas de insuficiencia cardíaca, no existía una definición universal (32) y, por tanto, los estudios empleaban diferentes umbrales de mejoría de función sistólica y remodelado. Aun con estas limitaciones, es bien conocido que la edad más avanzada, la etiología isquémica de la ICFer, la presencia de bloqueo de rama izquierda en el ECG, mayores concentraciones de determinados biomarcadores, la presencia de realce tardío de Gadolinio en la resonancia magnética cardíaca y la falta de implantación del tratamiento médico de la ICFer, se asocian claramente a menores tasas de mejoría de función sistólica (48).

En cuanto a los biomarcadores, han sido numerosos los estudios que los han intentado emplear para conseguir predecir la mejoría o no de la función sistólica, usando desde biomarcadores extendidos en la práctica diaria, como la troponina T (49), hasta otros no empleados en la práctica diaria pero que están cobrando relevancia en la investigación cardiovascular, como los micro-ARN(50), si bien los estudios más extendidos con los nuevos biomarcadores son mayoritariamente de eventos clínicos.

Respecto al papel del sistema inmune en la insuficiencia cardíaca, como podemos ver en la figura 23, se trata de un tema que viene cobrando cada vez mayor relevancia como demuestra el creciente número de publicaciones relacionadas con este aspecto. Sin

embargo, de momento este aumento en el conocimiento se ha focalizado mucho en la fisiopatología y existe aún mucho campo por descubrir en cuanto a biomarcadores con papel pronóstico en la insuficiencia cardíaca, así como posibles terapias futuras (19).

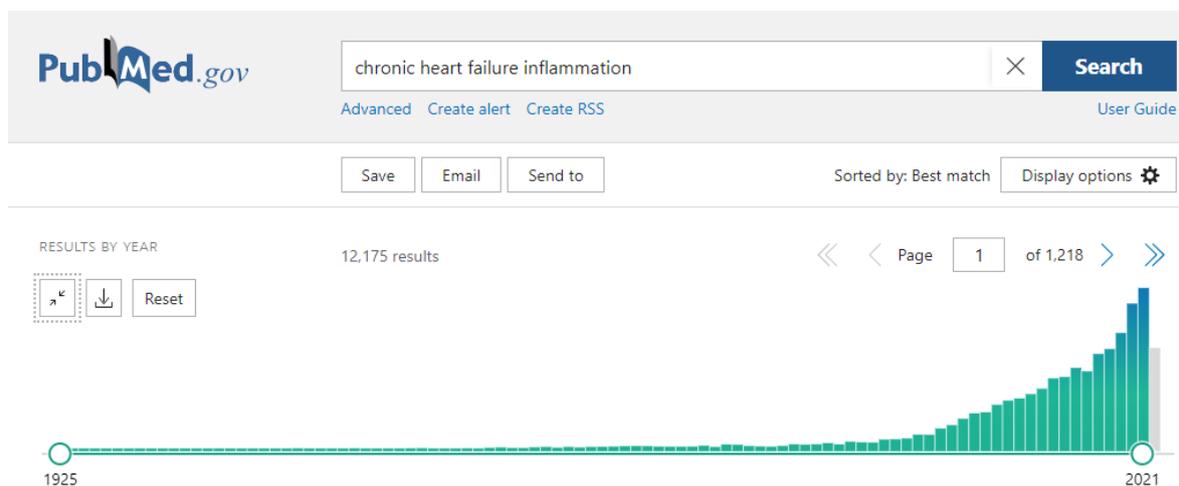


Figura 23. Captura de la búsqueda realizada en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> de los parámetros “chronic heart failure inflammation” en el 25 de Julio de 2022.

Actualmente, respecto a los biomarcadores inflamatorios en la insuficiencia cardíaca, los más estudiados son la IL-6 y el TNF- $\alpha$ . Respecto a la IL-6, contamos con un amplio estudio realizado en la cohorte del estudio BIOSTAT-CHF(51) en la que se puso de manifiesto la relación de los niveles aislados de IL-6 con la mortalidad y hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca, si bien la adición de la IL-6 a un score de predicción que empleaba variables clínicas y analíticas habituales no le aportó una mayor capacidad de discriminación pronóstica.

En lo que sería específicamente el remodelado cardíaco, aspecto en el que centra nuestro estudio, encontramos mucho interés en el estudio de Ahmad et al (52) en el que se incluyeron 40 pacientes que debutaron con ICFer con miocardiopatía dilatada y habían o no recuperado la FEVI en el seguimiento, analizándose en este momento varias citoquinas inflamatorias, incluyendo el TNF- $\alpha$ , la IL-6 y los receptores solubles de TNF.

En este análisis encontraron niveles más elevados de TNF- $\alpha$  e IL-6 en el grupo que mantenía la FEVI persistentemente reducida respecto a los que habían superado una FEVI mayor al 50% en el seguimiento. Si bien no analizaron las poblaciones de monocitos, cabe destacar que los monocitos intermedios son importantes productores de TNF- $\alpha$  e IL-6, por lo que son resultados compatibles con los encontrados en nuestro trabajo. Como aspecto muy negativo del estudio mencionado no se recogió una muestra basal de la serie, por lo que este trabajo no aclara si existen unos niveles basales de estas citoquinas que ayuden a predecir la mejoría de FEVI, mostrando simplemente que existe un perfil inflamatorio diferente entre el grupo con FEVI recuperada y el grupo con ICFEr, lo cual tiene un menor interés desde el punto de vista de la práctica clínica.

En este contexto enmarcaríamos los resultados de nuestro estudio. Como podemos apreciar en la tabla 6, no existen diferencias en los monocitos totales ni en los monocitos clásicos de la muestra basal al debut de la ICFEr entre aquellos que, posteriormente, alcanzaron HFimpEF y los que no. No obstante, se aprecia una clara tendencia cercana a la significación ( $p = 0,079$ ) en cuanto a una menor proporción de monocitos no clásicos en lugar de un mayor número de monocitos intermedios, más proinflamatorios, en el subgrupo de pacientes que no consigue mejorar la función sistólica en el seguimiento.

Dadas estas diferencias y que la proporción de monocitos clásicos se mantiene similar, hemos analizado la ratio MI/MNC como posible predictor de evolución del remodelado de los pacientes con ICFEr. En este sentido, los resultados han documentado cómo los pacientes que no mejoran la FEVI con el tratamiento médico en 6 meses de seguimiento partían de una ratio MI/MNC mucho más elevada con un cociente mediano de 1,45, lo que traduce un número de monocitos intermedios superior al de monocitos no clásicos. Sin embargo, el grupo que sí alcanzó HFimpEF tenía un cociente mediano de

0,81, lo que traduce un predominio de monocitos no clásicos sobre los monocitos intermedios.

Estos resultados nos han invitado a hacer un análisis de curva ROC para la ratio MI/MNC como un posible test diagnóstico para realizarlo al paciente con debut de ICFEr con el fin de predecir quienes no van a experimentar una mejoría de FEVI con el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. Dicho análisis ha documentado un área bajo la curva de 0,77. Por tanto con una aceptable capacidad discriminativa.

Dentro de la curva, el punto con la sensibilidad y especificidad conjunta más elevada fue una ratio MI/MNC de 1,08. Escogiendo este umbral identificaríamos en el seguimiento al 75% de pacientes que no van a conseguir mejorar la FEVI y, sin embargo, sólo el 28% de pacientes que mejorarán la FEVI superarían este umbral.

Según los resultados de este trabajo surge con fuerza la hipótesis de que una distribución de subpoblaciones de monocitos en el debut de los pacientes con ICFEr posee un papel predictor en el remodelado ventricular izquierdo de estos pacientes. Concretamente, la ratio MI/MNC podría ser un parámetro muy útil ya que además al tratarse de una ratio no influye en ella el número de monocitos totales en sí, sino la distribución de los mismos con un trasvase mayor o menor hacia los monocitos intermedios, más proinflamatorios. Consideramos, por ello, que ampliar la línea de este estudio podría aportar un nuevo biomarcador que ayudase, al debut de la ICFEr, a predecir la evolución ayudando a intensificar el seguimiento y el tratamiento de aquéllos en los que se espera una peor evolución.

Por otro lado, estos hallazgos abren vías de conocimiento en las que habrá que responder si las diferencias encontradas en las subpoblaciones de monocitos reflejan una

mayor evolución o gravedad de la patología o son, en sí, la causa de una evolución desfavorable de cara a dilucidar si pueden derivarse de estos hallazgos nuevas líneas de tratamiento.

En esta línea, en un estudio con inhibidores de la IL-6 (como el tocilizumab que ha cobrado relevancia a raíz de uso en la infección grave por SARS-CoV-2) administrado en pacientes con artritis reumatoide y sin antecedentes de insuficiencia cardíaca se documentó un aumento de FEVI del 8,2% evaluado por resonancia magnética cardíaca (53) o, más recientemente, un subestudio del ensayo clínico CANTOS puso de manifiesto que el canakinumab, un inhibidor de la IL-1 $\beta$ , redujo las hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca en una cohorte con antecedentes de infarto agudo de miocardio y elevación de niveles de la proteína C reactiva ultrasensible (54).

### **5.2.2. Cambios en las subpoblaciones de monocitos durante el seguimiento**

Como podemos apreciar en la tabla 10, el tratamiento médico en los pacientes con ICFer se asocia a una reducción importante de monocitos intermedios, más proinflamatorios, siendo esta reducción similar para el grupo que no alcanza criterios de HFimpEF y para el que sí los alcanza (4,7 y 5,6% de reducción, respectivamente). La reducción de monocitos no clásicos es muy discreta y se produce, no obstante, un incremento de monocitos clásicos.

Al ser los cambios de las diferentes subpoblaciones similar en ambos grupos, esto hace que se mantengan en cierta medida las diferencias encontradas a nivel basal en los mismos, como apreciamos en la tabla 8.

Por tanto, es de esperar también que la ratio MI/MNC siga manteniéndose significativamente más elevada en aquellos pacientes que no han presentado una mejoría significativa de la función sistólica respecto a aquéllos que alcanzaron HFimpEF ( $p = 0,012$ ). Sin embargo, si bien estas diferencias se mantienen, se aprecia una reducción de la ratio en ambos subgrupos habiendo pasado en el grupo que no alcanza HFimpEF de 1,45 a 1,17 y en el que sí mejora sustancialmente la FEVI de 0,81 a 0,58.

### **5.3. Comparación de las subpoblaciones de monocitos circulantes con una cohorte de controles sanos**

La comparación de las muestras obtenidas en los pacientes con ICFEr del estudio con una cohorte de voluntarios sanos deja dos lecturas muy interesantes.

#### **5.3.1 Comparación entre controles sanos y pacientes que debutan con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección deprimida**

Por un lado, la comparativa entre los controles sanos y el análisis basal de toda la muestra, momento en el que los pacientes han experimentado, por tanto, el debut de ICFEr, pone de relieve que el sistema inmune juega un papel activo en la insuficiencia cardíaca (17,19). Así, los pacientes con insuficiencia cardíaca muestran un mayor número de monocitos totales y, además, una diferente distribución de los mismos con una reducción de la proporción de monocitos clásicos en detrimento de los monocitos intermedios que están marcadamente aumentados, como podemos ver en la tabla 11 (15,4% de mediana en el grupo con ICFEr frente al 6,3% de mediana de los controles sanos), hallazgos similares a los que se producen tras un infarto agudo de miocardio.

Así mismo estas diferencias en la distribución conllevan una ratio MI/MNC también significativamente diferente, superior a 1 en los pacientes con ICFEr y, por tanto, un mayor número de monocitos intermedios que de monocitos no clásicos.

En esta línea, Amir y colaboradores (28) realizaron un estudio en el que compararon 59 pacientes, en este caso con insuficiencia cardíaca sistólica aunque en fase crónica, con un grupo de voluntarios sanos. Documentaron que en los pacientes con

insuficiencia cardíaca existía una reducción de monocitos clásicos en detrimento de una expansión de monocitos no clásicos, con una relación significativa entre los niveles de monocitos no clásicos con el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo. Además, encontraron una sobreexpresión de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-13, poniendo de manifiesto la producción que cada subtipo de monocito realiza de IL-13 en los voluntarios sanos y en los pacientes con insuficiencia cardíaca, apreciando en estos últimos cómo los monocitos clásicos producen algo más de IL-13. Pero, fundamentalmente, el cambio de niveles de IL-13 se debe a que aparece una gran producción de la misma por parte de monocitos intermedios y no clásicos, algo que no se produce en los voluntarios sanos.

Respecto a los métodos empleados en este estudio, cabe reseñar que preceden a las guías europeas de insuficiencia cardíaca de 2016 que definieron con exactitud los criterios diagnósticos de la ICFEr (55), por lo que en el estudio simplemente se habla de insuficiencia cardíaca sistólica. Y por otro lado, a nuestro juicio en la comparativa con el presente estudio supone una gran diferencia el hecho de seleccionar pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, término que puede abarcar pacientes que llevan desde una corta evolución hasta en una fase muy avanzada, lo que hemos visto en nuestro estudio cómo tiene un impacto en las subpoblaciones de monocitos que son, precisamente, dinámicas en el tiempo. Por ello, consideramos que homogeneizar un punto de corte bien definido en la patología, tal y como se hace en el presente estudio, es muy relevante.

Aun teniendo en cuenta estos aspectos reseñados, consideramos que este trabajo viene a refrendar el papel de las modificaciones que se producen en las subpoblaciones de monocitos en la insuficiencia cardíaca con una reducción de los monocitos clásicos en lugar de monocitos más proinflamatorios o reguladores como los intermedios o no clásicos. La asociación documentada en el trabajo con el diámetro telediastólico, además,

apoya la relación con el remodelado ventricular izquierdo, núcleo central la presente Tesis Doctoral.

En otro artículo con menor tamaño muestral, Barisione et al (27) compararon un grupo de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica con un grupo de voluntarios sanos, documentando que la cohorte con insuficiencia cardíaca tenía niveles mucho más elevados de monocitos intermedios que la cohorte de voluntarios sanos, hallazgos nuevamente indicativos del papel de esta subpoblación de monocitos en la insuficiencia cardíaca. También en este trabajo se incluye una mezcla heterogénea de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica.

### **5.3.2 Comparación entre controles sanos y los pacientes que han alcanzado insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.**

Dados los cambios evolutivos que se han descrito previamente en el seguimiento del paciente con ICFeR tras instaurar el tratamiento con una reducción de monocitos intermedios y un aumento de monocitos clásicos, la distribución de las subpoblaciones de monocitos tienden, por tanto, hacia la distribución documentada en los controles sanos.

Dentro de la muestra completa, sin embargo, cobra especial interés el subgrupo que ha mejorado la FEVI con el tratamiento en el que se produce un cambio pronóstico y clínico muy significativo y en el que, por consiguiente, cabe preguntarse si los niveles y distribución de monocitos circulantes han regresado a niveles similares a los de los controles sanos.

En este sentido, vemos en la tabla 12 cómo efectivamente las distribuciones son bastante aproximadas, aunque los pacientes con HFimpEF muestran una tendencia cercana a la significación estadística hacia un mayor número de monocitos totales a expensas, fundamentalmente, de monocitos no clásicos. En este subgrupo de pacientes la ratio MI/MNC ha vuelto a niveles similares a los del grupo de controles sanos.

## **5.4. Evolución de los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada.**

El desarrollo de nuevos tratamientos, tanto farmacológicos como de dispositivos, dirigidos a los pacientes con ICFEr, nos ha permitido poder experimentar, en un grupo significativo de ellos, un remodelado ventricular inverso muy intenso que en ocasiones permite a estos pacientes alcanzar prácticamente una normalización de los parámetros ecocardiográficos.

Es ampliamente conocido que los pacientes con mejoría significativa de la función sistólica con el tratamiento, ya sea empleando la definición de HFimpEF o de FEVI recuperada (>50%), suponen un subgrupo con una clara mejoría pronóstica frente a aquellos con FEVI reducida persistente y también frente a aquéllos que debutan con insuficiencia cardíaca con FEVI conservada, con una reducción en ambos casos tanto de hospitalizaciones como de mortalidad (33).

Sin embargo, esta significativa mejoría se produce comparada con una entidad de alta mortalidad como es la ICFEr y, por tanto, no debemos entenderla como una curación ya que además se ha descrito cómo los pacientes que mejoran la FEVI pueden, al cabo de meses o años de seguimiento, volver a deteriorar la misma entrando nuevamente en el grupo de ICFEr con el consiguiente empeoramiento pronóstico, como vemos en la figura 24 que muestra la trayectoria de la FEVI a lo largo del tiempo en diversas etiologías que producen ICFEr.

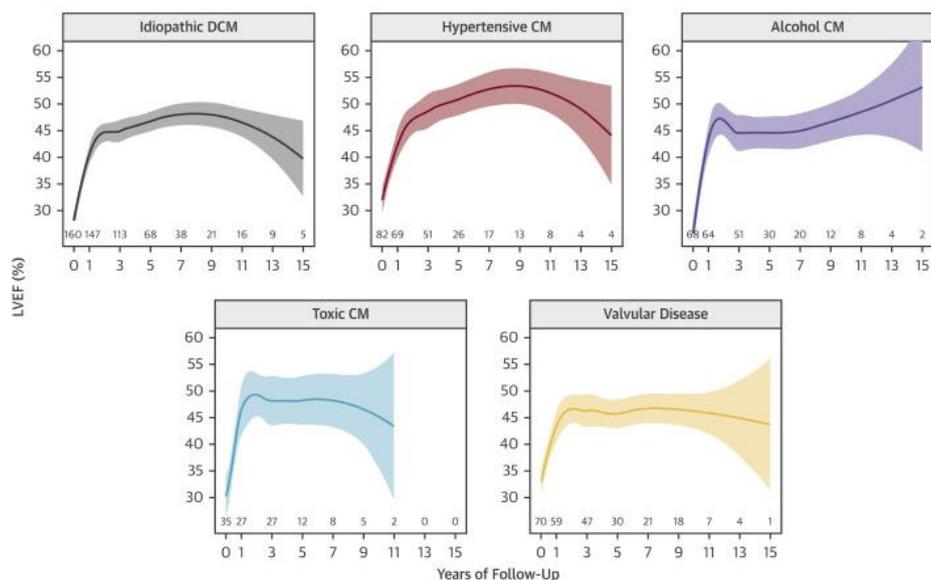


Figura 24. Evolución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo de pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida con los años de seguimiento desde el debut. Extraído y adaptado de Lupon et al. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72 (6): 591-601.

Esto hizo que llegase a discutirse en estos pacientes la necesidad de seguimiento clínico e incluso del mantenimiento del tratamiento médico de la ICFEr. Es, por ello, que se llevó a cabo el ensayo clínico TRED-HF Trial, publicado en *Lancet* en 2018 por Halliday y colaboradores (56), donde se seleccionó una muestra pequeña con unos parámetros muy concretos, exigiéndose no sólo superar el 50% de FEVI sino también tener cifras bajas de péptidos natriuréticos y estar en clase funcional I. Pese a ello, dicho estudio puso de manifiesto cómo el 44% del subgrupo al que se le retiró el tratamiento médico cumplió uno de los parámetros del objetivo primario del estudio (caída del 10% de FEVI, aumento de al menos el 10% del volumen telediastólico del ventrículo izquierdo ó doblar los niveles de NT-proBNP), con una diferencia sustancial respecto al grupo que continuó el tratamiento en el que ningún paciente cumplió estos parámetros.

Queda claro, por tanto, y así lo pone de manifiesto la editorial que siguió a este ensayo clínico (35) que, aunque se produzca una mejoría de función sistólica en estos

pacientes, el término recuperación debe incluir un aspecto más amplio encaminado a una recuperación de la mecánica cardíaca, una normalización de la expresión de proteínas y un cese de la activación neurohormonal. De forma más gráfica con un ejemplo concreto, aquellos pacientes con una miocardiopatía debida a una mutación patogénica en una proteína sarcomérica como la titina (57), aunque experimenten con el tratamiento médico una mejoría sustancial de la FEVI, es imposible alcanzar en ellos una curación completa si no se puede reparar el déficit estructural de la proteína sarcomérica.

Es por ello que el seguimiento clínico de este perfil de pacientes con HFimpEF carece actualmente de evidencias que nos ayuden, habiendo sido señalado en las vigentes guías de insuficiencia cardíaca (40) como un “gap” en la evidencia a resolver en el futuro, necesitando más información sobre las estrategias de manejo y terapias del paciente con “ventrículo izquierdo recuperado”. De hecho, estas guías clínicas no establecen ninguna recomendación en el seguimiento y manejo de estos pacientes.

Por tanto, encontrar marcadores que nos ayuden a identificar a aquellos pacientes que volverán a deteriorar la FEVI tiene un alto interés, aunque paralelamente es complejo por la escasez de eventos y el largo período que se necesita para que éstos aparezcan. En nuestra serie, tras un seguimiento clínico desde que se realizó el seguimiento del protocolo del estudio hasta la actualidad de más de año y medio de mediana, hubo 4 pacientes de los 18 que alcanzaron HFimpEF que volvieron al umbral de ICFEr.

En la tabla 13 se aprecia la comparación de las subpoblaciones de monocitos, donde no encontramos diferencias estadísticamente significativas muy probablemente por la escasa potencia respecto a esta hipótesis. Sin embargo, es llamativa la diferencia de la proporción de monocitos intermedios: 5.9% en el grupo que mantiene criterios de

HFimpEF y 11% en el que acaba experimentando una futura reducción de FEVI a menos del 40%.

Sí que se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la ratio MI/MNC (tabla 14), donde el grupo que acaba recayendo tiene una ratio claramente superior a 1 con prevalencia de monocitos intermedios sobre no clásicos, tal como se apreciaba en el grupo que no mejoraba la FEVI.

Todo esto hace que, si bien los resultados obtenidos en nuestro estudio suponen solo una primera aproximación en la investigación que se ha realizado, sí que aporta una interesante hipótesis que merece la pena abordar sobre el papel de las subpoblaciones de monocitos en la recaída o no de la pérdida de función sistólica de pacientes con HFimpEF.

De este modo, hemos documentado cómo un subgrupo de pacientes con HFimpEF mantiene una distribución de las subpoblaciones de monocitos que se asemejan más a los pacientes que persistían con ICFer que a los voluntarios sanos, existiendo una asociación significativa entre el ratio MI/MNC con la recaída futura de la FEVI.

Así, los monocitos de los pacientes que acabarán volviendo a experimentar un descenso en la FEVI durante el seguimiento como apreciamos en la tabla 13 se subdividían de mediana en un 80% de monocitos clásicos, un 9,7% de monocitos no clásicos y un 11% de monocitos intermedios, cifras cercanas a los pacientes que a los 6 meses no habían mejorado la FEVI y seguían con ICFer y que encontramos en la tabla 8, que mostraron de mediana un 79,4% de monocitos clásicos, un 9,5% de monocitos no clásicos y un 11,2% de monocitos intermedios. Por tanto, estos datos irían a favor de que pese a haber documentado una mejoría de FEVI, el substrato de inflamación persiste en este subgrupo.

Sin embargo, los pacientes que mantuvieron durante todo el seguimiento criterios de HFimpEF sin presentar una recaída de la FEVI, como apreciamos nuevamente en la tabla 13, mostraron una mediana de 79,9% de monocitos clásicos, un 14% de monocitos no clásicos y un 5,9% de monocitos intermedios, por lo que se asemejan más al grupo de voluntarios sanos que tuvieron de mediana un 82,3% de monocitos clásicos, un 10,7% de monocitos no clásicos y un 6,3% de monocitos intermedios.

Con estos resultados se ha realizado una curva ROC que mostró un área bajo la curva de 0,82, si bien al ser bajo el número de eventos encontrados, el intervalo de confianza al 95% de esta área bajo la curva es amplio (0,61-1).

Estos hallazgos serían útiles si se emplea un punto del alta sensibilidad, como se ha expresado en los resultados, ya que permitiría identificar un subgrupo de mayor riesgo y evitar el seguimiento clínico innecesario de pacientes que van mantener la mejoría de función sistólica.

Abrimos, por ello, la posibilidad de evaluar en un estudio específicamente dirigido a valorar si la ratio de MI/MNC elevada puede identificar aquellos pacientes que, habiendo alcanzado criterios de HFimpEF y, por tanto, habiendo experimentado una importante mejoría de la función sistólica, no han experimentado una recuperación real de los mecanismos que le llevaron previamente a debutar con ICFEr y que, si hipotéticamente persisten, volverán a hacer que este paciente recaiga nuevamente en el desarrollo de ICFEr.

## **6. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos a partir del presente trabajo de investigación, centrado en la evolución de las subpoblaciones de monocitos circulantes en una cohorte que debuta con ICfEr, y su consiguiente discusión, nos permiten establecer las siguientes conclusiones

1. Las diferencias en la distribución de subpoblaciones de monocitos hacen de la ratio de MI/MNC un buen predictor de mejoría de la FEVI en los pacientes que debutan con ICfEr. Así, cuanto más elevada es esta ratio, menos probable es que se produzca una mejoría de la FEVI a los 6 meses de seguimiento.

2. Los pacientes que mejoran la FEVI a los 6 meses de seguimiento tienen una menor proporción de monocitos intermedios y una ratio MI/MNC mucho menor.

3. El tratamiento farmacológico de la insuficiencia cardíaca reduce los monocitos intermedios y la ratio MI/MNC en toda la muestra, independientemente de que mejore o no la FEVI. Es decir, el tratamiento de la insuficiencia cardíaca modifica el perfil inflamatorio de los pacientes con insuficiencia cardíaca.

4. Los pacientes que han mejorado la FEVI muestran una distribución de las subpoblaciones de monocitos similar a la de los voluntarios sanos.

5. La ratio MI/MNC podría ser un predictor de una nueva recaída futura de la FEVI, identificando pacientes con mayor actividad inflamatoria pese a la mejoría de FEVI. Esto da pie a futuras líneas de investigación en este sentido.

# **7. DOCUMENTOS DEL COMITÉ DE ÉTICA**

Adjuntamos a continuación documentación de la aceptación del Comité de Ética. Incluye la aceptación del comité de ética de un estudio prospectivo de nuevos indicadores pronósticos en pacientes con insuficiencia cardíaca sobre el que se solicitó una modificación relevante para su ampliación con este proyecto cuyo estado actual también reflejamos.

## DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/Dª: Carlos García Pérez como secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío

### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Estudio prospectivo multidisciplinar de nuevos indicadores fenotípicos y pronósticos en pacientes con insuficiencia cardiaca de debut (Reductor III) ( NUEVOS BIOMARCADORES EN IC).

**Protocolo, Versión:** 1  
**HIP, Versión:** 1  
**CI, Versión:** 1

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Sevilla a 12/11/2018.



D/Dª: Carlos García Pérez, como Secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío

<b>Código Seguro De Verificación:</b>	27de9a9b96454b9c9136cc69e1dbf0563b8c3a09	<b>Fecha</b>	12/11/2018
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
<b>Firmado Por</b>	Carlos García Pérez		
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iframe/code/27de9a9b96454b9c9136cc69e1dbf0563b8c3a09">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iframe/code/27de9a9b96454b9c9136cc69e1dbf0563b8c3a09</a>	<b>Página</b>	1/2



**CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío**

D. Carlos García Pérez  
Secretario del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

**CERTIFICA**

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 23/02/2021, acta CEI VM-VR\_03/2021 ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la **Modificación relevante nº 1 de fecha 19-02-2021** en el estudio:

**Título:** Estudio prospectivo multidisciplinar de nuevos indicadores fenotípicos y pronósticos en pacientes con insuficiencia cardíaca de debut (Redinscor III)

**Código Promotor:** IC CIBER-CV **Código Interno:** 1445-N-18

**Promotor:** Investigador

**Versión Protocolo Evaluada:** versión 2 de fecha 19-02-2021

2º. La **Modificación relevante nº 1 de fecha 19-02-2021**, de tipo **Relevante**, con fecha de registro **21/02/2021** solicita:

Mod. Documentación: Protocolo	
Versión protocolo	versión 2 de fecha 19-02-2021

3º. Considera que

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

4º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE A LA MODIFICACIÓN**.

5º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío  
Dr. Jose Manuel Sobrino Márquez  
(Cardiología) Hospital Universitario Virgen del Rocío

**CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío**

Lo que firmo en Sevilla, a 15 de marzo de 2021

Fdo:

**GARCIA  
PEREZ JOSE  
CARLOS -  
52664213D**

Firmado  
digitalmente por  
GARCIA PEREZ JOSE  
CARLOS - 52664213D  
Fecha: 2021.03.15  
20:24:57 +01'00'

D. Carlos García Pérez  
Secretario del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

**DOCUMENTO ESTADO DE PROYECTO**

<b>Título completo:</b>	Evolución de las subpoblaciones monocelulares en pacientes con insuficiencia cardíaca que recuperan función de eje cíclico
<b>Código del estudio:</b>	IC CIBER-CV
<b>Promotor:</b>	(No hay promotor/a asociado/a)
<b>Comité:</b>	CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío
<b>Protocolo:</b>	Proyecto con línea monocitos.docx
<b>Versión Protocolo:</b>	2
<b>Fecha Protocolo:</b>	10/02/2021
<b>IMP:</b>	documento información paciente.pdf
<b>Versión IMP:</b>	1
<b>Fecha IMP:</b>	16/01/2018
<b>Solicitante:</b>	ANTONIO GRANDE TRILLO
<b>NIF solicitante:</b>	77900175F
<b>Fecha actual:</b>	21/11/2022
<b>Estado:</b>	FIRMA DE CONTRATO

Centros del proyecto

Investigador/a principal	Centros participantes	Servicio
José Manuel Sobrino Márquez	HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO	
Diego Rangel Sousa	HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO	
ANTONIO GRANDE TRILLO	HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO	Cardiología
EVA MARIA CANTERO PEREZ	HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DEL ROCÍO	
ANTONIO ORDOÑEZ FERNANDEZ	UNIVERSIDAD DE SEVILLA	

Documentos del proyecto

Nombre	Versión	Fecha
Proyecto con línea monocitos.docx	2	
Proyecto nuevo con cambios visibles.docx	2	
Carta solicitud Modificación Relevante.docx		
documento información paciente.pdf	1	
consentimiento informado.pdf	1	
Código Forma.pdf		
Proyecto nuevo con cambios visibles.docx	Actualizada con nuevo proyecto	
Proyecto nuevo con cambios visibles.docx	actualizada con cambios marcados	
Proyecto nuevo modificado.docx	protocolo definitivo	



Estados del proyecto

Estado final	Fecha
PENDIENTE DE ENVÍO	21/06/2018
ENVÍADO	03/10/2018
REVISADO	11/10/2018
PENDIENTE DE EVALUACIÓN	11/10/2018

PENDIENTE DE DICTAMEN	12/11/2018
FIRMA DE CONTRATO	12/11/2018
PENDIENTE DE EVALUACION	03/01/2019
PENDIENTE DE DICTAMEN	03/01/2019
FIRMA DE CONTRATO	19/03/2021
PENDIENTE ENVIO MODIFICACION RELEVANTE	19/03/2021
REVISION MODIFICACION RELEVANTE	19/03/2021
REVISADO	21/03/2021
PENDIENTE DE EVALUACION	21/03/2021
PENDIENTE DE DICTAMEN	24/03/2021
FIRMA DE CONTRATO	15/03/2021



## **8. BIBLIOGRAFIA**

1. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la Causa de Muerte - Año 2020. Disponible en: [https://www.ine.es/prensa/edcm\\_2020.pdf](https://www.ine.es/prensa/edcm_2020.pdf)
2. García F. Epidemiología de la insuficiencia cardíaca en España en los últimos 20 años. *Rev Esp Cardiol.* 2013;66(8):649-56.
3. Anguita Sánchez M, Crespo Leiro MG, De Teresa Galván E, Jiménez Navarro M, Alonso-Pulpón L, Muñiz García J. Prevalencia de la insuficiencia cardíaca en la población general Española mayor de 45 años. Estudio PRICE. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61(10):1041-9.
4. Sociedad Española de Cardiología G de trabajo R. Informe 2017 Registro RECALCAR. 2020. Disponible en: [https://secardiologia.es/images/institucional/sec-calidad/sec-recalcar/RECALCAR\\_2020\\_FINAL.pdf](https://secardiologia.es/images/institucional/sec-calidad/sec-recalcar/RECALCAR_2020_FINAL.pdf)
5. Ponikowski P, Anker SD, AlHabib KF, Cowie MR, Force TL, Hu S, et al. Heart failure: preventing disease and death worldwide. *ESC Hear Fail.* 2014;1(1):4-25.
6. O'Connor CM, Miller AB, Blair JEA, Konstam MA, Wedge P, Bahit MC, et al. Causes of death and rehospitalization in patients hospitalized with worsening heart failure and reduced left ventricular ejection fraction: results from Efficacy of Vasopressin Antagonism in Heart Failure Outcome Study with Tolvaptan (EVEREST) program. *Am Heart J* 2010;159(5):841-849.e1.
7. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2016;37(27):2129-2200m.

8. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: A report of the american college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines. *Circulation*. 2013;128(16):240-327.
9. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald. *Tratado de Cardiología*. 9ª. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. Barcelona: Elsevier España; 2019.
10. Allen LA, Stevenson LW, Grady KL, Goldstein NE, Matlock DD, Arnold RM, et al. Decision making in advanced heart failure: A scientific statement from the american heart association. *Circulation*. 2012;125(15):1928-52.
11. McMurray JJV, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med*. 2014;371(11):993-1004.
12. Januzzi JLJ, Prescott MF, Butler J, Felker GM, Maisel AS, McCague K, et al. Association of Change in N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Following Initiation of Sacubitril-Valsartan Treatment With Cardiac Structure and Function in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. *JAMA*. septiembre de 2019;322(11):1085-95.
13. McMurray JJ V, Solomon SD, Inzucchi SE, Køber L, Kosiborod MN, Martinez FA, et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2019;381(21):1995-2008.
14. Packer M, Anker SD, Butler J, Filippatos G, Pocock SJ, Carson P, et al.

- Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-24.
15. Fathi A, Vickneson K, Singh JS. SGLT2-inhibitors; more than just glycosuria and diuresis. *Heart Fail Rev.* mayo de 2021;26(3):623-42.
  16. Saku K, Yokota S, Nishikawa T, Kinugawa K. Interventional heart failure therapy: A new concept fighting against heart failure. *J Cardiol.* 2022;80(2):101-9.
  17. Zhang Y, Bauersachs J, Langer HF. Immune mechanisms in heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(11):1379-89.
  18. Braunwald E. Heart failure. *JACC Heart Fail.* febrero de 2013;1(1):1-20.
  19. 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.
  20. Saxena A, Chen W, Su Y, Rai V, Uche OU, Li N, et al. IL-1 Induces Proinflammatory Leukocyte Infiltration and Regulates Fibroblast Phenotype in the Infarcted Myocardium. *J Immunol.* 2013;191(9):4838-48.
  21. Dandel M, Wallukat G, Potapov E HR. Role of beta(1)-adrenoceptor autoantibodies in the pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Immunobiology.* 2012;217:511-20.
  22. Dutta P, Nahrendorf M. Monocytes in myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* mayo de 2015;35(5):1066-70.
  23. Rurik JG, Aghajanian H, Epstein JA. Immune Cells and Immunotherapy for Cardiac Injury and Repair. *Circ Res.* mayo de 2021;128(11):1766-79.

24. Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, et al. Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites. *Science* (80- ). 31 de julio de 2009;325(5940):612-6.
25. Leuschner F, Panizzi P, Chico-Calero I, Lee WW, Ueno T, Cortez-Retamozo V, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents the release of monocytes from their splenic reservoir in mice with myocardial infarction. *Circ Res*. noviembre de 2010;107(11):1364-73.
26. Falkenham A, de Antueno R, Rosin N, Betsch D, Lee TDG, Duncan R, et al. Nonclassical resident macrophages are important determinants in the development of myocardial fibrosis. *Am J Pathol*. abril de 2015;185(4):927-42.
27. Barisione C, Garibaldi S, Ghigliotti G, Fabbi P, Altieri P, Casale MC, et al. CD14<sup>dim</sup>CD16 Monocyte Subset Levels in Heart Failure Patients. *Dis Markers*. 2010;28:236405.
28. Amir O, Spivak I, Lavi I, Rahat MA. Changes in the Monocytic Subsets CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> in Chronic Systolic Heart Failure Patients. Lin C-F, editor. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:616384.
29. Elchinova E, Teubel I, Roura S, Fernández MA, Lupón J, Gálvez-Montón C, et al. Circulating monocyte subsets and heart failure prognosis. *PLoS One*. 2018;13(9):1-13.
30. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and

- Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol.* enero de 2016;106(1):62-9.
31. Mann DL, Barger PM, Burkhoff D, Al E. Myocardial Recovery and The Failing Heart : Myth , Magic or Molecular Target? *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(24):2465-72.
  32. Bozkurt B, Coats AJS, Tsutsui H, Abdelhamid CM, Adamopoulos S, Albert N, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition . *J Cardiac Fail* 2021;27(4): 387-413.
  33. He Y, Ling Y, Guo W, Li Q, Yu S, Huang H, et al. Prevalence and Prognosis of HFimpEF Developed From Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 8, *Frontiers in cardiovascular medicine.* 2021. p. 757596.
  34. Lupón J, Gavidia-Bovadilla G, Ferrer E, de Antonio M, Perera-Lluna A, López-Ayerbe J, et al. Dynamic Trajectories of Left Ventricular Ejection Fraction in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.* agosto de 2018;72(6):591-601.
  35. Wilcox J, Yancy CW. Stopping medication for heart failure with improved ejection fraction. *Lancet.* 5 de enero de 2019;393(10166):8-10.
  36. Wilcox JE, Fang JC, Margulies KB, Mann DL. Heart Failure With Recovered Left Ventricular Ejection Fraction: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol.* agosto de 2020;76(6):719-34.
  37. Adamo L, Perry A, Novak E, Makan M, Lindman BR, Mann DL. Abnormal Global

- Longitudinal Strain Predicts Future Deterioration of Left Ventricular Function in Heart Failure Patients With a Recovered Left Ventricular Ejection Fraction. *Circ Heart Fail.* junio de 2017;10(6).
38. Leers MPG, Stockem C, Ackermans D, Loeffen R, Ten Cate H, Kragten JA, et al. Intermediate and nonclassical monocytes show heterogeneity in patients with different types of acute coronary syndrome. *Cytometry A.* noviembre de 2017;91(11):1059-67.
  39. Lupón J, Díez-López C, de Antonio M, Domingo M, Zamora E, Moliner P, et al. Recovered heart failure with reduced ejection fraction and outcomes: a prospective study. *Eur J Heart Fail.* diciembre de 2017;19(12):1615-23.
  40. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* septiembre de 2021;42(36):3599-726.
  41. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* mayo de 2009;150(9):604-12.
  42. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy.* 2001;102(1):5-14.
  43. Lang RM, Badano LP, Victor MA, 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. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015;28(1):1-39.e14.
44. Cleland JGF, Bunting K V, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS, et al. Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials. *Eur Heart J.* enero de 2018;39(1):26-35.
  45. Toledo CC, Velloso Schwartzmann P, Miguel Silva L, da Silva Ferreira G, Bianchini Cardoso F, Citelli Ribeiro V, et al. Serum potassium levels provide prognostic information in symptomatic heart failure beyond traditional clinical variables. *ESC Hear Fail.* junio de 2021;8(3):2133-43.
  46. Becker MAJ, van der Lingen A-LCJ, Wubben M, van de Ven PM, van Rossum AC, Cornel JH, et al. Characteristics and prognostic value of right ventricular (dys)function in patients with non-ischaemic dilated cardiomyopathy assessed with cardiac magnetic resonance imaging. *ESC Hear Fail.* abril de 2021;8(2):1055-63.
  47. St John Sutton MG, Plappert T, Abraham WT, Smith AL, DeLurgio DB, Leon AR, et al. Effect of cardiac resynchronization therapy on left ventricular size and function in chronic heart failure. *Circulation.* abril de 2003;107(15):1985-90.
  48. Aimo A, Gaggin HK, Barison A, Emdin M, Januzzi JL. Imaging , Biomarker , and Clinical Predictors of Cardiac Remodeling in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction Imaging , Biomarker , and Clinical Predictors of Cardiac Remodeling in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. 2020;7(9).

49. Motiwala SR, Gaggin HK, Gandhi PU, Belcher A, Weiner RB, Baggish AL, et al. Concentrations of highly sensitive cardiac troponin-I predict poor cardiovascular outcomes and adverse remodeling in chronic heart failure. *J Cardiovasc Transl Res.* abril de 2015;8(3):164-72.
50. Topkara VK, Mann DL. Role of microRNAs in cardiac remodeling and heart failure. *Cardiovasc drugs Ther.* abril de 2011;25(2):171-82.
51. Markousis-Mavrogenis G, Tromp J, Ouwerkerk W, Devalaraja M, Anker SD, Cleland JG, et al. The clinical significance of interleukin-6 in heart failure: results from the BIOSSTAT-CHF study. *Eur J Heart Fail.* agosto de 2019;21(8):965-73.
52. Ahmad S, Otaal PS, Rai TS, Bahl A, Saikia UN, Manoj RK, et al. Circulating proinflammatory cytokines and N-terminal pro-brain natriuretic peptide significantly decrease with recovery of left ventricular function in patients with dilated cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem.* 2009;324(1-2):139-45.
53. Kobayashi H, Kobayashi Y, Giles JT, Yoneyama K, Nakajima Y, Takei M. Tocilizumab treatment increases left ventricular ejection fraction and decreases left ventricular mass index in patients with rheumatoid arthritis without cardiac symptoms: assessed using 3.0 tesla cardiac magnetic resonance imaging. *J Rheumatol.* octubre de 2014;41(10):1916-21.
54. Everett BM, Cornel JH, Lainscak M, Anker SD, Abbate A, Thuren T, et al. Anti-Inflammatory Therapy With Canakinumab for the Prevention of Hospitalization for Heart Failure. *Circulation.* marzo de 2019;139(10):1289-99.
55. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al.

- 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129-2200m.
56. Halliday BP, Wassall R, Lota AS, Khaliq Z, Gregson J, Newsome S, et al. Withdrawal of pharmacological treatment for heart failure in patients with recovered dilated cardiomyopathy (TRED-HF): an open-label, pilot, randomised trial. *Lancet*. 5 de enero de 2019;393(10166):61-73.
57. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. febrero de 2012;366(7):619-28.